



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE DJILLALI LIABES**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET  
DE LA VIE**  
**SIDI BEL ABBES**

## **Thèse De Doctorat en Sciences**

**Spécialité : Sciences biologiques**

**Option : Sciences alimentaires**

Présentée par

**Metlef Sarra**

Intitulée

### **Caractérisation et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de l'huile d'olive algérienne**

#### **Membres de jury**

<b>M<sup>r</sup> KHALED MEGHIT Boumediene</b>	Professeur	Président	Université de sidi Bel Abbés
<b>M<sup>r</sup> RIAZI Ali</b>	Professeur	Examineur	Université de Mostaganem
<b>M<sup>me</sup> ZIAR Hasnia</b>	M.C.A	Examinatrice	Université de Mostaganem
<b>M<sup>me</sup> ZEMRI Khalida</b>	M.C.A	Examinatrice	Université de sidi Bel Abbés
<b>M<sup>r</sup> DILMI BOURAS Abdelkader</b>	Professeur	Encadreur	Université de Chlef
<b>M<sup>r</sup> DIAF Mustapha</b>	M.C.A	Co.Encadreur	Université de sidi Bel Abbés

**Année universitaire : 2020-2021**

# *Table des matières*

Dédicaces	i
Remerciements	iii
Résumé	v
Liste des abréviations	viii
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xiii
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre I: Revue de littérature</b>	
<b>I. Aperçu général sur l'olivier et l'oléiculture</b>	<b>04</b>
1. Oléiculture dans le monde et en Algérie	04
2. Olives	0
3. Caractéristiques des principales Variétés d'olives réponsus en Algérie	07
3.1. Caractéristiques de la variété Sigoise	07
3.2. Caractéristiques de la variété Chemlal	07
3.3. Variété Aberkane	08
3.4. Variété Bouichret	08
3.5. Variété Bouchouk:	08
3.6. Variété Azradje	08
3.7. Limli	08
3.8. Rougette de Mitidja , rougette de Guelma et Blanquettes de Guelma	09
3.9. Variétés introduites	09
<b>II. Huile d'olive</b>	<b>09</b>
1. Définition	09
2. Dénominations commerciales	09

2.1. Huiles d'olive vierge	09
2.1.1. Huiles d'olive vierges propres à la consommation	10
2.1.2. Huile d'olive vierge non propre à la consommation	10
2.2. Huile d'olive raffinée	10
2.3. Huile d'olive	10
2.4. Huile de grignons d'olive	11
2.4.1. Huile de grignons d'olive raffinée	11
2.4.2. Huile de grignon d'olive	11
<b>III. Economie mondiale et Algérienne de l'huile d'olive</b>	<b>11</b>
1. Marché mondial de l'huile d'olive	12
1.1. Production et Consommation	12
1.2. Exportations et importations	13
1.3. Prix de l'huile d'olive	13
2. Marché Algérien de l'huile d'olive	14
<b>IV. Technologie de l'huile d'olive</b>	<b>17</b>
1. Procédé classique	17
1.1. Récolte	17
1.2. Lavage et Effeillage	18
1.3. Trituration	18
1.4. Malaxage	19
1.5. Extraction proprement dite	19
1.5.1. Extraction discontinue (par pressage)	20
1.5.2. Extraction continue	20
2. Autres procédés moderne d'extraction de l'huile d'olive	26
2.1. Ajout d'un co adjuvant	26
2.2. Les technologies d'ultrasons, champs électrique pulsé et microondes	26
<b>V. Composition de l'huile d'olive</b>	<b>29</b>

1. Fraction saponifiable	28
1.1. Acide gras	28
1.1.1. Acides gras saturés	29
1.1.2. Acides gras polyinsaturés	30
1.1.3. Acides gras monoinsaturés	30
1.2. Les triglycérides (TG)	31
2. Fraction insaponifiable (composés « mineurs »)	31
2.1. Hydrocarbures	31
2.2. Stérois	32
2.3. Les alcools terpéniques	33
2.4. Les tocophérols	34
2.5. Les composés phénoliques	34
2.6. Les phénols simples	36
2.7. Les composés aromatiques	36
2.8. Pigments	38
<b>VI. Caractéristiques de l'huile d'olive</b>	<b>38</b>
1. Caractéristiques organoleptique	39
1.1. Vocabulaire de l'analyse sensorielle	39
1.1.1. Attributs positifs	39
1.1.2. Attributs négatifs	40
2. Caractéristiques physique	41
3. Caractéristiques chimiques	41
3.1. Acidité	41
3.2. Indice d'acide	42
3.3. Indice de saponification	42
3.4. Indice d'Iode	42
3.5. Extinction spécifique	42
3.6. Indice de peroxyde	42
4. Caractéristiques microbiologiques	43
5. Les facteurs conditionnant les caractéristiques de l'huile d'olive	44

<b>VII. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive</b>	46
1. Effet des composés phénolique de l'huile d'olive sur le système immunitaire	46
2. Effet antitoxicité et antitumorale	46
3. Modulation de la réponse inflammatoire	47
4. Modulation positive du microbiote intestinal	47
5. Activité antioxydante	48
6. Effet antimicrobien de l'huile d'olive	49
7. Autres activités biologiques de l'huile d'olive	50

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>I. Matériel</b>	51
1.1. Matériel végétal : L'huile d'olive	51
1.2. Matériel biologique	53
2. produits, réactifs et milieux de culture	54
2.1. Produits chimique	54
2.2. Réactifs	55
3. Appareillage	55
<b>II. Méthodes</b>	
<b>Partie I : Caractérisation physico-chimique et microbiologiques des échantillons d'huile d'olive</b>	55
1. Caractérisation organoleptique	55
1.1. Dégustation spécialisée	55
1.2. Dégustation par des tests hédonique	58
2. Caractérisation physique	58
2.1. Densité	58
2.2. Indice de réfraction	59
2.3. Détermination de la couleur	59
2.4. Extinction spécifique	60

2.5. Détermination de la teneur en eau et en matière volatile	60
3. Caractérisation chimiques	61
3.1. Indice d'acide et acidité	61
3.2. Indice de peroxyde	61
3.3. Indice d'iode	63
3.4. Indice de saponification	63
4. Caractérisation microbiologique des échantillons d'huile	63
5. Analyse de la composition chimique des huiles par chromatographie en phase gazeuse	64

**Partie II : Evaluation de l'activité antioxydante des échantillons d'huile d'olive**

1. Extraction des polyphénols totaux	66
2. Dosage des polyphénols totaux	66
3. Dosage des flavonoïdes totaux	67
4. Dosage des flavones et flavonols	67
5. Dosage des flavones et flavonols	68

**Partie III : Evaluation des activités antioxydantes des extraits phénoliques des treize échantillons d'huile d'olive** 68

1. Test de piégeage du radical DPPH	68
2. Blanchissement du $\beta$ carotène	69
3. Dosage des ATBS+	69

**Partie IV: Evaluation de l'activité antibactérienne des Extraits phénoliques** 70

1. Préparation des prés cultures bactérienne et standardisation des charges	70
2. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne : test de diffusion sur gélose	70
3. Test quantitatif (détermination des CMI)	71

**V. analyse statistique des résultats** 71

## Chapitre III : Résultats et discussion

<b><u>Partie I</u> : Résultats de la caractérisation organoleptique des échantillons d'huile d'olive</b>	73
1. Résultats de la caractérisation organoleptique	73
1.1. Résultats de la caractérisation hédonique	73
1.2. Résultats de la caractérisation spécialisée	76
2. Résultats de la caractérisation physico-chimique et microbiologique	78
des huiles	
2.1 Résultats des critères physiques	78
2.1.1. Densité	78
2.1.2. Indice de réfraction	80
2.1.3. Extinction spécifique	81
2.1.4. Couleur	83
2.1.5. Détermination de la teneur en eau et en matière volatile	84
2.2. Caractéristiques chimiques	85
2.2.1. Indice d'acide et l'acidité	85
2.2.2. Indice de saponification	88
2.2.4. Indice d'iode	89
2.2.4. Indice de peroxyde	90
2.3. Résultats de la caractérisation microbiologique des huiles	91
3. Résultats de la détermination du profil des acides gras par chromatographie en phase gazeuse CPG	93
4. Etude des acides gras saturés et insaturés et le rapport entre eux	95
<b><u>Partie II</u> : Résultats de l'évaluation de la teneur des huiles en quelques constituants de la fraction insaponifiable</b>	98
1. Teneurs en polyphénols totaux dans les échantillons d'huile d'olive	98
2. Teneurs en flavonoïdes totaux, flavones et flavonols	100
3. Teneur en O diphénols	102

<b>Partie III : Résultats de l'activité antioxydante des treize échantillons d'huile d'olive</b>	103
1. Réduction du DPPH	103
2. Test de Blanchissement de $\beta$ carotènes (BHT)	105
3. Test de piégeage des ABTS+	106
<b>Partie VI : Résultats de l'activité antibactériennes des extraits de la fraction insaponifiable</b>	
1. Test qualitatif de l'activité antibactérienne	108
2. Détermination des CMI	108
<b>V. Traitement statistique des résultats</b>	112
1. Analyse multi variée par ACP	112
2. Analyse discriminante	115
3. Clustering hiérarchique	117
Conclusion	116
Références bibliographiques	119
Publication et communications scientifiques	150
Annexes	

## Dédicaces

*Je dédicace ce modeste travail à :*

*La pieuse pensée de **MA TRÈS CHÈRE ET REGRETÉE MÈRE**, source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrai t'exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices. Puisse Dieu t'accueillir dans son grand paradis*

***MON TRÈS CHÈRE PÈRE** qui a été et il sera toujours un exemple pour moi par ses qualités humaines, sa persévérance et son perfectionnisme. Puisse Dieu le préserver et lui procurer santé et Bonheur*

*Mon **TRÈS CHÈRE Mari Abdelkader**, qui depuis toujours n'a pas cessé de me soutenir et de m'épauler, tout en partageant avec moi les moments les plus difficiles de ma vie, Je le remercie de ne m'avoir jamais déçu. Aucun mot ne pourrait t'exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect. Puisse le bon dieu nous procurer santé et longue vie*

*A mes très chères filles **Katr elnade et Chahd** et mon bébé **Iyad Abdelwahab** que dieu les protègent*

*A mes sœurs **Assia , Imene** et leurs familles*

*A ma petite sœur **Ifram***

*A mon Frère **Farouk** et sa femme **Yasmine***

*A toute ma **belle Famille***

*A ma très chère amie et sœur **Azdinia***

*Sarra*

## Remerciements

*Louange à Allah tout puissant qui m'a donné la force et la volonté pour accomplir ce travail.*

*La réalisation de cette thèse n'a été possible que grâce à la collaboration de plusieurs personnes à qui je voudrai témoigner toute ma gratitude.*

*Je voudrai tout d'abord adresser mes vifs remerciements à mon directeur de thèse, professeur **DILMI BOURAS Abdelkader**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à enrichir mon esprit scientifique.*

*Mes vifs remerciements sont exprimés à Monsieur **DIAF Mustapha** ; Maître de conférences A. à l'université Djilali Liabès de Sidi bel Abbès, pour avoir accepté d'être mon co-encadreur après le décès du professeur **BENALI Mohamed** à qui je rends un grand hommage tout en priant le bon dieu de l'accueillir dans son grand paradis.*

*Je remercie également le Jury de thèse qui m'a honoré en acceptant d'examiner ce travail :*

*Monsieur **KHALED MEGHIT Boumediene**, Professeur à l'Université de Sidi Bel Abbés d'avoir accepté la présidence de mon jury de soutenance*

*Monsieur **RIAZI Ali**, Professeur à l'université de Mostaganem, Madame **ZIAR Hasnia**. ; MCA à l'université de Mostaganem et Madame **ZEMRI Khalida** MCA à l'Université de Sidi Bel Abbés de l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être examinateurs de cette thèse*

*Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide:*

*Madame **ZIDANE Azdinia**, MCA à l'université de Chlef qui m'a beaucoup appris sur la rédaction des articles scientifiques et qui a relu et corrigé ma thèse.*

*Ses conseils de rédaction ont été très précieux*

*Monsieur **ABABOU Adda**, professeur à l'Université de Chlef qui m'a aidé dans le traitement statistique des résultats*

*Monsieur le Directeur du laboratoire de la répression des fraudes de la wilaya de Chlef*

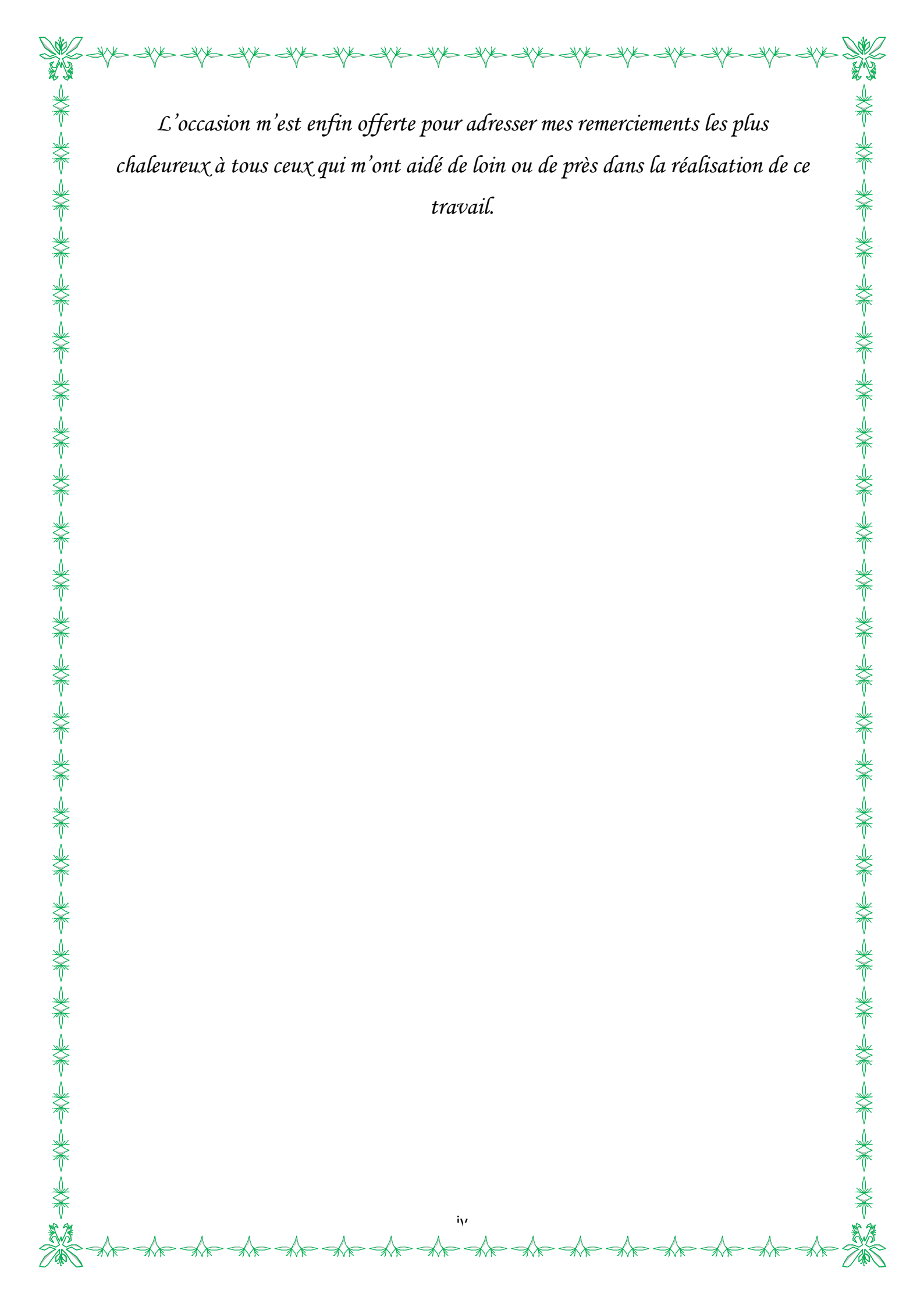
*Mes parents pour leur soutien constant et leurs encouragements ; Spécialement **Ma défunte très chère mère** qui nous a quitté avant de voir son rêve réalisé, que dieu l'accepte dans son grand paradis*

*Je voudrai exprimer ma reconnaissance envers **mes amis et collègues** qui m'ont apporté leur soutien moral tout au long de mon projet d'étude*

*Je tiens à témoigner toute ma gratitude aux **personnels administratifs** de l'université de Sidi Bel abbés et de l'université de Chlef*

*Ainsi qu'aux **oléiculteurs** à travers les différents wilayas de l'Algérie qui m'ont ouvert la porte de leur unités d'extraction pour le recueil des échantillons et qui m'ont vraiment aidé par leurs expériences et savoir-faire.*

*Enfin Je remercie mon **Mari Abdelkader** pour ses encouragements et son appui moral.*



*L'occasion m'est enfin offerte pour adresser mes remerciements les plus chaleureux à tous ceux qui m'ont aidé de loin ou de près dans la réalisation de ce travail.*

## **Résumé :**

La présente investigation vise à caractériser treize échantillons d'huile d'olive provenant de plusieurs zones de l'Algérie, tout en évaluant leurs teneurs en composants mineurs de la fraction insaponifiable ainsi que leurs activités antioxydantes et antibactériennes à l'égard de huit souches ATCC potentiellement pathogènes. Sur le volet organoleptique et physico-chimique, les huiles objet de cette étude sont conformes aux normes internationales (COI 2013,2019) avec des différences hautement significatives ( $p < 0,0001$ ). De même, les teneurs les plus importantes en polyphénols totaux ont été enregistrées pour les extraits des huiles de Skikda ( $207,97 \pm 1,75$  mg d'acide gallique / Kg) et Tissemsilt ( $202,97 \pm 2,67$  mg d'acide gallique / Kg). Aussi les teneurs en flavonoïdes totaux et en O-diphénols dans les différents extraits étaient variable ; les extraits des huiles d'Ain Defla et Blida ont été les plus riches, tandis que l'extrait de l'huile de Jijel a été seulement le plus riche en flavonols avec une valeur de  $258,22 \pm 13,00$  mg / kg. Des activités antioxydantes exprimées par le taux de réduction de DPPH, le blanchissement du  $\beta$ -carotène et la réduction du radical ATBS + variables ont été observées. Nous avons enregistré une corrélation négative ( $r = -0,45$ ) entre les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux ( $r = -0,10$ ), en O-diphénols ( $r = -0,43$ ) dans les huiles et la réduction du DPPH. Cette corrélation est assez faible ( $r = 0,32$ ) entre la teneur des huiles, en flavones et flavonols et l'IC50 correspondante. Inversement, les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en O-diphénols sont fortement corrélée au blanchissement du  $\beta$ -carotène avec des coefficients de corrélation ( $r = 0,75$ ,  $r = 0,60$  et  $r = 0,83$  respectivement). Les souches bactériennes montrent un comportement variable entre la sensibilité, l'extrême sensibilité et la résistance vis-à-vis des extraits phénoliques, avec une corrélation négative entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antibactérienne. Alors que les CMI les plus faibles ont été enregistrées avec les extraits qui ont donné les diamètres des zones d'inhibition les plus élevées. Avec une similitude de Pearson  $R = 0,98$  ; les huiles sont représentées en trois classes différents selon leur origine géographique, l'huile de Tissemsilt figure dans une classe à part. Ces résultats ont mis en évidence l'importance de l'huile d'olive Algérienne en termes de variabilité dans sa composition, et richesse en constituants mineurs de la fraction insaponifiable (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, flavones et flavonols) dotés de pouvoirs antioxydants et antibactériens non négligeables. D'où le mérite que cette huile soit mieux valorisée.

**Mots clés :** activité antioxydante, activité antibactérienne, fraction insaponifiable, huile d'olive, origine algérienne.

## **Abstract :**

The present investigation aims to characterize thirteen samples of olive oil from several areas of Algeria, evaluating their content of minor components of the unsaponifiable fraction than evaluate their antioxidant and antibacterial activities against eight potentially pathogenic ATCC strains. On organoleptic and physico-chemical characterization, the olive oil samples agree with prescribed international standards (COI 2013, 2019) with highly significant differences ( $p < 0.0001$ ). The total polyphenol content in the samples varied significantly ( $p < 0,0001$ ) from one extract to another and the most important values were recorded to the extracts of Skikda and Tissemsilt ( $207.97 \pm 1,75$  mg gallic acid/Kg and  $202.97 \pm 2,67$ mg gallic acid/Kg respectively). The contents of total flavonoids and O-diphenols in the different extracts were variable; the extracts of Ain Defla and Blida were the richest, while the extract of Jijel was only the richest in flavonols with a value of  $258.22 \pm 13.00$  mg / kg. The antioxidant activity of the phenolic extracts was evaluated by the DPPH radical trapping test , bleaching of  $\beta$  carotene and the reduction of the ATBS + radical variable. A negative correlation ( $r = -0.45$ ) was recorded between the contents of total polyphenols, of total flavonoids ( $r = -0.10$ ) and of O-diphenols ( $r = -0.43$ ) contains in oils and the reduction of DPPH. This correlation is relatively low ( $r = 0.32$ ) between flavones and flavonols concentrations in oils and their corresponding IC50. But inversely, the total polyphenols, total flavonoids and O-diphenols levels in olive oil samples are strongly correlated with the bleaching of  $\beta$ -carotene ( $r = 0.75$ ,  $r = 0.60$  and  $r = 0.83$  respectively). Bacterial strains showed variable behavior between sensitivity, extreme sensitivity and resistance to phenolic extracts. While the lowest MICs were recorded with the extracts which gave the diameters of the highest zones of inhibition. Oils are represented in three different classes with a Pearson of similarity  $R = 0.98$ ; where Tissemsilt Oil is in a class of its own. These results highlighted the importance of Algerian olive oil in terms of variability in its composition, and richness in minor constituents of the unsaponifiable fraction (total polyphenols, total flavonoids, flavones and flavonols) endowed with antioxidant powers and non-negligible antibacterial ones. Hence the merit that this oil is better valued.

**Keywords:** antioxydant activity, antibacterial activity, unsaponifiable fraction, olive oil unsaponifiable fraction, olive oil, Algerian origin.

## ملخص :

يهدف هذا البحث إلى تحديد خصائص ثلاثة عشر عينة من زيت الزيتون من عدة مناطق في الجزائر ، مع تقييم محتواها من المكونات الثانوية للجزء غير القابل للتصبن بالإضافة إلى أنشطتها المضادة للأكسدة والبكتيريا ضد ثمانية سلالات من المحتمل أن تكون مسببة للأمراض. فيما يتعلق بالجانب الحسي، الفيزيائي والكيميائي ، فإن عينات زيت الزيتون مطابقة للمعايير الدولية المحددة (COI 2013-2019) مع وجود فروق ذات دلالة إحصائية ( $P < 0.0001$ ). كما ان محتوى البوليفينول الكلي في العينات اختلف ايضا ( $p < 0.0001$ ) من مستخلص إلى آخر وتم تسجيل أهم القيم في مستخلصي سكيكدة وتيسمسيلت ( $1.75 \pm 207.97$  مجم حمض جاليك / كجم و  $2 \pm 202.97$  ، 67 مجم) حمض الغاليك / كغ على التوالي). كما لاحظنا ان محتوى الفلافونويد الكلي في المستخلصات المختلفة كان متغيرًا و قد سجلت أعلى النسب بمستخلصي عين الدفلة والبليدة بينما كان مستخلص جيجل الأغنى بمركبات الفلافونول بقيمة  $13.00 \pm 258.22$  ملجم / كجم . تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية عن طريق اختبار الاصطياد الجذري DPPH وتبييض  $\beta$  كاروتين و ارجاع ATBS+ حيث تم اكتشاف علاقة سلبية ( $r = -0.45$ ) بين محتويات البوليفينول الكلي وإجمالي مركبات الفلافونويد ( $r = -0.10$ ) ، O ديفينول ( $r = -0.43$ ) في الزيوت واختزال DPPH ؛ كان هذا الارتباط ضعيفًا جدًا ( $r = 0.32$ ) بين محتوى الزيوت من الفلافون والفلافونول و IC المقابل. على العكس من ذلك ، ارتبطت محتويات البوليفينول الكلي والفلافونويد الكلي وثنائي الفينول بشدة مع تبييض  $\beta$  كاروتين مع معاملات الارتباط ( $r = 0.75$ ) ،  $r = 0.60$  و  $r = 0.83$  على التوالي). لقد أظهرت السلالات البكتيرية سلوك متفاوت بين الحساسية والحساسية الشديدة والمقاومة ضد مختلف المستخلصات الفينولية. بينما تم تسجيل أقل MICs مع المستخلصات التي أعطت أقطار مناطق التثبيط الأعلى. بنسبة تشابه تقارب  $Pearson R = 0.98$ ؛ تم تمثيل الزيوت في ثلاث فئات مختلفة حيث يكون زيت تيسمسيلت في فئة خاصة به. سلطت هذه النتائج الضوء على أهمية زيت الزيتون الجزائري من حيث التباين في تركيبته ، والثراء في المكونات الثانوية للجزء غير القابل للتصبن (البوليفينول الكلي ، والفلافونويد الكلي ، والفلافونات ، والفلافونول) التي تتميز بقدرات مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا. و هذا ما يدفعنا على التأكيد على ضرورة الاستغلال الأمثل لهذا الكنتوج ذو القيمة الغذائية الهائلة

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ، الجزء غير القابل للتصبن ، زيت الزيتون جزء غير قابل للتصبن ، زيت زيتون ، أصل جزائر

## *Liste des abréviations et acronymes*

**ACP** : Analyse de la composante principale

**AG** : Acides gras

**AGL** : Acides gras non estérifiés

**AGI** : Acides gras insaturés

**AGMI** : Acides gras mono insaturés

**AGPI** : Acides gras polyinsaturés

**AGS** : Acides gras saturés

**ANOVA** : Analyse de la variance

**AVPA** : agence pour la valorisation des produits agricole

**C.E** : Commission européenne

**COI** : Conseil oléicole international

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**FAO**: Food and Agriculture Organization o

**FAOSTAT**: Food and Agriculture Organization of the United Nations

**ISO** : Organisation internationale de standardisation

**ITAFV** : Institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne

**LDL** : Lipoprotéine de basse densité

**ONFAA** : Observatoire national des filières agricole et agroalimentaire

**TAG** : Triacylglycérols

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Schéma d'une coupe transversale d'une olive (Bianchi, 2003)	06
<b>Figure 2 :</b> Localisation des oliviers en Algérie (ITAFV, 2019)	16
<b>Figure 3:</b> Effeillage et lavage des olives	18
<b>Figure 4:</b> Broyage des olives/ <b>a</b> : broyage traditionnel (meule en pierre) <b>b</b> : broyage à marteau	19
<b>Figure 5:</b> Extraction par pression et centrifugation horizontal	20
<b>Figure 6:</b> Systèmes d'extraction de l'huile d'olive	22
<b>Figure 7:</b> Exemple d'une chaîne d'extraction de l'huile d'olive (Chimi , 2006 ; Hammadi,2006)	23
<b>Figure 8 :</b> Structure des triglycérides (Viola, 1999)	30
<b>Figure 9:</b> Structure de squalène (Spanova et Daum, 2011)	32
<b>Figure 10:</b> Structures des principaux stérols de l'huile d'olive (Spanova et Daum, 2011).	33
<b>Figure 11 :</b> structure de cycloarténol (Alais et Linden, 1997)	33
<b>Figure 12:</b> Structure des tocophérols (Alais et Linden, 1997)	34
<b>Figure 13 :</b> Structure chimique des principaux composés phénoliques présents dans l'huile d'olive (Ollivier, 2003)	35
<b>Figure 14:</b> Structure de l'acide vanillique et l'acide caféique (Yang, 2007)	36
<b>Figure 15:</b> Structure des principaux composés aromatiques présents dans l'huile d'olive (Sanchez et <i>al.</i> , 2002)	37
<b>Figure 16 :</b> Carte topographique des différentes zones d'étude	52
<b>Figure 17 :</b> fiche de dégustation (COI, 2015)	57
<b>Figure 18:</b> Résultats de la caractérisation organoleptique (gout) des échantillons d'huile d'olive	73
<b>Figure 19:</b> Résultats de la caractérisation organoleptique (odeur) des échantillons d'huile d'olive	74
<b>Figure 20:</b> Résultats de la caractérisation organoleptique (couleur) des échantillons d'huile d'olive	75

<b>Figure 21:</b> Profil organoleptique des attributs positifs des treize échantillons d'huile d'olive	77
<b>Figure 22:</b> Profil organoleptique des attributs négatifs des treize échantillons d'huile d'olive	77
<b>Figure 23:</b> Résultats de la densité des huit échantillons d'huile d'olive	79
<b>Figure 24:</b> Résultats de l'indice de réfraction des huit échantillons d'huile.	80
<b>Figure 25:</b> Résultats de l'extinction spécifique à K 232	81
<b>Figure 26:</b> Résultats de l'extinction spécifique à K 270	81
<b>Figure 27:</b> Résultats de la couleur des huiles	83
<b>Figure 28:</b> Résultats de la teneur en eau dans les échantillons d'huile d'olive	84
<b>Figure 29:</b> Résultats de l'acidité libre des échantillons d'huile d'olive	86
<b>Figure 30:</b> Résultats de l'indice de saponification des échantillons d'huile d'olive	88
<b>Figure 31:</b> Résultats de l'indice d'iode des échantillons d'huile d'olive	89
<b>Figure 32:</b> Résultats de l'indice de peroxyde des échantillons d'huile d'olive	90
<b>Figure 33:</b> profil des acides gras dans les échantillons d'huile d'olive	93
<b>Figure 34:</b> teneurs en polyphénols totaux dans les échantillons d'huile d'olive	98
<b>Figure 35:</b> teneurs en flavonoïdes totaux dans les échantillons d'huile d'olive	101
<b>Figure 36:</b> teneurs en flavones et flavonols dans les échantillons d'huile d'olive	102
<b>Figure 37:</b> teneurs en O diphénols les échantillons d'huile d'olive	103
<b>Figure 38:</b> réduction du DPPH par les extraits phénoliques des différents échantillons d'huile	104
<b>Figure 39:</b> résultats de réduction de blanchissement du $\beta$ carotène par les extraits phénoliques des différents échantillons d'huile d'olive	105
<b>Figure 40:</b> résultats du test d'ATBS pour les extraits phénoliques des différents échantillons d'huile d'olive	106
<b>Figure 41 :</b> Diamètres des zones d'inhibition des bactéries Gram positif	109
<b>Figure 42 :</b> Diamètres des zones d'inhibition des bactéries Gram négatif	109

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1:</b> Production internationale de l'huile d'olive (FAOSTAT 2020; COI ,2020b)	12
<b>Tableau 2:</b> Les prix internationaux de l'huile d'olive (COI, 2017/2020)	13
<b>Tableau 3:</b> Comparaison entre les trois principaux systèmes d'extraction de l'huile d'olive (Niaounakis <i>et al.</i> , 2006)	24
<b>Tableau 4:</b> Composition en acide gras d'une huile d'olive	29
<b>Tableau 5:</b> Données chimiques de classification des huiles (Codex Alimentarius, 1989; FAO, 2001).	43
<b>Tableau 6 :</b> Influence de quelques facteurs sur la qualité de l'huile d'olive	45
<b>Tableau 7 :</b> Les caractéristiques géographiques, climatiques et les variétés d'olives utilisées dans les zones de prélèvement	53
<b>Tableau 8 :</b> Souches utilisées dans l'expérimentation	54
<b>Tableau 9 :</b> Germes recherchés dans les huiles et leurs conditions de croissance	64
<b>Tableau 10 :</b> Résultats de la caractérisation organoleptique des huiles d'olive	76
<b>Tableau 11:</b> Teneurs des AGS, AGI et le rapport entre eux dans les échantillons d'huile d'olive	95
<b>Tableau 12 :</b> Sensibilité des différentes souches bactériennes aux extraits phénoliques	110
<b>Tableau 13 :</b> Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents extraits phénoliques à l'égard des espèces bactériennes	111
<b>Tableau 14 :</b> Résumé de l'analyse discriminante entre les treize huiles d'olive montrant la discrimination cumulative et les coefficients discriminants canoniques normalisés	117



## Introduction générale

L'olive et son huile ont toujours été les composants clés du régime méditerranéen pendant très longtemps, en raison de leur haute qualité nutritionnelle et de leurs effets positifs sur la santé (Muto et *al.*, 2015 ; Storniolo et *al.*, 2017). Les huiles d'olive vierges sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques qui n'entraînent pas d'altérations et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. Elles sont composées d'une fraction saponifiable et une fraction insaponifiable représentées principalement par des composés phénoliques (Lama et *al.*, 2017).

Si les acides gras sont les constituants majeurs de l'huile d'olive, ce sont les constituants mineurs qui permettent son authentification, tant sur le plan de la provenance géographique que sur sa qualité physico-chimique (Henry, 2003 ; Bouskou, 2015). Cette fraction dite mineure est constituée d'une large gamme de métabolites secondaires qui contribuent à la saveur, à la stabilité et à la valeur nutritionnelle de l'huile.

La présence, le profil et le contenu de ces micronutriments fonctionnels dans les olives se reflète dans l'huile correspondante. Ce profil est conditionné par le cultivar d'olive, les conditions génétique et pédoclimatiques mais aussi par la maturité des olives et les techniques d'extraction et de conservation de l'huile.

La composition distincte de l'huile d'olive lui confère un nombre illimité de bienfaits sur la santé humaine qui peuvent aller de plusieurs activités biologiques et propriétés pharmaco-nutritionnelles jusqu'à la protection contre différents cancers passant par des effets cardioprotectrices et immunomodulatrices (Sordini et *al.*, 2013 ; Estruch et *al.*, 2018 ; Romani et *al.*, 2019)

Des effets antioxydants de l'huile d'olive, spécialement extra vierge, ont été analysés en profondeur compte tenu de la corrélation entre le stress oxydatif et les athéroscléroses, à titre d'exemple l'étude de Hernáez et *al.* (2015) ; Hohmann et *al.* (2015) ; George et *al.* (2019) qui ont démontré la réduction des dommages oxydatifs lipidiques et la diminution des LDL oxydés de manière dose-dépendante.

Les activités antitumorales et anticancéreuses de l'huile d'olive ont été largement étudiées et mis en évidence à la fois *in vitro* avec des cultures cellulaires et *in vivo* avec des modèles animaux. Fini et *al.* (2008) ; Menendez et *al.* (2008) ; Hernáez et *al.* (2017) ont



montré que la fraction phénolique de l'huile d'olive extra vierge et des composés spécifiques comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique, le 1-acétoxypinorésinol et le pinorésinol ont une activité antitumorale contre les lignées cellulaires du cancer du sein tandis que De Pablos et *al.*(2019) ; Moorthy et *al.* (2020) ont mis en évidence l'effet synergique de ces composés qui possèdent ensemble des activités cytotoxiques contre les cellules mammaires, pulmonaires et prostatiques.

Dans un autre contexte, plusieurs travaux ont mis l'accent sur les activités antimicrobiennes des extraits phénoliques de l'huile d'olive. Citons par exemple les travaux de Yildiz et Uylaser (2011) ; Cicerale et *al.* (2012) ; Dağdelen (2016) qui ont élucidé l'effet antibactérien des composés phénolique de quelques échantillons d'huile d'olive d'origine Turque contre *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia sp.*, *Salmonella enterica*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella sonnei* et *Candida albicans*.

De même, Laincer et *al.* (2014) ont également montré l'activité antibactérienne des extraits phénoliques obtenus des huiles d'olive Algérienne à l'égard de quelques bactéries Gram positif et Gram négatif : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas. Aeruginosa* et *Klebseilla pneumoniae*.

Bien qu'elle ne contribue qu'à environ 3 % du marché mondial des huiles végétales alimentaires, l'huile d'olive fait l'objet d'un intérêt croissant de la part de nouveaux pays, notamment grâce aux résultats des recherches scientifiques qui confirment les caractéristiques positives de cet « or liquide » et sa place fondamentale dans la diète méditerranéenne. De nos jours, l'oléiculture présente sur les cinq continents permet la production de l'huile d'olive au niveau de 56 pays dans le monde avec une production mondiale estimée à 3,1 millions de tonnes pour la campagne 2019/2020 (COI, 2020).

En Algérie, L'oléiculture est l'un des secteurs stratégiques et l'huile d'olive est un trésor national d'utilité publique et un précieux carburant pour l'économie. De ce fait, c'est grâce aux efforts constants des pouvoirs publics qui ont déployé énormément de moyens pour développer la filière oléicole, et ce à partir des années 2000. A parti de là, la production de l'huile d'olive a été croissante pour enregistrer le niveau le plus élevé ces cinq dernières années et atteindre en 2020 les allants tours de **120000 tonnes** (Fraihat et *al.*, 2017 ; FAOSTAT, 2020) classant ainsi l'Algérie à la septième place des producteurs mondiaux et la troisième Africaine



après la Tunisie et le Maroc avec 1,7% de la production mondiale (COI, 2020a ; FAOSTAT, 2020).

L'Algérie a fait également beaucoup de progrès dans le but d'améliorer la quantité de production et la qualité des huiles vierges et vierge extra d'où elle a gagné deux médailles d'or et deux titres gourmets pour leurs huile d'olive (AVPA, Paris 2020) dans le 18<sup>ème</sup> Concours International des huiles à Paris.

La production et la composition chimique de l'huile d'olive vierge sont influencées par des facteurs génétiques (cultivar) Mousa et *al.* (1996), environnementaux et agronomiques (caractéristiques édaphologiques et des conditions climatologiques) (Criado et *al.*, 2004 ; Issaoui et *al.*, 2007 ; Aparicio, 2016).

Il existe de très nombreuses données sur la caractérisation et la composition de l'huile d'olive d'origines variées (Bulgarie, Espagne, France, Grèce, Italie, Maroc, Portugal et Tunisie) (Di Giovacchino et *al.*, 2002 ; Dhifi ; *al.*, 2005 ; Pardo et *al.*, 2007 ). Plusieurs études ont été effectuées pour corrélérer la composition chimique de l'huile d'olive et sa qualité avec l'origine géographique ainsi qu'avec les procédés d'extraction à l'aide de méthodes chimiométriques tels que l'Analyse en Composante Principale (ACP), l'Analyse Discriminante, et la Classification Hiérarchique (Gigliotti et *al.*, 1993 ; Benabid, 2009 ; Guissou et *al.*, 2018 ).

En Algérie, il n'existe que peu de données récentes sur les huiles d'olive issues des principales régions oléicoles et extraites par différents procédés d'où l'intérêt de mener cette étude qui vise à caractériser dans un premier volet treize échantillons d'huile d'olive, provenant de plusieurs régions oléicole en Algérie (Est, Ouest et Centre), évaluer dans un deuxième, les teneurs de certains constituants de la fraction insaponifiable, puis déterminer dans un troisième volet leurs activités antioxydantes et antibactériennes à l'égard d'une gamme importante de souches bactériennes potentiellement pathogènes pour corrélérer enfin les caractéristiques des huiles objet de cette étude avec leur origine géographique à l'aide de méthodes chimiométrique.



## Chapitre I: Revue de littérature

### I. Aperçu général sur l'olivier et l'oléiculture

L'origine de l'olivier a été le sujet de plusieurs débats. Bien que des fossiles datant de la période tertiaire aient prouvé l'existence d'un ancêtre de l'olivier en Italie (Terral et al., 2007 ; El Bouzidi et Ouahidi, 2016).

Les découvertes archéo-botaniques de noyaux d'olive dans les habitats humains remontent à environ 780 000 ans, il a été démontré que des cavités de rochers ont servi pour le pressage des olives en crête (Terral et al., 2009 ; Aggoun Arhab, 2016).

L'Olivier méditerranéen (*Olea europaea subsp europaea*) fut l'un des premiers arbres à être domestiqués et est actuellement de grande importance agricole dans la région méditerranéenne comme source d'huile d'olive (Kailis, 2017). Les bases moléculaires qui sous-tendent les différences phénotypiques entre les cultivars domestiques, ou entre les oliviers domestiques et leurs parents sauvages, restent mal comprises. D'après Cruz et al. (2016), l'olivier sauvage et cultivées a 46 chromosomes (2n).

L'olivier est l'un des arbres qui occupent une place importante dans l'arboriculture fruitière méditerranéenne car l'implantation des oliveraies en Europe méditerranéenne est limitée au Nord au 45<sup>eme</sup> degré de latitude, limite imposée par les froids hivernaux et les fréquentes gelées printanières, il ne dépasse pas le cap du Sud de la France, de la Yougoslavie, ainsi que certaines superficies des territoires de la Grèce, Portugal, et autres pays de la rive Nord de la méditerranée (Barranco et Rallo, 2005 ; Angles, 2016).

Actuellement, il est considéré comme un élément majeur de l'économie agricole dans certains pays de cette région. Ses vertus nutritives et curatives ne sont pas à démontrer vu que son huile est utilisée en consommation directe, et aussi dans les domaines de la médecine et de la cosmétologie (Goldschmidt, 2013).

#### 1. Oléiculture dans le monde et en Algérie

L'olivier est classé dans la famille des Oléacées où l'on rencontre aussi le frêne et le lilas. Le genre est appelé *Olea* et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce qui est cultivée dans le bassin méditerranéen est l'*Olea europea*, dans laquelle sont rencontrés l'*oléastre* ou olivier sauvage, et l'olivier cultivé (*Olea europea sativa*) (Terral et al., 2007 ; Rabiei et Tahmasebi, 2012). La classification botanique de



l'arbre d'olivier d'après Muzzalupo et Chiappetta (2012) est la suivante :

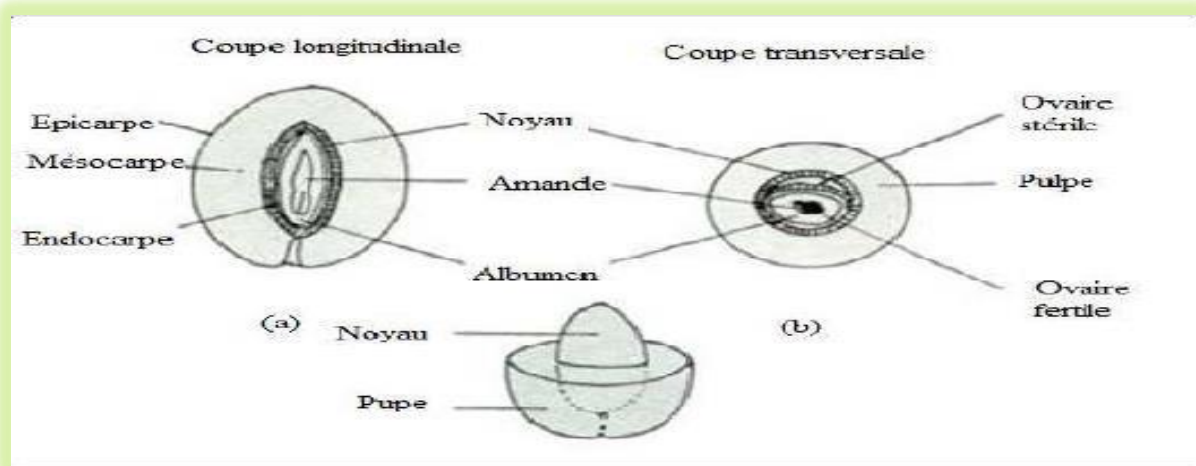
<b>Clade</b> : Asteridae
<b>Famille</b> : Oleaceae
<b>Genre</b> : Olea
<b>Espèce</b> : europaea
<b>Sous espèces</b> : cupidata
cerasiformis
guanchica
laperrinei
europea
<b>Variétés</b> : europaea (ou sativa)
Sylverstris

Certains travaux de recherche ont indiqué que le patrimoine génétique oléicole mondial est constitué par plus de 2600 variétés différentes (Muzzalupo et *al.*, 2002 ; Muzzalupo et Chiappetta, 2012). L'olivier a développé une plate-forme variétale caractéristique pour chaque aire de culture, près de 1250 variétés cultivées dans 54 pays sont conservées dans près de 100 collections qui ont été incluses dans la base de données du germoplasme de l'olivier de la FAO, la plus grande partie de ces cultivars vient des pays de l'Europe méridionale et d'Afrique du nord : l'Italie avec 610 cultivars, l'Espagne 280 cultivars, la France 100 cultivars, la Grèce 101 cultivars, la Tunisie 70 cultivars et l'Algérie avec 150 cultivars (FAOSTAT, 2020).

En Algérie, L'oléiculture constitue une source de subsistance pour de nombreuses familles et l'une des principales essences fruitières, la superficie oléicole s'étend sur plus du 1/3 (près de 34,09%) de l'espace dévolu aux cultures fruitières arborescentes, sur une superficie d'environ 383443 ha . Les oliveries sont principalement cultivés dans les zones côtières du pays. Les principaux et les plus anciens vergers oléicoles se trouvent dans les régions montagnardes et les collines recouvrant une surface de 195 000 hectares , ainsi que dans les plaines occidentales du pays (Mascara, Sig, Relizane etc...) et dans les vallées comme la Soummam. Cette superficie a bien nettement augmenté par la mise en place d'un programme national pour le développement de l'oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes (Msila, Biskra, Ghardaïa, etc (Lamani et Ilbert, 2018).

## 2. Olives

L'olive fruit de l'olivier, est une drupe plus ou moins ellipsoïdale de taille variable selon la variété (Figure 1). Elle se compose de trois parties: le noyau (ou endocarpe), la pulpe (mésocarpe) et la cuticule (épicarpe). La composition chimique de l'olive variée en fonction de plusieurs paramètres dont la variété, le climat et les conditions culturales (Bouskou, 2015 ; Faghim *et al.*, 2016).



**Figure 1** : Schéma d'une coupe transversale d'une olive (Bianchi, 2003)

La Drupe est majoritairement composée d'eau, de glucides et d'huile ainsi que des protéines, cellulose, acides organiques, pigments, minéraux et polyphénols qui sont aussi des constituants importants (Boskou, 2015).

Les olives fraîches peuvent contenir jusqu'à 70 % d'eau, 5- 30 % d'huile, 20 % de glucides, 6 % de cellulose, 1,5% protéines et 1,5 % de minéraux (Kailis, 2017).

### 3. Caractéristiques des principales Variétés d'olives répondus en Algérie

D'après Domingez-garcia *et al.* (2012), Le patrimoine oléicole Algérien comprend une diversité variétale répartie sur ses différentes régions oléicoles, il est composé de 150 cultivars d'olives représentés majoritairement par des arbres vieux, cultivés localement et utilisant des critères locaux pour leur appellation.

Sur l'ensemble des 150 variétés recensées, seules 36 locales ont été identifiées sur la base de discriminateurs morphologiques du COI par Mendil et Sebai (2006).



L'identification des cultivars de l'olivier est souvent basée sur des descripteurs morphologiques, biochimiques et agronomiques qui sont influencés par les facteurs environnementaux et la période de maturation du fruit (exemple "Chetoui"; maturation tardive d'hiver) ou leur site d'origine (exemple Chemlal de Kabylie). Une identification précise des cultivars permettra une gestion durable du patrimoine oléicole. Cela n'est possible qu'à travers l'utilisation des marqueurs moléculaires, non seulement pour l'identification ; mais aussi pour la préservation et la valorisation de la diversité génétique de nos ressources locales lors de la planification de nouvelles aires de culture et la réalisation des programmes d'amélioration (Lamani et Ilbert, 2018).

### **3.1. Variété Sigoise**

La variété Sigoise occupe 25% de potentiel oléicole Algérien, sa production est utilisée à double fin : à l'extraction d'huile avec un rendement moyen qui varié entre 18 et 22 %, ou bien destinée pour la table. Cette variété est connue par sa productivité moyenne et alternante. C'est une variété moyennement résistante au froid et à la sécheresse, tolérante aux eaux salées. Elle est un bon pollinisateur de Chemlal (Lamani et Ilbert, 2016a).

### **3.2. Variété Chemlal**

Cette variété représente environ 40 % du verger oléicole Algérien cultivée essentiellement en grande Kabylie où elle occupe une place importante dans l'économie de la région. Il ne s'agit pas d'une variété mais probablement d'une population, car il existe plusieurs types de Chemlal : - Chemlal de Tizi Ouzou - Chemlal précoce de Tazmalt - Petite Chemlal pendante - Chemlal de l'Oued Aissa - Chemlal Blanche d'Ali- Chérif .Son rendement en huile est de l'ordre de 18 % à 24 %. Elle est réputée pour produire une huile d'excellente qualité. Chemlal est une Variété rustique, tardive, avec une productivité élevée et peu alternante, autostérile et toujours associée à d'autres variétés qui assurent sa pollinisation comme Azeradj et Sigoise (ONFAA, 2016).

### **3.3. Variété Aberkane**

Variété rustique, sa Floraison est Précoce avec une productivité faible et alternante. Elle est localisée en altitude supérieure, son rendement en huile est de 16 à 20%. Aberkane est utilisée aussi pour la consommation directe (ONFAA, 2016).

### **3.4. Variété Bouichret**

Variété rustique et tardive avec une productivité moyenne et alternante, se rencontre en association avec les variétés Aharoun et Chemlal utilisée seulement pour l'extraction de



l'huile avec un rendement de 20 à 24% (ONFAA, 2014).

### **3.5. Variété Bouchouk**

Cette variété est cultivée surtout dans la basse vallée de l'Oued Soummam, en petite Kabylie, mais elle se trouve également en grande Kabylie en mélange avec Chemlal et dans l'est du pays (Constantine). Il existe plusieurs types de Bouchouk suivant la localisation des aires de culture : - Bouchouk de Guergour - Bouchouk de Sidi Aïch - Bouchouk Lafayette (Bougaâ). Les fruits sont relativement gros (3 à 5g) avec une teneur en huile de 16 à 20%. C'est une variété à deux fins (huile et conserve) (ONFAA, 2016).

### **3.6. Variété Azeradj**

Résistante à la sécheresse, d'origine de Kabylie (Seddouk-Bejaia), Elle occupe 10% de la superficie oléicole nationale, souvent en association avec la variété Chemlal dont elle est le pollinisateur, cette variété est utilisée à double fin ; huile avec un rendement de 24 à 28% et olives de table (ONFAA, 2017).

### **3.7. Limli**

Représente 8% du verger oléicole national, elle se rencontre dans la région d'Oued Soummam (ONFAA, 2016).

### **3.8. Rougette de Mitidja, rougette de Guelma et Blanquettes de Guelma**

Ce sont des variétés à huile installées dans la plaine de Mitidja, sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude, comme elles se trouvent en association dans la région Est du pays (ONFAA, 2016).

### **3.9. Variétés introduites**

Représentées d'après ONFAA (2016) principalement par :

- Cornicabra et Sévilane: La première est tardive et la deuxième est précoce ; d'origine Espagnole, elles se localisent à l'Ouest du pays.

- Frantoio et Leccino : Introduites récemment, d'origine Italienne.

- Lucques : d'origine Française, elle est souvent associée à la Sigoise.

- Gordal et Verdial : originaires d'Espagne



## II. Huile d'olive

### 1. Définition

Selon le CODEX STAN 33-1981 (2017), « C'est L'huile provenant uniquement de l'olivier (*Olea europaea L.*). À l'exclusion des huiles obtenues par solvants ou par procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature ».

L'huile d'olive se caractérise par son parfum délicat et unique. Cet arôme très particulier est dû à toute une gamme de composants présents à très faibles concentrations.

### 2. Dénominations commerciales

Les dénominations de vente de l'huile d'olive font l'objet d'une réglementation Européenne selon une méthodologie définie par le COI (2016). Elle comporte à la fois des analyses physico- chimiques visant à évaluer la qualité des matières premières et la fraîcheur des produits ainsi qu'une dégustation par un jury d'experts. L'huile d'olive est le seul produit alimentaire pour lequel l'évaluation organoleptique est prise en compte pour déterminer sa classification (De Alzaa, 2018).

#### 2.1. Huiles d'olive vierges

Huiles obtenues à partir du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques, dans des conditions, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et qui n'a subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration; à l'exclusion des huiles obtenues par solvant, par adjuvant à action chimique ou biochimique, ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (Muzzalupo *et al.*, 2012 ; COI, 2017). Ces huiles font l'objet du classement exhaustif et des dénominations suivantes :

##### 2.1.1. Huiles d'olive vierges propres à la consommation

###### a. 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 et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie. En France, on ne trouve quasiment que de l'huile vierge extra, cette dénomination est obligatoirement portée sur l'étiquette, elle seule garantit la qualité de l'huile (COI, 2017).



### **b. Huile d'olive vierge**

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre, exprimé en acide oléique, est au maximum de 2 g pour 100 g et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie (COI, 2017).

### **c. Huile d'olive vierge courante**

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oleique est au maximum de 3.3g/100g et dont les autres caractéristiques correspondent à celles prescrites pour cette catégorie (Codex, 1981 ; COI, 2017).

#### **2.1.2. Huile d'olive vierge non propre à la consommation**

Dénommée également, huile d'olive vierge lampante est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3.3 grammes pour 100 grammes (COI, 2015).

### **2.2. Huile d'olive raffinée**

Elle est obtenue par le raffinage d'huiles d'olives vierges dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, ne peut être supérieure à 0.3g pour 100g d'huile et dont les autres caractéristiques sont conformes à celles prévues pour cette catégorie (Codex, 1981 ; COI, 2017).

### **2.3. Huile d'olive**

Huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propre à la consommation humaine. Son acidité libre exprimée en acide oléique et au maximum de 1g/100g et ses autres caractéristiques correspondent à celles prescrites pour cette catégorie (COI, 2015).

### **2.4. Huile de grignons d'olive**

D'après le COI (2020a) est l'huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature, Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci- après:



#### **2.4.1. Huile de grignons d'olive raffinée**

Huile obtenue à partir d'huile de grignons d'olive brute par des techniques de raffinage n'entraînant pas de modifications de la structure glycérique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0.3g/100g et ses autres caractéristiques correspondent à celle prescrites pour cette catégorie (codex, 2003).

#### **2.4.2. Huile de grignon d'olive**

Huile constituée par un coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huiles d'olives vierges dont l'acidité libre, exprimée en acide oléique, est inférieure à 3g pour 100g d'huile. L'acidité libre de cette catégorie ne peut être supérieure à 1.5 g pour 100 g d'huile. Il s'appelle grignon le résidu sec de la pâte d'olives. Ce terme est équivalent à celui de tourteau (Castiglione, 1993 ; COI, 2020a).

### **III. Economie mondiale et Algérienne de l'huile d'olive**

De nos jours, l'oléiculture présente sur les cinq continents permet la production de l'huile d'olive au niveau de 56 pays dans le monde. D'autant plus que l'émergence récente de nouveaux pays producteurs et exportateurs a durci la compétitivité pour la conquête du marché de l'huile d'olive.

La production mondiale de l'huile d'olive a été estimée à 3,1 millions de tonnes pour la campagne 2019/2020. Néanmoins certaines techniques culturales aboutissant à la présence de résidus pesticides dans les huiles, ainsi que des pratiques dites d'adultération (coupage des huiles afin d'améliorer leur qualité ou de cacher un défaut ou de tenter de falsifier) relevant de la fraude font que leur authentification et traçabilité devient un critère obligatoire pour leur commercialisation à juste valeur. Malgré toutes ces considérations, peu ou prou sont les travaux menés autour de la traçabilité de l'huile d'olive (COI, 2020).

#### **1. Marché mondial de l'huile d'olive**

##### **1.1. Production et consommation**

La production de l'huile d'olive est très fortement concentrée sur les pays côtiers de la méditerranée et plus particulièrement avec un groupe de neuf pays qui réalisent à eux seuls près de 92% de la production mondiale. Le tableau 1 montre l'évolution de la production mondiale de l'huile d'olive ces dernières années.



**Tableau 1:** production internationale de l'huile d'olive (FAOSTAT 2020; COI ,2020b)

<b>Pays producteurs</b>	<b>2016/2017 (tonnes)</b>	<b>2017/2018 (tonnes)</b>	<b>2018/2019 (tonnes)</b>	<b>2019/2020 (tonnes)</b>
<b>Total de la Production mondiale</b>	2538000	2854000	3094000	3121000
<b>Pays Européen</b>	1744500	896000	2264000	1989000
<b>Espagne</b>	1283600	1150000	1790000	1230000
<b>Grèce</b>	195000	300000	120000	322000
<b>Italie</b>	182300	320000	174000	300000
<b>Portugal</b>	694000	110000	100000	120000
<b>Turquie</b>	177000	220000	194000	225000
<b>Maroc</b>	110000	120000	200000	300000
<b>Tunisie</b>	100000		140000	350000
<b>Algérie</b>	63000	80000	97000	120000
<b>Reste des pays du COI (Egypte, Jordanie, Argentine...)</b>	155000	177 000	279000	154000

## 1.2. Exportations et importations

Bien qu'elle ne contribue qu'à environ 3 % du marché mondial des huiles végétales alimentaires, l'huile d'olive fait l'objet d'un intérêt croissant de la part de nouveaux pays, notamment grâce aux résultats des recherches scientifiques qui confirment les caractéristiques positives de cet « or liquide » et sa place fondamentale dans la diète méditerranéenne.



74% des exportations mondiales sont assurées par trois pays, en l'occurrence, l'Espagne, l'Italie et la Tunisie. A noter que pour la Tunisie, la majorité de sa production, soit plus de 75%, est destiné à l'exportation (COI, 2020).

A l'instar des exportations, les importations mondiales de l'huile d'olive elles aussi, connaissent une progression au cours de ces dernières années ; l'ouverture de la consommation de l'huile d'olive a fait apparaître des nouvelles destinations avec les Etats unis d'Amérique, le Brésil, le Japon, le Canada et la Chine. Le premier pays importateur de l'huile d'olive est les Etats unis d'Amérique avec 35% des importations mondiales.

### 1.3. Prix de l'huile d'olive

Les prix moyens de l'huile d'olive extra vierge variée dans les quatre premiers producteurs mondiaux comme l'indique le tableau 2 :

**Tableau 2** : les prix internationaux de l'huile d'olive (COI, 2017/2020)

	2016 €/kg	2017 €/kg	2018 €/kg	2019 €/kg	2020 €/kg
<b>Espagne</b>	3,98	3,92	4,30	2,21	2,01
<b>Italie</b>	5,87-66%	5,87	3,53	4,95	2,90
<b>Grèce</b>	3,76-30%	3,76	3,38	2,68	2,20
<b>Tunisie</b>	4,25-2,8%	4,25	3,49	3,43	3,43

Selon le COI (2020b), la consommation mondiale de l'huile d'olive a enregistré aussi une légère hausse en 2019 et en 2020. Toutefois une augmentation du décalage entre l'offre et la demande a été observée.

Cette tendance du marché mondial a engendré, en conséquence, une baisse des prix sur plusieurs marchés notamment l'Espagne et la Grèce d'après la Commission européenne. En plus, les exportations espagnoles ont également été freinées par la décision des Etats unis d'Amérique, d'imposer des droits à l'importation de 25% sur plusieurs produits agricoles européens, dont l'huile d'olive. Les États unis d'Amérique consomment 320 000 tonnes d'huile d'olive par an, soit près de la moitié de la consommation hors Union européenne (COI, 2020b).



## 2. Marché Algérien de l'huile d'olive

L'huile d'olive est un trésor national d'utilité publique, mais aussi un précieux carburant pour l'économie. De ce fait, c'est grâce aux efforts constants des pouvoirs publics qui ont déployé énormément de moyens pour développer la filière oléicole, et ce à partir des années 2000, avec le Programme national de développement agricole qui a commencé par le soutien à la création des pépinières, jusqu'à la mise en place des unités de conditionnement de l'huile d'olive (Fraihat et *al.*, 2017).

Le soutien était d'amont en aval, par la formation, le crédit agricole, la révision des taxes en matière de production, la concession des terres, l'extension des terres agricoles, les nouvelles technicités... Cette filière a eu le plus de soutien de la part de l'Etat. Le résultat aujourd'hui, c'est qu'il y a beaucoup de prémisses qui montrent que la filière n'est pas loin d'intégrer le marché mondial grâce à certaines actions en cours qui montrent bien que l'Algérie se dirige en droite ligne dans l'organisation de cette filière.

Le directeur général de l'Institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAF), Mahmoud Mendil a déclaré que l'Algérie pourrait se positionner parmi les cinq premiers producteurs mondiaux de l'huile d'olive d'ici 2025 au sein du Conseil Oléicole International (COI), sachant qu'elle occupe actuellement la 7<sup>ème</sup> place.

Pour ce faire, le ministre de l'agriculture et du développement rural a initié la mise en place de nouveaux soutiens comportant l'acquisition d'équipements de récolte (peignes, fouetteurs ...) ; la modernisation des capacités de stockage (individuelles ou collectives) ; l'acquisition de chaîne de conditionnement (uniquement pour les formes collectives) et la création de nouvelles plantations à différentes densités en fonction des conditions agro-climatiques (Laib, 2020).

A l'instar de la production mondiale, la production de l'huile d'olive en Algérie connaîtra également une croissance selon la dernière note de conjoncture de l'observatoire national des filières agricoles et agroalimentaires (ONFAA) à travers la majorité des wilayas potentielles qui enregistrent une évolution de 43 % pour la production des olives et de 41% pour la production de l'huile d'olive (ONFAA, 2019)

Par ailleurs, il est nécessaire de signaler que les incendies qui ont touché certaines régions du pays au cours du mois de juillet et Aout 2017-2018 ont influencé sur le patrimoine oléicole national enregistrant à travers les zones potentielles, une perte de plus de 155.000 oliviers dont 90 635 à Tizi Ouzou (Laib, 2020)



La production de l'huile d'olive en Algérie a enregistré le niveau le plus élevé ces cinq dernières années, elle a atteint en 2017 plus de 63000 tonnes **et en 2020, 120000 tonnes** à travers le territoire national. Cette hausse s'explique par l'entrée en production de près de 2,5 millions d'oliviers au cours de ces dernières campagnes avec un rendement moyen en olives de 23 kg/arbre (ONFAA, 2017 ; FAOSTAT, 2020).

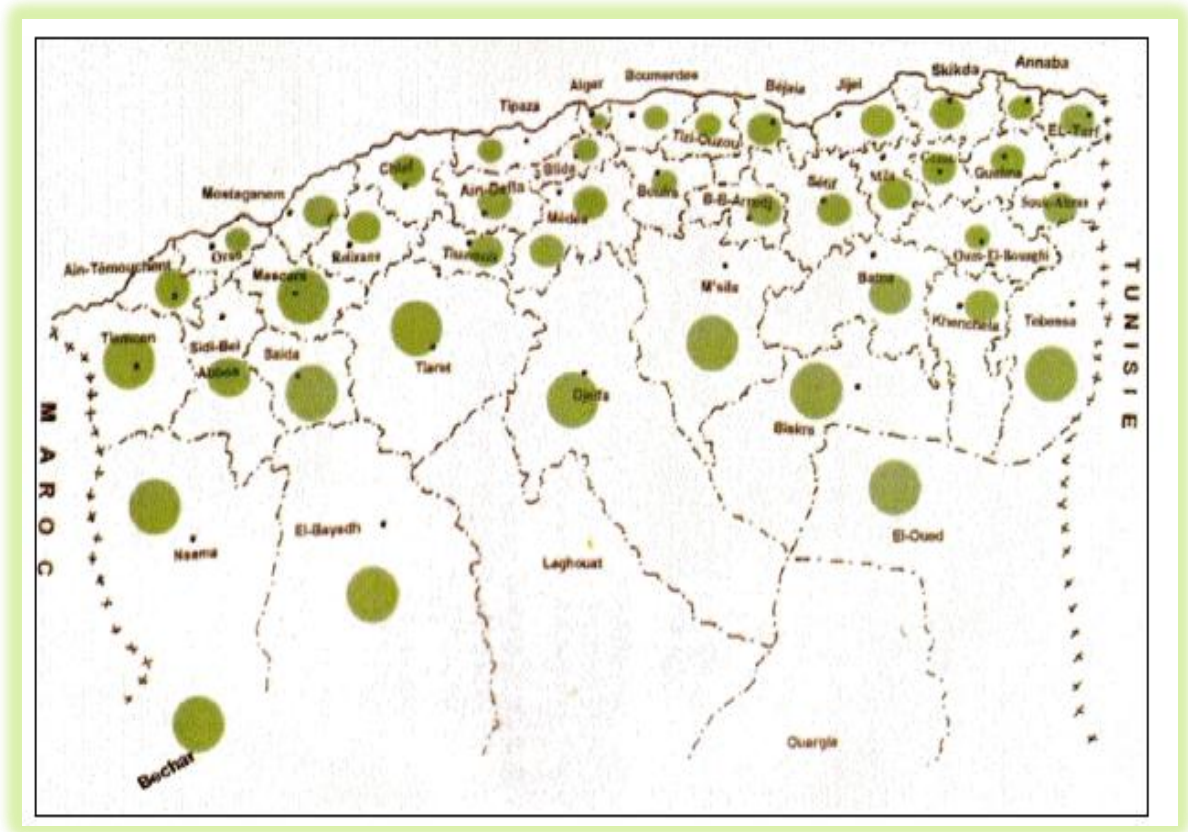
A cela vient s'ajouter la formation, l'information et la sensibilisation dont on bénéficie les oléiculteurs ainsi que les oléifacteurs à travers les multiples campagnes initiés par la DSA tout autour du territoire nationale.

Une amélioration de la qualité des huiles d'olive obtenues cette saison a été notée car les huiles produites sont de plus en plus extra vierge avec un taux d'acidité inférieure à 0,8 % indique Laib (2020).

L'oléiculture est concentrée exclusivement au niveau de six principales wilayas, trois wilayas de la région du Centre, qui représentent plus de 50% de la surface oléicole nationale (Bejaia, Tizi ousou, Bouira) et trois de la région Est (Bourdj Bourreridj, Sétif et Jijel). Quant au reste du verger oléicole, plutôt consacré à la production d'olives de table, il se trouve essentiellement dans trois autres wilayas (Tlemcen, Mascara et Relizane) (Chaux, 2015 ; Lamani et Ilbert, 2016a ; ONFAA, 2016).

L'oléiculture orientée vers la production de l'huile d'olive domine la quasi-totalité de la région de Bejaia, avec près de 70% de la surface arboricole totale. Néanmoins, la culture de l'olivier dans les zones présahariennes de l'Algérie a montré des rendements qui s'avèrent satisfaisants et une qualité d'huile de valeur acceptable .A titre d'exemple, les zones steppiques et du Sud, quant à elles, enregistrent un rendement moyen de 21 kg/arbre qui se justifie par la jeunesse des plantations et leurs récente entrée en production. Le plus grand rendement a été enregistré dans la wilaya de Biskra avec 39 kg/arbre, suivi par El Bayadh avec 35 kg/arbre (Benaziza et Semad, 2016).

La figure 02 montre les zones de la culture de l'olivier en Algérie



**Figure 2 :** Localisation des oliviers en Algérie (ITAFV, 2019)

D'après Lachibi et *al.* (2019), Plusieurs facteurs conditionnent les rendements oléicoles en Algérie. D'un côté, les critères d'âge et l'origine de la variété influent significativement sur le rendement oléicole dont les rendements sont constatés plus élevés quand les variétés sont mixtes (de la région et hors région) et d'âge moyen et d'autre côté, les critères liés à l'environnement, en particulier l'altitude et la pente où les rendements sont plus élevés lorsque les exploitations sont situées à des niveaux d'altitude supérieurs à 600 mètres avec des pentes modérées.

La capacité de trituration des huileries est un facteur limitant du rendement oléicole en Algérie où d'après les données de L'ITAFV (2017), la capacité nationale moyenne de trituration par huilerie était de l'ordre de 1931 (q) d'olive sans prendre en considération le type des huileries sachant que la capacité de trituration diffère d'une huilerie traditionnelle à une huilerie en chaîne continue.



Néanmoins, la première wilaya productrice de l'huile d'olive à savoir Béjaia ne dispose pas du nombre le plus élevé d'huilerie, elle est la deuxième après la wilaya de Tizi Ouzou avec un écart de 48 huileries.

Cinq wilayas assurent une production des olives destinées à l'huile et ne disposent pas d'huileries alors que d'autres huileries ont été émergées dans les nouvelles zones de production notamment sept dans la wilaya de M'sila et cinq dans la wilaya d'El Oued. La capacité de trituration semble être très faible dans certaines zones oléicoles; c'est le cas d'El Tarf qui dispose de deux huileries pour une production de 23180 (q) d'olives.

Le secteur de trituration d'olive est caractérisé par la coexistence en Algérie de trois types d'huileries, il s'agit de : huileries traditionnelles, huileries super presses, huileries chaînes continues.

Concernant le secteur traditionnel, 930 maâsras avec une capacité de trituration moyenne de 8q /jour sont localisées dans les zones les plus productrices. Tandis que le secteur moderne et semi-moderne sont représentés par 750 unités ayant une capacité minimale de trituration d'environ 10 tn/jour, l'extraction de 55% de l'huile d'olive Algérienne se fait dans des huileries traditionnelles, 21% dans des huileries super presses et 23% dans des huileries chaînes continues (ONFAA 2017).

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

La fabrication de l'huile a peu changé au cours des siècles. Deux étapes sont nécessaires : le broyage pour écraser la pulpe et les noyaux puis l'extraction pour recueillir l'huile (Bolmont *et al.*, 1998).

##### **1. Procédé classique**

La transformation de l'olive en huile s'effectue par des moyens mécaniques, très simples, fondés sur la pression ou la centrifugation. Aujourd'hui, il existe plusieurs systèmes de transformation et d'élaboration des huiles d'olives. Deux procédés sont généralement utilisés : un procédé discontinu et un procédé continu dont chacun présente des avantages et des inconvénients (Chimi, 2006 ; Alev Yuksel, 2017). Néanmoins, le processus général demeure le même, il comprend les étapes suivantes :

##### **1.1. Récolte**

Pour fabriquer une huile d'olive riche en arôme, délicatement parfumée, et de bonne qualité, la récolte des fruits est la première étape qui doit être faite soigneusement



en respectant la période et la méthode de la cueillette (Amouretti *et al.*, 1985, Talhaoui, 2016).

Avant le transport, l'olive doit être débarrassée des impuretés les plus grossières, (feuilles, débris de terre) et défauts de toutes sortes (fruits écrasés, tombés et ramassés à terre, abimés pendant le transport). La récolte commence à s'effectuer en Septembre pour les variétés précoces, jusqu'au Février pour les variétés tardives à huile (Argenson *et al.*, 1999 ; ITAFV, 2016).

### 1.2. Lavage et Effeillage

Comme l'indique la figure 03, ils sont réalisés d'une part par des équipements munis d'un flux d'air permettant l'élimination des feuilles, brindilles et autres matières végétales puis les olives sont lavées au moyen d'une circulation forcée d'eau potable et propre pour éliminer les boues, la terre et les pierres (COI, 2011 ; Kailis, 2017).



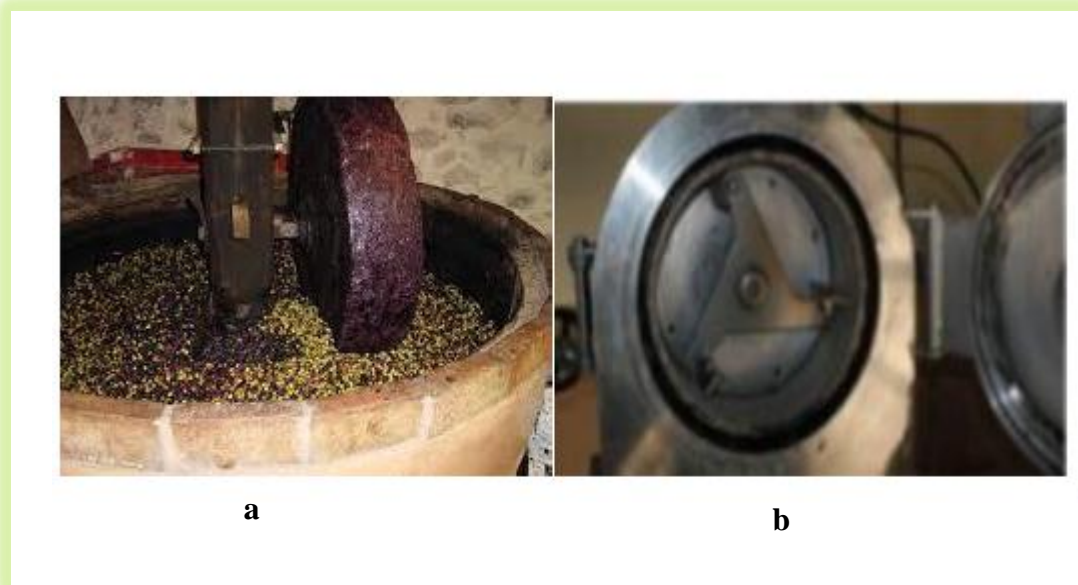
**Figure 3:** Effeillage et lavage des olives

(ITAFV, 2014)

### 1.3. Trituration

Le procédé d'extraction de l'huile d'olive consiste à broyer l'olive pour éclater les cellules de la pulpe et libérer l'huile, puis à la séparer par tous les moyens disponibles (pression, centrifugation et percolation) (Boskou, 2006). Ce processus est réalisé par une succession d'opérations: broyage, malaxage de la pâte obtenue, puis l'extraction proprement dite (Mchugh, 2015).

La libération de l'huile des tissus végétaux commence par le broyage des olives. Cette opération a pour but de déchiqeter les cellules de la pulpe et de faire sortir les gouttelettes d'huile des vacuoles (figure 4).



**Figure 4:** Broyage des olives/ **a** : broyage traditionnel (meule en pierre)  
**b** : broyage à marteau  
 (ITAFV, 2014)

#### 1.4. Malaxage

L'olive passe dans un malaxeur où s'effectue un chauffage avec injection d'eau dans certains cas. Cette opération a pour but d'homogénéiser la pâte et de détacher les cellules lipidiques. Elle a aussi comme but d'augmenter le pourcentage d'huile tout en favorisant, d'une part, la réunion des gouttelettes d'huiles en des gouttes plus grosses pour former une phase continue et d'autre part, la rupture de l'émulsion huile/eau (Cuellar, 1990). Cette étape est très importante pour l'amélioration du rendement (Boskou, 2006 ; COI, 2006 ; Galliard, 2017).

#### 1.5. Extraction proprement dite

La séparation des phases liquides de la phase solide est réalisée à l'aide des différents équipements au sein des quels les olives sont soumises à l'action de forces diverses et qui, en fonction du système d'extraction employé, peuvent être: le pressage, la force centrifuge ou la différence entre les tensions inter faciales (percolation) (Niaounakis *et al.*, 2006 ; Mchugh, 2015).

### 1.5.1. Extraction discontinue (par pressage)

L'extraction par pression se réalise traditionnellement sur des presses discontinues (figure 5) (Argenson *et al.*, 1999; Foin et Claude, 2002). La pâte issue du broyage est empilée sur les scourtins; à raison de 5 à 10 kg par scourtin. L'application de la pression sur la charge des scourtins doit être réalisée de manière progressive. La durée totale de l'opération de pressage, réalisée en une seule fois, varie entre 45 et 60 mn (Hammadi, 2006). La plupart des moulins utilisent des presses hydrauliques.



**Figure 5:** extraction par pression et centrifugation horizontale

(ITAFV, 2014)

Le jus sortant des presses est composé d'huile et d'eau. Pendant des siècles, la décantation a été simple pour récupérer l'huile. Comme l'huile est moins dense que l'eau, elle surnage à la surface et il suffit de la récupérer à la main grâce à un récipient en métal presque plat que l'on appelle la feuille. De plus en plus des centrifugeuses verticales prennent leur place. Ces dernières, sont moins encombrantes, plus rapides, et donnent un meilleur rendement (Foin et Claude, 2002 ; COI, 2006)

### 1.5.2. Extraction continue

L'extraction de l'huile par centrifugation directe des pâtes intervient par l'effet de la force centrifuge (3 000 à 4 000 tours /mn). Cette dernière accentue la différence entre les poids spécifiques des liquides non miscibles et du matériel solide et permet ainsi, la



séparation continue et simultanée des différentes phases (Cuellar, 1990). Deux technologies sont proposées par les constructeurs : la centrifugation à trois phases, la plus utilisée en Algérie, et la centrifugation à deux phases (Benyahia *et al.*, 2003 ; COI, 2006).

#### **a. Extraction continue à trois phases**

L'extraction de l'huile d'olive se fait à travers des phases successives contrairement au procédé discontinu. La pâte issue du malaxage est diluée avec de l'eau avant d'entrer dans le décanteur centrifuge afin que les différentes phases se séparent selon leur densité comme suit (El hajjouji, 2007 ; Mendosa, 2013):

- \* Le grignon qui va dans la partie la plus éloignée de l'axe de tour,
- \* Les margines, ou eau de végétation qui se trouvent sur l'anneau intermédiaire,
- \* L'huile qui reste autour de l'axe.

#### **b. Extraction continue à deux phases**

Le procédé technologique d'extraction de l'huile d'olives dans ce cas fonctionne avec un système de centrifugation à deux phases (huile et grignons humides) qui ne nécessite pas l'adjonction d'eau pour la séparation des phases huileuses et solides. Ce procédé est dit écologique (Hammadi, 2006 ; Kailis, 2017).

Les figures 06 et 07 illustrent les principales étapes d'extraction de l'huile d'olive selon les trois procédés.



Aucun procédé n'est parfait, chacun d'eux possède des avantages et des inconvénients, une comparaison entre les différents systèmes d'extraction est récapitulée dans le tableau 3.

**Tableau 3:** comparaison entre les trois principaux systèmes d'extraction de l'huile d'olive (Niaounakis et Halvadakis, 2006).

Système traditionnel « presse »	Système moderne à trois phases	Système moderne à deux phases
Nécessite une importante main d'œuvre	Permet de réduire la main d'œuvre	
Faible capacité de production	Grande capacité de production	
Altération des huiles après exposition de la pâte des olives à l'air libre durant environ heure de trituration	Les opérations de transformation se passent en clos, ce qui protège l'huile de l'altération par l'oxygène de l'air.	
Consommation moyenne d'eau.	Consommation élevée d'eau.	Très faible consommation d'eau.
Les huiles extraites sont riches en antioxydants.	Les huiles extraites sont pauvres en antioxydants.	Les huiles extraites sont riches en antioxydants.
Généralement l'huile est relativement acide (le respect des règles d'hygiène est difficile)	Faible acidité de l'huile	
Grand risque de contamination	Faible risque de contamination	
faible résistance de l'huile à l'oxydation à cause des acides gras libres	faible résistance de l'huile à l'oxydation à cause de sa pauvreté en antioxydants	stabilité de l'huile à l'oxydation
Quantité moyenne de margines	Très grande quantités de margine	Pas de margines
Faible quantité de grignons ( $28 \pm 4\%$ )	Quantité moyenne de grignons ( $48 \pm 4\%$ )	Grande quantité de grignons ( $60 \pm 4\%$ )



L'industrie oléicole engendre, en plus de l'huile comme produit principal, de grandes quantités de sous-produits. 100kg d'olive produisent en moyenne 35 kg de grignon et 100 litres de margine. La taille de l'olivier laisse en moyenne 25 kg de feuilles et brindilles annuellement (Nefzaoui, 1991).

## **2. Autres procédés moderne d'extraction de l'huile d'olive**

### **2.1. Ajout d'un co adjuvant**

La difficulté d'extraire la totalité de l'huile contenue dans le fruit est l'un des principaux obstacles de la méthode d'extraction notamment par pression. Néanmoins, certaines actions comme l'ajout d'un co-adjuvant lors du malaxage permettent d'améliorer l'efficacité du processus d'extraction. Les résultats de Titouh (2020) indiquent que l'ajout de 2,5 % de talc comme co-adjuvant à une pâte moins humide obtenue à partir d'olives entières améliore significativement le rendement en huile d'environ 4,4 % sans changer son acidité.

Dans le même contexte, Sadkaoui et *al.* (2017) ont surligné que la dose du talc influence le rendement plus que le type du talc utilisé. Ainsi, une dose de 2% permet environ 4% d'amélioration de l'extraction et que le surdosage avec le talc affecte négativement le processus d'obtention de l'huile d'olive. En outre, Guermazi et *al.* (2015) ont obtenu leurs meilleurs résultats d'extraction en ajoutant 1,5% du talc tandis que Vidal et *al.* (2018) recommande de ne pas dépasser 0,75% pour obtenir une meilleure extraction. Ainsi, Caponio et *al.* (2016) indiquent que les faibles concentrations de co-adjuvant sont préférables en particulier lorsque l'humidité de la pâte n'est pas trop élevée. Cependant, avec des olives à maturité avancée; Carrapiso et *al.* (2013) ont ajouté plus de 5% du talc pour améliorer le rendement en huile d'environ 1,1% seulement. Par conséquent, l'effet du talc ne dépend pas uniquement de sa dose d'application ou de la température de malaxation, mais beaucoup plus de cultivar et en particulier de l'humidité des olives broyées (Guermazi et *al.*, 2015; Caponio et *al.*, 2016).

### **2.2. Les technologies d'ultrasons, champs électrique pulsé et microondes**

Ces dernières années, de nouvelles technologie telles que les ultrasons, les microondes (Amirante et *al.*, 2017 ; Aydar et *al.*, 2017 ; Yanik, 2017) et le champ électrique pulsé (Abenoza et *al.*,2013 ;Clodoveo et *al.*,2015 Aydar et *al.*,2018a ) ont été adoptés dans



l'extraction de l'huile d'olive en raison de leur efficacité d'extraction améliorée, temps d'extraction réduit, rendement accru et une faible consommation d'énergie.

Toutes ces technologies récentes sont basées sur la dégradation des cellules de l'olivier par des traitements thermiques et non thermiques qui permettent la formation de pores, les altérations de la perméabilité des membranes, l'afflux d'eau, le gonflement et la déflation avec une conséquence globale la rupture des parois cellulaires et des membranes. La lyse cellulaire entraîne une libération abondante de composants micro et macro-intracellulaires dans la phase aqueuse qui conduit à une augmentation des gouttelettes d'huiles libres (Puértolas et *al.*, 2012 ; Gabrić et *al.*, 2018 ; Kumari et *al.*, 2018).

L'impact des ultrasons sur l'extraction de l'huile d'olive pourrait s'expliquer par la perturbation de la membrane cellulaire et par conséquent l'amélioration des phénomènes de transfert de masse (Achat et *al.*, 2012 ; Aydar et *al.*, 2018b). Cette technique aide à libérer l'huile contenue dans les cellules du mésocarpe qui n'ont pas été broyées. Par ailleurs, Clodoveo et *al.* (2013a ; 2013b) ; Bejaoui et *al.* (2016) ; ont signalé une augmentation significative de 0,70% à 1,00% du rendement en huile pendant 4 à 8 min de traitement de la pâte d'olive par des radiations ultrasons (35 kHz; 150 W), comme ils ont remarqué une légère augmentation dans les caractéristiques qualitatifs (acidité, indice de peroxyde, K232 et K270) des huiles extraites de cette manière et un effet néfaste sur leur qualité (surtout leur teneurs en polyphénols) lors d'une application des ultrasons à des températures élevées pendant de longues périodes.

Inversement, Les huiles d'olives extra vierges obtenues à partir de l'extraction assistée par le champ électrique pulsé ont montré une augmentation du rendement en huile due à une dégradation efficace des tissus de l'olivier. La libération d'une grande quantité d'huile dans la phase eau libre de la pâte d'olive a amélioré sa quantité de 2,3 à 6,0% (Veneziani et *al.*, 2016 ; Veneziani, 2019). Cette technique a également montré un impact positif sur la qualité de l'huile d'olive caractérisée par une valorisation des composés phénoliques avec une augmentation allant de 3,2 à 14,3% (Kumari et *al.*, 2018) due au traitement non thermique appliqué à la pâte d'olive malaxée . En revanche, la teneur en  $\alpha$ -tocophérol n'a pas été influencée par ce traitement et n'a pas montré de différences significatives (González-Casado et *al.*, 2018 ; Ricci et *al.*, 2018).



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

L'intérêt pour les huiles d'olive a été accru depuis la découverte de leur richesse en vitamines liposolubles et en polyphénols qui sont des antioxydants, néanmoins son bon équilibre en AGPI/AGS lui confère des propriétés de stabilité contre les dégradations thermiques oxydative, notamment en ce qui concerne la formation d'aldéhydes volatils, il rend de cette dernière une huile appropriée et recommandable à être utiliser pour les fritures (Molina-Garcia et *al.*,2017 ). Cette relation entre les acides gras poly et mono insaturé et la faible teneur en graisses saturées lui fait également l'une des huiles végétale les plus saines à consommer cru (Sun et *al.*,2015 ; Arslan et OK, 2019).

Si les acides gras sont les constituants majeurs de l'huile d'olive, ce sont les constituants mineurs qui permettent son authentification, tant sur le plan de la provenance géographique que sur sa qualité physico-chimique (Henry, 2003 ; Bouskou, 2015) et comme toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est composée d'une fraction saponifiable dite primaire ou major et d'une fraction insaponifiable dite secondaire ou mineur (Giuffre et *al.*, 2013).

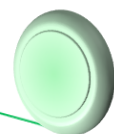
### 1. Fraction saponifiable

D'après Giuffre et *al.* (2017), Cette fraction représente 99 % de l'huile d'olive. Elle est composée essentiellement de triglycérides, esters du glycérol et d'acides gras (AG).

#### 1.1. Acide gras

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides qui sont caractérisés par leur insolubilité dans l'eau et solubilité dans les solvants organiques (Giuffre et *al.*,2014b). Ils sont également impliqués dans plusieurs fonctions physiologiques , en tant que composants structurels des membranes cellulaires et du systèmes nerveux , comme ils jouent un role crucial dans la synthèse de plusieurs hormones et dans le développement cérébrale sans oublier qu'ils sont la sources de vitamines liposolubles

Kalogeropoulos et *al.*(2015) ; Caporaso (2016) ont annoncé que la composition de l'huile d'olive en acide gras est très variable et dépend, des facteurs génétiques , de la variété des olives , la région de production, l'année de la récolte (influence des conditions environnementales) et des facteurs pédoclimatiques .Des normes telles que celle du codex Alimentarius régulent cependant cette variabilité en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras (Tableau 4).

**Tableau 4:** Composition en acide gras d'une huile d'olive

Acides gras	Formule brute	Ollivier <i>et al</i> (%)	Codex alimentarius (%)	COI 2019
Acide myristique	C14:0	-	< 0,1	≤ 0,03
Acide palmitique	C16:0	7,5-15,6	7,5-20	≤ 7,5-20
Acide palmitoléique	C16:1n-7	0,3-1,9	0,3-3,5	≤ 0,3-3,5
Acide stéarique	C18:0	1,4-3,4	0,5-5	≤ 0,5-5
Acide oléique	C18:1n-9	60,9-82,1	55-83	≤ 55-83
Acide vaccénique	C18:1n-7	0,7-3,6	-	-
Acide linoléique	C18:2n-6	4,5-16,1	3,5-21	≤ 2,5-21
Acide α-linolénique	C18:3n-3	0,4-1,2	< 1,5	≤ 1
Acide arachidonique	C 20:0	0,3-0,5	< 0,8	≤ 0,6
Acide gadoléique	C 20:1n-9	0,2-0,5	-	≤ 0,4
Acide béhénique	C 22:0	< 0,2	< 0,2	≤ 0,2
Acide lignocérique	C24:0	< 0,1	< 1	≤ 0,2

### 1.1.1. Acides gras saturés

Ils représentent entre 12 à 18 % (selon les productions) de la teneur en lipides de l'huile d'olive; ce sont représentés selon Borges *et al.* (2017) par:

Acide palmitique  $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} \text{COOH}$

Acide stéarique  $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{COOH}$



### 1.1.2. Acides gras polyinsaturés

Ils représentent entre 7 à 13 % (selon les productions) de la teneur en lipides de l'huile d'olive (Jacotot, 1993). Deux familles selon la place de la première double liaison sur la chaîne carbonée sont distinguées : la famille des  $\omega$  6 où l'acide linoléique ( $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_4 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$ ) est le précurseur et la famille des  $\omega$ 3 où l'acide  $\alpha$ -linoléique ( $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$ ) est le précurseur (Alcázar et al., 2014).

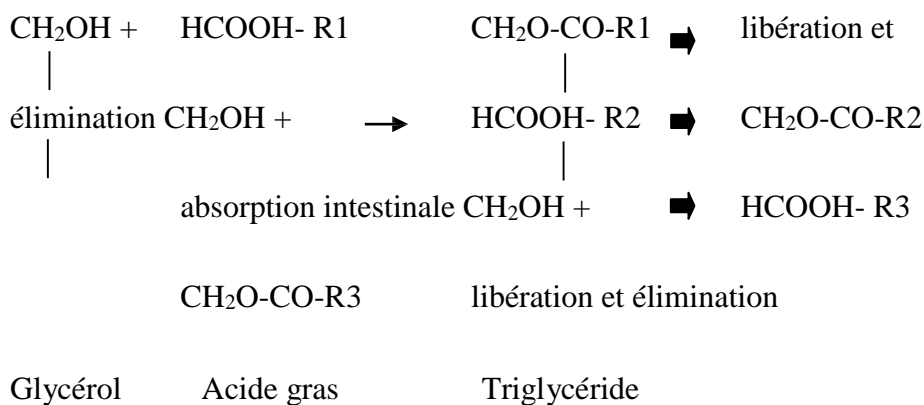
### 1.1.3. Acides gras monoinsaturés

Selon Schwingshackl (2012) ; Borges (2017) les acides gras constituent 65,2 à 80,8% de la fraction lipidique de l'huile d'olive et sont représenté par:

- Acide oléique ( $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$ ) qui représente la moitié de la portion totale de triacylglycérol trouvés dans l'huile d'olive extra vierge (Gavahian et al., 2019).
- Acide palmitoléique  $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_6 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_5 - \text{COOH}$
- D'autres monoacylglycérols ont été identifiés dans l'huiles d'olive extra vierge a des concentrations de 1 à 2,8% (Alu et al., 2017).

## 1.2. Les triglycérides (TG)

Les TG sont des triesters résultant de la combinaison de trois molécules d'AG par leur fonction carboxyle avec les fonctions alcooliques du glycérol; ils ont cette structure



**Figure 8** : structure des triglycérides (Viola, 1997).



D'après l'étude de Renaud (1995), au cours de la digestion, les AG situés en position externe, 1 ou 3, se libèrent de leur attache et peuvent être éliminés par l'organisme lorsqu'ils forment avec le calcium intestinal des sels insolubles. En revanche, celui situé en position 2 est de préférence absorbé au travers de la paroi intestinale. Autrement dit, seuls les AG en position 2 sur le glycérol agissent au niveau métabolique puisque ce sont les seuls à être absorbés. Or, l'huile d'olive a la composition en AG en position 2 la plus optimale en ce qui concerne les besoins nutritionnels.

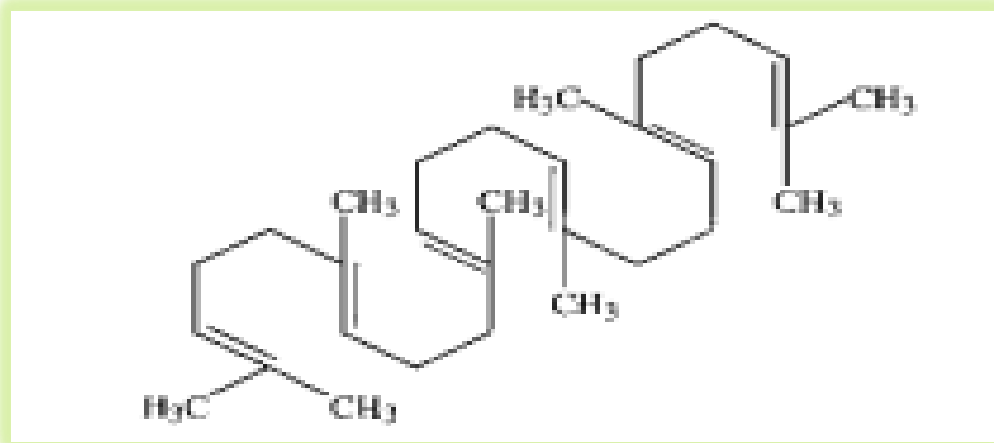
## **2. Fraction insaponifiable (composés « mineurs »)**

L'insaponifiable correspond à l'ensemble des constituants d'un corps gras qui, après saponification, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants des graisses (Renaud, 1995 ; Giuffrè et *al.*, 2017). Elle représente 0,4 à 0,8 % de l'huile d'olive.

Si l'huile d'olive possède des propriétés médicales, c'est en partie dû à sa teneur en acide oléique, mais c'est aussi grâce à sa fraction insaponifiable constituée d'hydrocarbures, de stérols, d'alcools terpéniques, de tocophérols, de composés phénoliques, de phospholipides et de pigments (chlorophylle, caroténoïdes) (Servili et *al.*, 2009) qui même présents en faible teneur apportent une valeur biologique d'une grande richesse (Alcázar et *al.*, 2014).

### **2.1. Hydrocarbures**

Ce sont quantitativement les principaux composants de la fraction insaponifiable. Le composant majeur est le squalène qui constitue 50 à 90 % de cette fraction (Servili, 2013). C'est un hydrocarbure polyénique dont la teneur est plus élevée que dans n'importe quelle autre huile végétale ou animale. Le squalène (figure 09) est un précurseur métabolique du cholestérol et autres stérols.



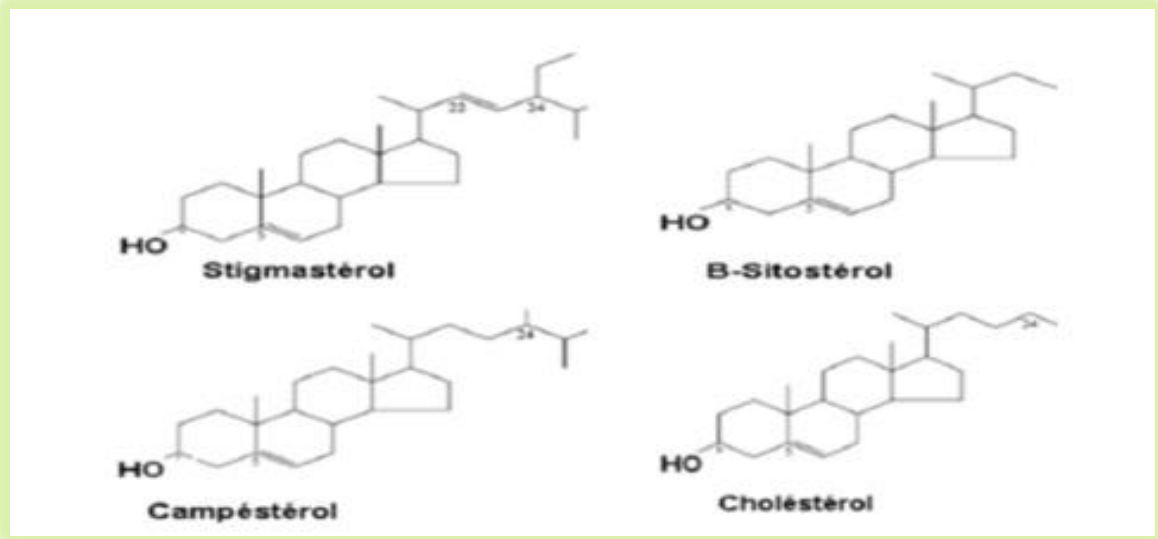
**Figure 9:** Structure de squalène  
(Spanova et Daum, 2011).

Il y a également des hydrocarbures aromatiques, parmi lesquels plus de 77 composés, conférant à l'huile d'olive son arôme et sa saveur (Mendoza et *al.*, 2013). Ces composés ne sont pas à sous-estimer car ils ont une incidence positive sur la digestion.

## 2.2. Stérols

Leur quantité dans l'huile d'olive varie entre 1000 et 2000 mg/Kg d'huile, elle varie suivant la variété des olives, leur degré de maturité et plusieurs autres facteurs agronomiques et pédo-climatiques (Boarelli, 2020).

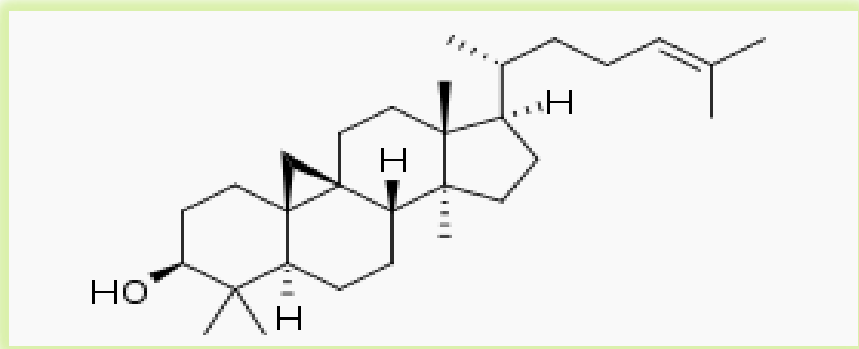
Le principal stérol est le  $\beta$ -sitostérol qui représente jusqu'à 90 à 95 % de tous les stérols présents. Celui-ci est intéressant car il s'oppose à l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire. L'huile d'olive est la seule huile à contenir un taux particulièrement élevé de ce type de stérols (Alais et Linden, 1997 ; Tsao, 2010). D'autres phytostérols sont présents: tels que le campestérol et le stigmastérol (figure 10) et l'ergostérol (Boarelli, 2020).



**Figure 10** : structures des principaux stérols de l'huile d'olive (Spanova et Daum, 2011).

### 2.3. Les alcools terpéniques

Ils sont présents dans l'huile d'olive à l'état libre ou bien estérifiés à raison de 350 à 1500 mg/Kg d'huile avec les acides gras (Sevrili, 2013). Parmi eux, le cycloarténol (figure 11) revêt un intérêt particulier: il augmente l'excrétion des acides biliaires, favorisant ainsi l'élimination fécale du cholestérol. Il se trouve aussi de l'érythrodiol à raison de 9 à 69 mg/kg et la forme estérifiée de l'uvaol, dont leur teneur est principalement affectée par les caractéristiques de la culture (Brenes, 1999; Mariani, 2013).

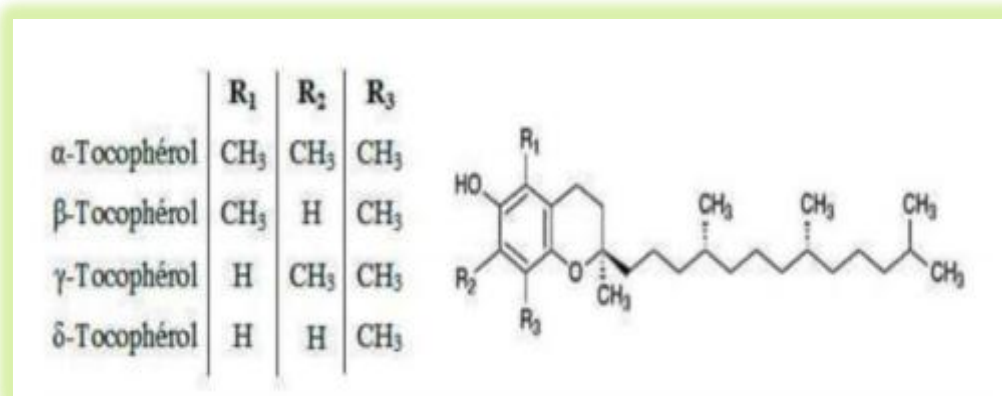


**Figure 11** : structure de cycloarténol (Alais et Linden, 1997)

## 2.4. Les tocophérols

Les tocophérols sont des composés importants de l'huile d'olive en raison de leur double action bénéfique. En effet, ils ont tout d'abord l'atout d'être une vitamine E en plus de leur forte activité antioxygène (Ollivier *et al.*, 2014).

Trois isoformes de tocophérols comme le montre la figure 12 sont présentes dans l'huile d'olive extra vierge : l' $\alpha$ ,  $\beta$  et le  $\gamma$  (Haddam *et al.*, 2014). La forme prédominante est la forme  $\alpha$  qui représente entre 191,5 et 292,7 mg/kg d'huile, ces valeurs fluctuent avec les variables de la récolte et l'espacement entre les oliviers. En outre, les niveaux élevés de ce type de tocophérol peut être liée aux niveaux élevés de pigments de chlorophylle (Boskou *et al.*, 2006 ; Reboredo-Rodriguez *et al.*, 2018).



**Figure 12:** Structure des tocophérols

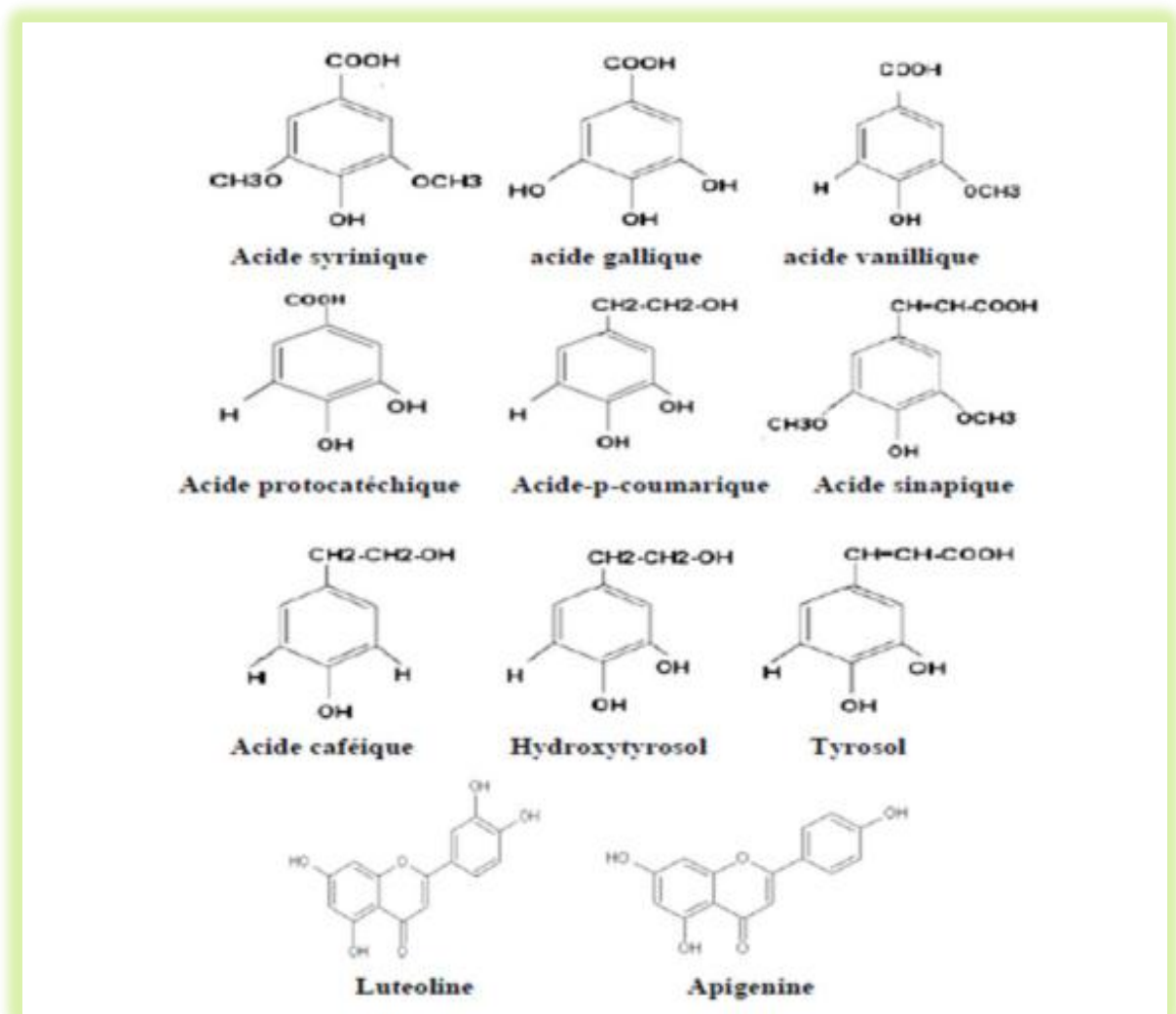
(Alais et Linden, 1997)

## 2.5. Les composés phénoliques

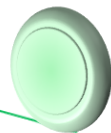
Dans l'huile d'olive, les composés phénoliques constituent 18 à 37% de la fraction insaponifiable, ils jouent un rôle très important dans leur caractérisation (Brenes, 1999 ; Alcázar *et al.*, 2014). L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité, modulent sa saveur et lui confère des propriétés antioxydantes (Brenes, 1999 ; Servili, 2013).

L'huile d'olive vierge est riche en composés phénoliques appartenant à diverses familles (phénols et hydroxyphénols, acides et alcools, sécoiridoïdes, lignanes, flavonoïdes,...), les polyphénols affectent fortement les propriétés sensorielles de l'huile d'olive vierge comme le goût amer et piquant typique et contribuent à sa stabilité par la lutte contre l'auto oxydation (Alu *et al.*, 2017).

La quantité de polyphénols dans l'huile d'olive vierge varie en fonction de plusieurs facteurs tels que la zone géographique, les conditions agro climatiques et le degré de maturité des fruits (Talhaoui *et al.*, 2016). La figure 13 montre la structure des principaux composés phénoliques présents dans l'huile d'olive.



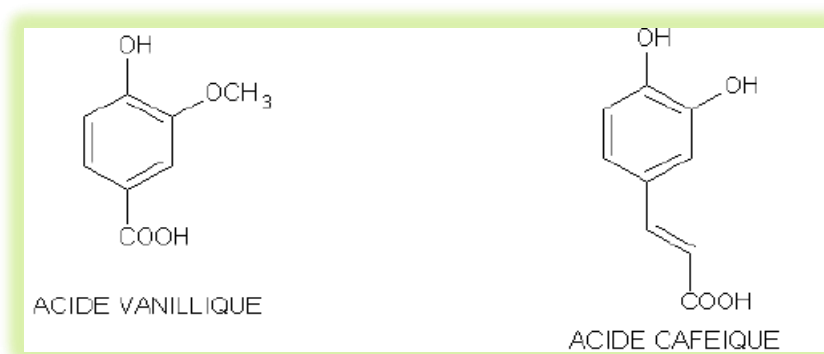
**Figure 13** : structure chimique des principaux composés phénoliques présents dans l'huile d'olive (Ollivier, 2003)



## 2.6. Les phénols simples

Sont représentés dans une première catégorie par l'hydroxytyrosol et le tyrosol (Manach, 2004 ; Alu *et al.*, 2017) qui sont des dérivés de l'hydrolyse de l'oleuropéine et du ligstroside et dans une deuxième par le groupe des acides phénoliques principalement l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique ( figure 14) ou encore l'acide vanillique (Kalogeropoulos *et al.*, 2015).

Les flavonoides, les lignanes , les hydroxy-isocromanes et les sécoiridoïdes sont également rencontrés dans l'huile d'olive extra vierge (Garcia Villalba *et al.*, 2010).



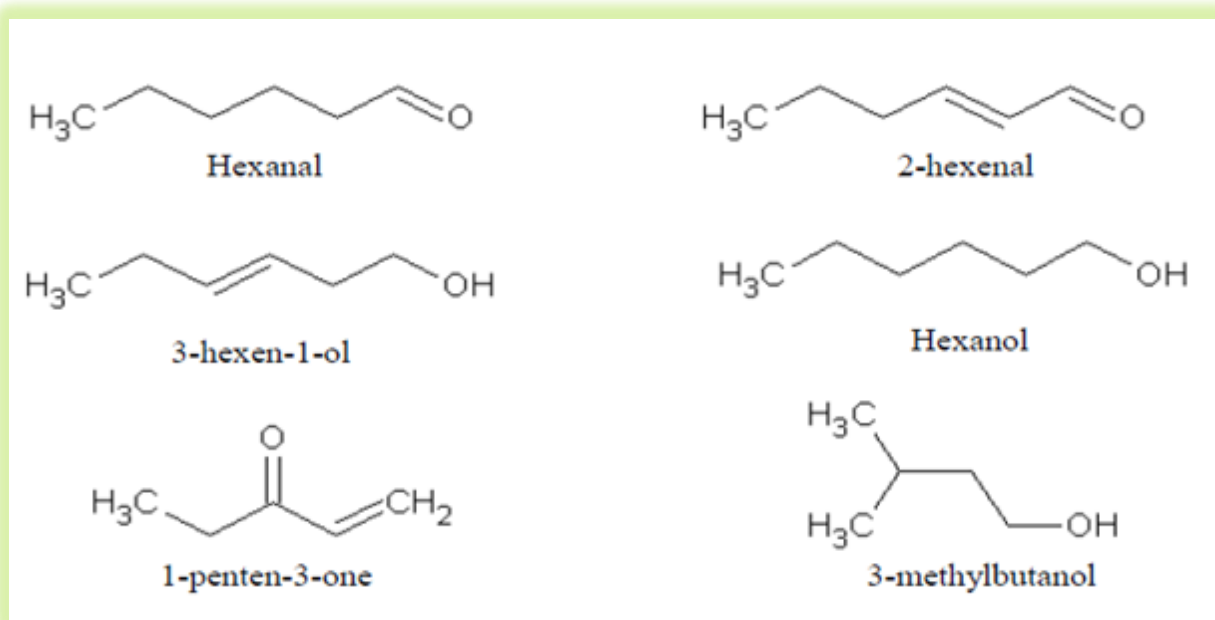
**Figure 14:** Structure de l'acide vanillique et l'acide caféique (Yang, 2007).

## 2.7. Les composés aromatiques

Si l'huile d'olive est intéressante d'un point de vue nutritionnel, elle est surtout appréciée pour son goût et ses arômes particuliers. Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) possédant une volatilité à température ambiante. L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez (Angerosa, 2004).

Ils sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras. D'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive vont dégrader les acides gras par des voies de lipoxygénases et ces produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olive (Mendoza *et al.*, 2013).

Plus de 70 molécules composent la fraction volatile des huiles d'olive. Elles sont réparties en aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures et cétones (Figure 15) et parmi eux se trouve l'hexanal, le trans-2-hexenal, l'hexan-1-ol et le 3-méthylbutan-1-ol (Kiritsakis, 1998; Angerosa, 2002).



**Figure 15:** Structure des principaux composés aromatiques présents dans l'huile d'olive (Sanchez et *al.*, 2002)

Aucune de ces molécules ne peut être à elle seule responsable d'un arôme caractéristique d'une huile, cependant des corrélations positives ou négatives ont été observées entre les concentrations de certaines molécules et le développement de certains attributs de l'huile. Ainsi le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation d'amer alors que le 3-hexen-1-ol et l'hexanal sont corrélés de façon négative avec l'amertume (Ollivier et *al.*, 2014).

De même, le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation de piquant tandis que le 2-hexenal et l'hexanal sont négativement corrélés avec cette sensation (Angerosa, 2004; Veillet, 2010).



## 2.8. Pigments

Les chlorophylles et les caroténoïdes sont les pigments les plus prépondérants dans l'huile d'olive dont leur concentration dépend des caractéristiques physico-chimiques du fruit, origine géographique, climat, conditions d'irrigation et du procédé mécanique d'extraction utilisées, les chlorophylles sont présentes sous forme de pheophytines, principalement la pheophytine a (où magnésium a été supprimé et remplacé par deux ions d'hydrogène) et confèrent à l'huile sa couleur verte caractéristique (Lazzerini *et al.*, 2016).

Ils sont des molécules photosensibilisatrices qui contribuent à la photooxydation de l'huile d'olive elle-même.

Si les Bêta-carotène et la lutéine sont les principaux caroténoïdes dans l'huile d'olive, plusieurs xanthophylles sont également présents avec des quantités allant jusqu'à 100 ppm, tels qu'anthéroxanthine, bêta-cryptoxanthine, luteoxanthine, mutatoxanthine, néoxanthine et violaxanthine. La couleur de l'huile d'olive est étroitement liée aux teintes vertes et jaunes de la chlorophylle et des caroténoïdes (Oueslati *et al.*, 2009).

La qualité et l'adultération de l'huile d'olive extra vierge sont parfois analysées par leur teneur en pigments car ils sont corrélés avec la valeur nutritionnelle, la fraîcheur et les propriétés antioxydantes de cette dernière (Tena, 2015).

La dégradation des chlorophylles se produit à la suite d'une réaction de pheophytinisation qui démarre de l'étape de malaxation lors de l'extraction de l'huile d'olive et augmente tout au long du temps de stockage (Aparicio-Ruiz *et al.*, 2014).

## IV. Caractéristiques de l'huile d'olive

Le Conseil international de l'huile d'olive, la Commission européenne et le Codex Alimentarius ont défini la qualité de l'huile d'olive sur plusieurs paramètres, tels que l'acidité libre, teneur en acides gras, valeur du peroxyde, Spectres d'absorption dans la région UV, les solvants halogénés, la présence de certains métaux, les attributs sensoriels, les impuretés insolubles, et même sa valeur nutritive qui est reliée directement avec sa teneur en acide oléique et en composants mineurs (Marco *et al.*, 2012 ; Conte *et al.*, 2020).

De manière générale, pour être catégorisée en huile d'olive vierge extra, une huile ne doit présenter aucun défaut organoleptique, une très faible acidité et un très faible état



d'oxydation. Ces caractéristiques assurent au consommateur l'achat d'un produit de qualité qui se conservera bien dans le temps (codex, 1981; Conte et *al.*, 2020).

## 1. Caractéristiques organoleptiques

L'huile d'olive vierge est l'un des produits agroalimentaires qui doit être soumis à une évaluation organoleptique en plus des analyses physico-chimiques (Ollivier, 2007).

L'analyse sensorielle est une discipline scientifique qui comprend des mesures à la fois qualitatives et quantitatives. Elle est utile pour étudier la durée de conservation, pour réaliser des coupages ou pour le contrôle des attributs et de la qualité.

### 1.1. Vocabulaire de l'analyse sensorielle

Les attributs sensoriels d'une huile d'olive ont été classés en deux catégories : les attributs positifs et les défauts (COI, 2015).

**1.1.1. Attributs positifs** : selon la norme du COI (2015), les attributs positifs de l'huile d'olive sont :

✚ **Amer** : gout caractéristique de l'huile obtenue d'olives vertes ou au stade de véraison (de maturation).

✚ **Fruité** : ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits sains et frais, verts ou mûrs perçus par voie directe ou rétro nasale. Le fruité vert correspond aux caractéristiques rappelant les fruits verts et le fruité mûr témoigne d'une récolte plus tardive des olives.

Les trois fruités de l'huile d'olive sont:

- ✓ **Le fruité noir** : arômes d'olive très mûre, de cacao et de vanille, goût prononcé et sans ardeur, gourmand.
- ✓ **Le fruité vert** : arômes d'artichaut cru et d'herbes fraîchement coupées. Goût vif, ardent, végétal avec une légère amertume.
- ✓ **Le fruité mûr** : arômes d'amande et de fleur, d'olive mûre, de pomme verte. Goût subtil et frais ; peu ardent.

✚ **Piquant** : sensation tactile de picotement, caractéristique des huiles produites au début de la campagne, principalement à partir d'olives encore vertes, pouvant être perçue dans toute la cavité buccale, en particulier dans la gorge.

Toute caractéristique autre que ces trois attributs sera perçue comme un défaut de l'huile.



### 1.1.2. Attributs négatifs

✚ **Grignons** : flaveur caractéristique des Grignons (résidus de pressage de pâte dans les scourtins).

✚ **Grossier** : la dégustation de l'huile provoque une sensation bucco-tactile dense et pâteuse.

✚ **Herbacé** : flaveur rappelant l'herbe fraîchement coupée.

✚ **Lubrifiant** : odeur d'une huile extraite par du matériel n'ayant pas fait l'objet d'un nettoyage minutieux et approprié des résidus.

✚ **Margine** : flaveur communiquée par une mauvaise décantation, à l'occasion d'un contact prolongé de l'huile avec les eaux de végétation.

✚ **Métallique** : flaveur de métal communiquée au cours d'un mauvais processus de broyage, malaxage, pressage ou stockage dans lequel l'huile est restée trop longtemps au contact de surfaces métalliques.

✚ **Plat ou éteint** : perte des constituants organoleptiques, ne permettant pas leur expression.

✚ **Moisi-humide** : les olives ont été stockées plusieurs jours dans un endroit humide, favorisant ainsi l'attaque par des levures et des moisissures, donnant à l'huile une flaveur caractéristique.

✚ **Rance** : flaveur désagréable et irréversible de toutes matières grasses ayant subi un phénomène chimique d'auto-oxydation découlant d'une exposition prolongée à l'air.

✚ **Saumure** : flaveur d'une huile obtenue à partir du pressage d'olives conservées en solution saline.

✚ **Savonneux** : flaveur donnant une sensation olfacto-gustative rappelant le savon vert.

✚ **Scourtins** : flaveur d'une huile obtenue par pressage des olives dans des scourtins comportant des résidus fermentés de pâte.

✚ **Sparte** : flaveur d'une huile obtenue à partir de pressage dans des scourtins de sparte neufs, donnant selon le cas, une flaveur scourtin de sparte vert ou de sparte sec.

✚ **Terre** : flaveur d'une huile obtenue à partir d'olives ramassées à terre, non lavées, terreuses ou boueuses. Peut-être dans certains cas aromatisé au goût de moisi.

✚ **Ver** : flaveur d'une huile obtenue à partir d'olives ayant subi, comme la nomenclature l'indique, une forte attaque de mouches de l'olive.

✚ **Vieux ou renfermé** : flaveur découlant d'un stockage ou conditionnement prolongé.



✚ **Vineux-Vinaigré** : flaveur rappelant celle du vin ou du vinaigre, due à une formation, en quantité anormale d'acide acétique, d'acétate d'éthyle et éthanols.

La commission du Codex Alimentarius (1981) a également établi des limites maximales de résidu pour ce qui concerne les pesticides dans l'huile.

## 2. Caractéristiques physique

L'huile d'olive se caractérise selon (Khallouki *et al.*, 2003) par:

- Point de fumée de: 210 °C contre 180 °C pour la température normale de friture.
- Densité de: 0,92 (1 litre d'huile d'olive pèse env. 920g).
- Apport calorique de: 9 kcal par gramme.
- Point d'éclair: 225°C.
- Point de trouble: Entre 5°C et 10°C.
- Point de fusion: -6°C.
- Point d'auto inflammation: 343°C.
- Point d'ébullition: 300°C.
- Viscosité (à 20°C): 84 CP (centipoise).
- Teneur en eau et en matière volatile: 0.3%.

## 3. Caractéristiques chimiques

La caractérisation chimique de l'huile d'olive est en relation directe avec la détermination d'un certains nombres d'indices dont les plus importants sont:

### 3.1. Acidité

L'acidité est l'une des caractéristiques chimiques de l'huile d'olive qui sert à indiquer le niveau qualitatif d'une huile et à déterminer sa catégorie. Elle ne se perçoit jamais directement par un goût acide, mais par d'autres attributs organoleptiques.

Elle est la teneur de l'huile d'olive en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides en acide oléique (Codex STAN, 1981) et elle est exprimée conventionnellement en grammes d'acide oléique libre pour 100 grammes d'huile (AFIDOL, 2018).



### **3.2. Indice d'acide**

Correspond au nombre de milligrammes de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres dans un gramme de corps gras (CE, 2003).

### **3.3. Indice de saponification**

C'est la quantité de potasse exprimée en mg nécessaire pour transformer en savons les acides gras libres liés contenus dans 1g de corps gras (Codex STAN, 1981).

### **3.4. Indice d'Iode**

C'est le nombre de grammes d'Iode fixés par 100 g de corps gras (Codex STAN, 1981).

### **3.5. Extinction spécifique**

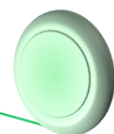
La détermination des coefficients d'extinction spécifiques dans l'ultraviolet pour une solution d'huile à 1 % apparaît comme un des plus sûrs moyens de caractériser l'état d'oxydation de l'huile d'olive.

Les hydro peroxydes peuvent être appréciés par leur absorption spectrophotométrique dans la zone UV aux environs de 232 nm (Kiritsakis et *al.*, 2002). Ces peroxydes évoluent avec le temps et donnent lieu à la formation de produits divers tels les cétones insaturées et les dicétones qui absorbent dans la zone UV vers 270 nm. Le degré et le stade d'oxydation d'une huile peuvent donc être évalués par des coefficients d'absorption de la lumière dans l'ultraviolet appelés absorbances spécifiques K232 et K270 (Boskou, 1996).

Le raffinage des huiles d'olive provoque, par migration des doubles liaisons le long de la chaîne grasse, la formation de systèmes conjugués (triènes conjugués) qui absorbent également à la longueur d'onde de 270 nm. Les systèmes conjugués ont, cependant, un spectre UV qui comporte, en plus de la bande d'absorption à 270 nm, deux autres bandes d'absorption situées respectivement à 266 et à 274 nm ; ces dernières sont utilisées pour distinguer l'absorption due aux produits d'oxydation de celle due aux systèmes conjugués.

### **3.6. Indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans 1 kilogramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode et titration de celui-ci par le thiosulfate de sodium; ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation des huiles (CE, 2003).



Il convient bien pour suivre les premiers stades de l'oxydation des lipides de quantifier à un moment donné, la quantité des peroxydes présents dans l'huile. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains pro-oxydants (température élevée, lumière, enzyme, ions métalliques...). Cette auto-oxydation conduit dans un premier temps à la formation de peroxydes (ou hydroperoxydes) qui se décomposent ultérieurement en dérivés carbonylés aldéhydes et hydrocétones (responsables de l'odeur de rance) et en divers produits oxygénés (alcools, acides...) (Tanouti et *al.*, 2010 ; Tanouti et *al.*, 2011 ).

Le tableau 5 représente les caractéristiques des différentes classes de l'huile d'olive

**Tableau 5:** Données chimiques de classification des huiles (Codex Alimentarius, 1989; FAO, 2001 ; COI, 2017).

	vierge extra	Vierge	Vierge ordinaire	Raffinée	Huile d'olive	H. grignon d'olive raffinée	H. grignon d'olive
<b>Acidité</b>	< 1	< 2	< 3,3	< 0,3	< 1,5	< 1,5	< 1,5
<b>Indice de peroxyde (meqO<sub>2</sub>/kg)</b>	< 20	< 20	< 20	< 5	< 15	< 5	< 15
<b>Extinction spécifique à 270 nm</b>	< 0,25	< 0,3	< 0,3	< 1,1	< 0,9	2,0	< 1,7
<b>Acides gras saturé en position 2 (%)</b>	< 2,0	< 2,2	< 1,5	< 1,8	-	1,7	-
<b>Indice de saponification (mg KOH/g)</b>	-	184 -196	-	184 -196	-	182- 193	-
<b>Indice d'iode (Wijs)</b>	-	75-94	-	75-94	-	75-92	-
<b>Insaponifiable</b>	-	< 15g/kg	-	< 15g/kg	-	< 25g/kg	-

#### 4. Caractéristiques microbiologiques

L'activité de l'eau du milieu constitue un facteur de croissance très important. Il en est de même pour le pH du milieu qui contrôle le développement microbien: à pH inférieur à 4,5, les microorganismes pathogènes pour l'homme sont habituellement incapables de se multiplier.



Les bactéries, les levures et les moisissures sont incapables de se multiplier dans un produit qui ne contient pas d'eau, autrement dit, une huile convenablement séchée (phase de séparation huile-eau bien effectuée) ne pose donc pas de problèmes d'ordre microbiologique. Elle peut éventuellement transporter quelques rares microorganismes inertes, comme des spores de *Bacillus*.

##### **5. Facteurs conditionnant les caractéristiques de l'huile d'olive**

La production oléicole est influencée par l'interaction de facteurs climatiques, génétiques et agronomiques. Les facteurs agronomiques comme la température et les précipitations, ont une influence sur le comportement physiologique de la plante et par conséquent, sur la qualité de l'huile produite. Les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive résultent donc de l'action concomitante des facteurs agronomiques et des facteurs technologiques employés au cours du processus d'élaboration de l'huile (Ryan et *al.*, 1998).

L'influence de quelques facteurs sur la qualité finale de l'huile d'olive est récapitulée dans le tableau 6



## VII. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive

### 1. Effet des composés phénolique de l'huile d'olive sur le système immunitaire

Gessica *et al.*(2017) ont étudié la capacité des polyphénols de l'huile d'olive extra vierge à contrecarrer les effets pro-inflammatoires induits par les oxystérols alimentaires et endogènes dans les cellules immunitaires *ex vivo*, les résultats trouvés suggèrent que les polyphénols de l'huile d'olive extra vierge modulent la réponse immunitaire induite par les produits d'oxydation du cholestérol alimentaire et endogène dans les cellules immunitaires humaines et peuvent avoir un intérêt dans le contrôle des processus immunitaires et / ou inflammatoires chroniques comme ils préviennent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires induites par l'oxysterol et la production d'espèces réactives de l'oxygène dans les cellules mononucléaires du sang périphérique humain, par la modulation des voies p38 et JNK.

### 2. Effet antitoxicité et antitumorale

Tagliafierro *et al.* (2015) ; Toledo *et al.* (2015) ont étudié les effets protecteurs possibles de l'hydroxytyrosol (HT) sur les altérations oxydatives et morphologiques induites par le mercure (Hg) dans les érythrocytes humains intacts. Les résultats trouvés indiquent que le traitement HT (10-50  $\mu\text{M}$ ) empêche l'augmentation de l'hémolyse et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) induites par l'exposition des cellules aux concentrations micromolaires de  $\text{HgCl}_2$ , ainsi que la diminution des taux intracellulaires de GSH. De plus, comme indiqué par la microscopie électronique à balayage, les modifications morphologiques sont également significativement réduites par le co-traitement HT.

Traditionnellement, une incidence plus faible des cancers (sein, colorectal, l'endomètre et la prostate) a été observé dans les pays méditerranéens, par rapport aux États unis ou autres pays Européens (Trichopoulou *et al.*,2000 ; Hernáez *et al.*, 2017). Les activités antitumorales et anticancéreuses de l'huile d'olive extra vierge ont été largement étudiés et mis en évidence à la fois *in vitro* avec des cultures cellulaires et *in vivo* avec des modèles animaux, des études et des essais cliniques (Roboredo-Rodriguez *et al.*,2018 ; Vanden Brandt *et al.*, 2019) suggèrent que la consommation d'huile d'olive est inversement associée au risque de développement du cancer (probabilité de cancer 34% plus faible pour une consommation élevée d'huile d'olive) surtout du sein et digestifs. Paradoxalement, Nanda *et al.* (2019) ont



suggéré que les composés phénoliques de l'huile d'olive extra vierge réduit avec 14% l'incidence des tumeurs colorectales.

### **3.. Modulation de la réponse inflammatoire**

L'inflammation récurrente ou chronique est un facteur étiologique principal de plusieurs pathologies non-transmissibles, dont la prévalence augmente rapidement. Ainsi, les effets anti-inflammatoires de l'huile d'olive extra vierge ont attiré l'attention et ont donc été largement évalués (Santangelo et *al.*, 2018 ; Schwingshack et *al.*, 2015 ; Fernandes et *al.*, 2020 ).

Dans ce contexte, Muto et *al.* (2015) ont élucidé que les cellules épithéliales intestinales représentent une cible directe de l'action des phénols de l'huile d'olive où ils régulent l'expression de l'IL-8 par des mécanismes transcriptionnels et post-transcriptionnels et diminuent les taux d'IL-6, du facteur de nécrose tumorale (TNF $\alpha$ ) et du CRP , ces effets bénéfiques ont été montrés après une consommation régulière de plus de 3 mois de l'huile d'olive par des groupes de patients atteints du diabète sucré de type 2.

De même, Rosignoli et *al.* (2013), Camargo et *al.*(2014) ont mis l'accent sur l'activité modulatrice de la réponse inflammatoire postprandiale de l'huile d'olive enrichi en composés phénoliques chez les patients atteints du syndrome métabolique,

L'huile d'olive extra vierge réduit également l'inflammation dans les maladies inflammatoires de l'intestin, y compris la colite ulcéreuse et la maladie de Crohn , étant toutes deux liées à une inflammation chronique de la muqueuse intestinale ( Limketkai et *al.*, 2018).

Les effets bénéfiques de la consommation de l'huile d'olive extra vierge ont été évalués dans d'autres maladies inflammatoires auto-immunes et chroniques comme la polyarthrite rhumatoïde (Rosillo, 2016), le lupus érythémateux disséminé (Apariciosoto et *al.*, 2017) ou la sclérose en plaques (Anggraini et *al.*, 2018 ; Klimova et *al.*, 2019 ; Roman et *al.*, 2019) avec des résultats prometteurs dans les modèles animaux .

### **4. Modulation positive du microbiote intestinal**

Une grande partie des bienfaits de l'huile d'olive est attribuée au métabolisme des composés phénoliques réalisés par le microbiote intestinal (Romani et *al.*, 2019) où 90 à 95% de ces composés n'est pas absorbés dans l'intestin grêle; par conséquent, ils restent dans la



lumière intestinale où ils sont soumis aux activités métaboliques du microbiote intestinal qui les convertis en composés de bas poids moléculaire (Ozidal et *al.*, 2016 ; Lin et *al.*, 2019).

Les composés phénoliques de l'huile d'olive exercent donc une action prébiotique et sont capables de moduler et d'améliorer les populations microbiennes intestinales d'où Moorthy (2020) a remarqué que la consommation de l'huile d'olive enrichis en composés phénolique augmente la présence de *Bifidobacterium spp* dans les excréments.

Martin Pelaez et *al.* (2017) ; Borzi et *al.*(2019) constatent que l'effet cardioprotecteur des composés phénoliques pourrait être médié par les populations de *Bifidobactéries* présentes dans le microbiote intestinal; tandis que Mokka et *al.*(2020) ont suggéré que la modulation possible de ce microbiote par l'huile d'olive prévient plusieurs cancers, en particulier le cancer colorectal.

## 5. Activité antioxydante

Les agents antioxydants dans l'huile d'olive sont très diversifiés et sont présentés principalement par: la vitamine E (alpha-tocophérol), les caroténoïdes et les composés phénoliques (les phénols simples comme l'hydroxytyrosol et les phénols complexes comme l'oleuropéine) dont l'activité antioxydante a été vérifiée *in vitro* et *in vivo* (Servili et *al.*, 2009 ; Harnaiez et *al.*, 2017 ; Nithya et *al.*, 2017).

Cette richesse en antioxydants est due probablement au fait que l'olive, qui est un fruit exposé à l'air, est obligée de se défendre de l'oxygène et doit par conséquent synthétiser une plus grande quantité de substances antioxydantes, que l'on retrouve par la suite dans l'huile dont elle est extraite.

L'huile d'olive n'exerce pas seulement un effet positif protecteur face à l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui, lorsqu'elles sont oxydées, sont athérogéniques, mais elle renforce également d'autres cellules de l'organisme de lutter contre l'action toxique des oxydants (Khallouki et *al.*, 2003 ; Romani et *al.*, 2019).

La fraction phénolique de l'huile d'olive extra vierge (EVOO) se concentre avant l'absorption dans la lumière intestinale, où elle peut contribuer à la modulation de la réponse des entérocytes aux stimuli oxydatifs et inflammatoires.



Gessica *et al.* (2016) ont évalué la capacité de deux extraits phénoliques obtenus à partir de deux types d'huile d'olives extra vierges monovariétales typiques répandues en Sardaigne et ont trouvé que ces extraits phénoliques ont atténué significativement les modifications oxydatives.

Dans un même contexte, Lama *et al.* (2017) ont prouvé que l'huile d'olive vierge riche en polyphénols limite l'insulino résistance induite par un régime riche en graisse, l'inflammation et le stress hépatique, comme ils ont lancé qu'elle réduit l'activité de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'activité aconitase en diminuant le degré de couplage, qui joue un rôle majeur dans le contrôle de l'émission mitochondriale des espèces oxygénées.

Paradoxalement, Hernaez *et al.* (2015); Hohmann (2015) et Lopez Biedma (2016) ont démontré la réduction des dommages oxydatifs lipidiques due aux LDL, ce qui améliore les fonctions athéroprotectrices. Il est à noter également que La FFSA préconise la prise de 5 mg/jours de composés phénoliques de l'huile d'olive afin d'atténuer l'oxydation des LDL.

### **5. Effet antimicrobien de l'huile d'olive**

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et de l'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

Turkmen et son équipe (2007) attribuent aux hydroxytyrosol, tyrosol et à l'oleuropéine de puissantes propriétés antimicrobiennes. Ces composés agiraient sur certaines bactéries responsables de maladies infectieuses, intestinales et respiratoires chez l'homme, notamment *Hemophilus influenzae*, *Moraxwlla catarrhalis*, *salmonella typhi*, *Vibrio alginolyticus*, *vibreo cholerae* et *staphylococcus aureus*.

Il est à noter que l'hydroxytyrosol, le pinorésinol et l'oleuropéine de l'huile d'olive extra vierge possèdent une capacité antimicrobienne. Le pinorésinol a montré une activité antifongique contre plusieurs champignons pathogènes tels que *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* et *Candida albicans* (Lopez- Biedma *et al.*, 2016) tandis que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol sont révélés efficaces contre les champignons, plusieurs souches de bactéries pathogènes pour l'homme et même les virus, y compris le virus de



l'immunodéficience humaine (VIH) et les parasites (Gorzynik-Debika et *al.*, 2018 ; Bertelli et *al.*, 2020).

Dans ce cadre, Joaquin *et al.* (2002) ont montré le pouvoir bactéricide de l'huile d'olive contre les bactéries nuisibles de la flore intestinale (*Clostridium perfringens* et *Escherichia coli*) par rapport à d'autres huiles végétales (tournesol, colza, soja, maïs...). Ils ont rapporté aussi que les bactéries pathogènes d'origine alimentaire (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Yersinia sp.*, *Shigellasonnei*) ne survivaient pas après une heure d'incubation dans l'huile d'olive.

### **6. Autres activités biologiques de l'huile d'olive**

L'examen approfondi de De pablos et *al.* (2019) a mis en évidence les propriétés anti-âge de l'hydroxytyrosol, suggérant qu'il peut contribuer à la régulation correcte des mécanismes responsables du maintien de l'homéostasie cellulaire dont leur déséquilibre est une caractéristique du vieillissement. De plus, ce composé phénolique module le métabolisme du tissu adipeux en stimulant la biosynthèse mitochondriale *in vitro* (Corzynik-Debicka et *al.*, 2018).

La consommation de l'huile d'olive extra vierge a été associée à l'amélioration de la circulation sanguine en réduisant l'agrégation plaquettaire et en diminuant les taux de facteur de coagulation. Elle améliore l'apprentissage et le mémoire, en inversant les dommages oxydatifs dans le cerveau associés au vieillissement et aux maladies liées à la production de protéine amyloïde (Yubero –Serrano et *al.*, 2019).





## Chapitre II : Matériel et méthodes

L'ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire Bio-Ressources Naturelle Locale de la faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Hassiba Benbouali, Chlef et le laboratoire de la répression des fraudes de la wilaya de Chlef.

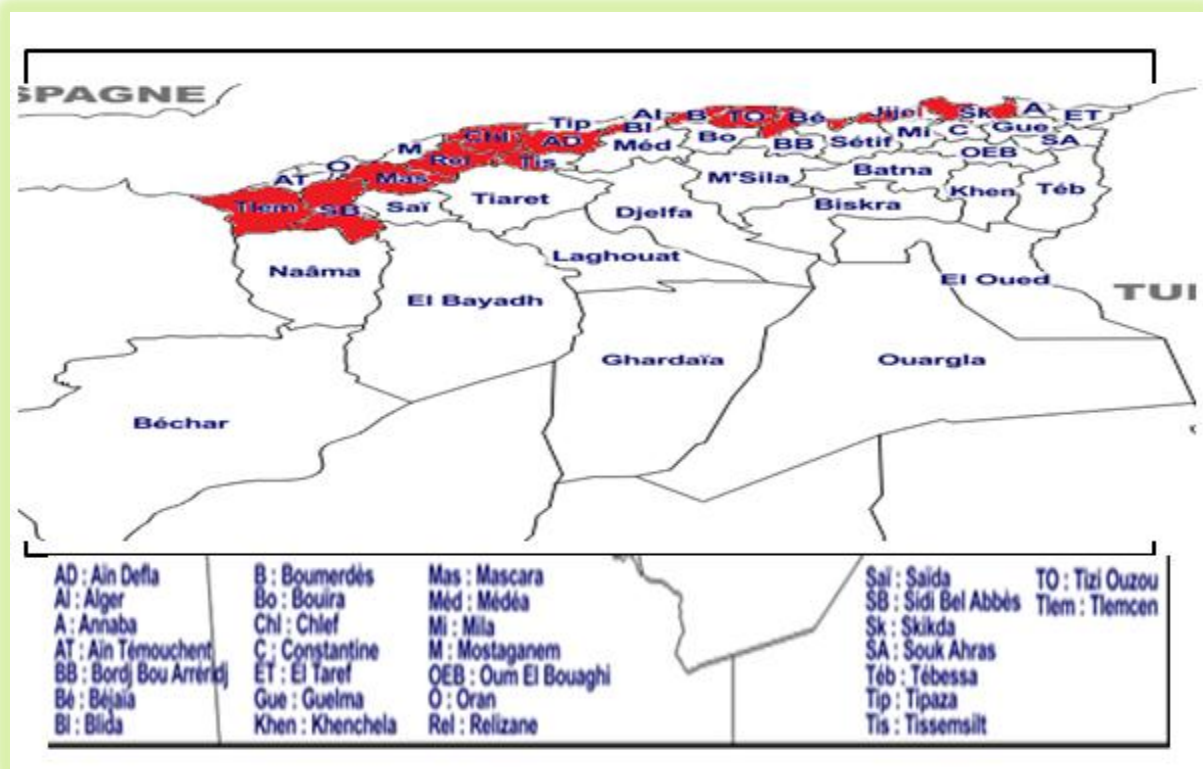
Notre travail est divisé en quatre parties :

- Détermination des critères de pureté et de qualité de treize échantillons d'huile d'olive à travers une caractérisation organoleptique, physico-chimique et microbiologique;
- Evaluation des teneurs de quelques constituants de la fraction insaponifiable des huiles ;
- Etudier des activités antioxydantes de ces constituants ;
- Détermination des activités antibactériennes de ces constituants.

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel végétal : huile d'olive

Cette étude a porté sur treize échantillons d'huile d'olive d'origine algérienne collectés, durant la campagne oléicole 2016/2017, directement à partir de plusieurs unités de trituration situées dans les zones les plus prépondérantes dans la production oléicole en Algérie (figure 16).



**Figure 16 :** Carte topographique des différentes zones d'étude

Google Map (<https://maps.google.com/maps/ms?ie=UTF8&hl=fr&msa=0&msid=217607640>)

Ces unités sont équipées de système de trituration à trois phases, elles font l'extraction de l'huile par pression sans aucune addition ni soustraction d'un mélange de variétés d'olives.

Les échantillons d'huile d'olives ont été préservés dans des bouteilles de verre foncé propres et sèches d'un volume minimal de 250 ml et frigorifiés selon les méthodes standards d'AFNOR afin d'éviter le phénomène d'auto-oxydation qui dépend de plusieurs facteurs, entre autres, le degré d'insaturation de l'huile, les acides gras libres, la présence de traces métalliques et d'eau, l'emballage utilisé, la température ambiante, l'oxygène de l'atmosphère et l'exposition à la lumière du jour pour les emballages transparents.

Les différentes zones de prélèvement avec leurs caractéristiques climatiques, géographiques et mêmes les variétés d'olives utilisées sont indiquées dans le tableau 7.



**Tableau 7** : Les caractéristiques géographiques, climatiques et les variétés d'olives utilisées dans les zones de prélèvement (ONFAA, 2016)

Zone de prélèvements	Variétés utilisés dans la production de l'huile	Caractéristiques géographiques	Caractéristiques climatologiques
Skikda	Chemlal et Azeradje	36° 52' 00" Nord et 6° 54' 00" Est.	Humidité élevée
Blida	soumam,rougette de Metidja et chemlal	36° 29' 00" nord, 2° 50' 00" est	climat méditerranéen propice à l'agriculture
Mascara	Sigoise, chemlal	35° 23' 00" nord, 0° 09' 00" est nord ouest de l'Algérie	chaud et tempéré
Sidi bel abbés	Bouricha, Chemlal	35° 11' 38" nord, 0° 38' 29" ouest	chaud et tempéré
Boumerdes	Hamra et Bouricha, chemlal	36° 46' 00" N, 3° 29' 00" E wilaya côtière du centre du pays	chaud et tempéré
Tlemcen	Chemlal, Azredje	34° 53' 00" N, 1° 19' 00" O extrémité nord-ouest du pays	type méditerranéen, est caractérisé par deux saison : -Une saison humide et sèche
Ain defla	Blanquette de Guelma et Chemlal	36° 19' 00" N, 2° 10' 00" E centre de l'Algérie	méditerranéen semi-aride, avec un caractère de continentalité très marqué
Relizane		35° 44' 00" nord, 0° 33' 00" nord-ouest du pays	le climat est continental, très chaud en été, doux en hiver.
Bedjia	Tabelout et Azeradj	36° 45' 00" nord, 5° 04' 00" est l'est de la capitale Algerié	climat méditerranéen. Il est généralement humide avec un léger changement de température saisonnier
Chlef	Bouricha , Blanquette de Guelma et Chemlal	36° 10' 00" N, 1° 20' 00" E nord-ouest	climat méditerranéen sub-humide dans la partie Nord et un climat continental au Sud, froid en hiver et chaud en été
Jijel	Hamra, Azeradj	36° 49' 00" nord, 5° 46' 00" est nord-est de l'Algérie	climat tempéré et humide avec un hiver doux caractéristique des zones méditerranéennes et une pluviométrie importante,
Tissemsilt	Sigoise , chemlal et azradje	35° 36' 00" N, 1° 49' 00" E centre du pays dans la région des hauts plateaux	climat continental sec est froid en hiver et chaud en été
Tizi ouzou	Azeradje et Agrarez	36° 43' 00" nord, 4° 03' 00" est l'est de la capitale	climat méditerranéen

## 1.2. Matériel biologique

L'activité antimicrobienne des extraits phénoliques des treize échantillons d'huile d'olive a été étudiée vis-à-vis de huit souches bactériennes choisies pour leur fréquence élevée à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité stricte ou opportuniste.



Les souches proviennent de l'institut Pasteur d'Alger. Le tableau 8 indique leur nom, leur pathogénicité et leurs conditions de croissance.

**Tableau 08** : Souches utilisés dans l'expérimentation

Souche	Nature et condition de croissance	Pathogénicité (Guiraud, 2013)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC2420	Gram positif	Infections cutanées, pneumopathies, infections neuro-méningées, toxi-infection alimentaire
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC1255	Gram positif	/
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	Gram positif	Toxi infection alimentaire
<i>Escherichia coli</i> O157	Gram négatif	Gastro-entérites, infections urinaires, méningites, septicémies
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 25922	Gram négatif	Fécale
<i>Salmonella arizonae</i> ATCC2654	Gram négatif	Toxi infection alimentaire
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 1547	Gram négatif	Pneumonies nosocomiales, septicémies, infections urinaires, infections hépatiques, péritonite, cholécystite aiguë.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27854	Gram négatif	Pneumonie nosocomiale, Infections urinaires et vaginales Inflammation de la cornée

## 2. Produits, réactifs et milieux de culture

Les principaux réactifs utilisés dans notre étude sont :

### 2.1. Produits chimiques

Le cyclohexane, l'acide acétique, l'iodure de potassium, réactif de Wijis, Carbonate de sodium, Chlorure d'aluminium, Chlorure d'hydrogène, Hydroxyde de potassium, Acétate de sodium, Hydroxyde de sodium, BHT, Tween 20,  $\beta$ -carotène, Thiosulfate de sodium, réactif



de Folin-Ciocalteu, Ethanol, Acétonitrile, Hexane : ces réactifs ont été fournis par Sigma aldrich. Le chloroforme, l'acide acétique glacial (Schorlau) et l'acide linoléique (Fluka).

## 2.2. Réactifs

L'empois d'amidon, la phénolphtaléine, le méthanol ont été fournis par Biochen chemopharma.

## 3. Appareillage

Les principaux appareils utilisés dans cette expérimentation sont :

Rotavapeur (Buchi R-215), Etuve (WT-binder), Spectrophotomètre (Optizen 2021UV), Bain marie (Buchi B-491), Agitateur (Wisestir MSH-20D), Balance de précision (OHANS), Incubateur (Mettler), Chauffe ballon (Nahita Model 655), Vortex (VWR-VV3), Centrifugeuse (Hettich), PH mètre (HANNA pH 211), appareil à CPG de marque HEWLETT PACKARD HP 5890 Séries II, Spectrophotomètre, Réfractomètre .

## II. Méthodes

### **Partie I : Caractérisation organoleptique, physico-chimique et microbiologiques des échantillons d'huile d'olive**

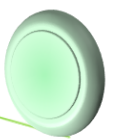
#### **1. Caractérisation organoleptique**

Afin d'établir le profil sensoriel de nos échantillons, nous avons effectué une dégustation selon les conditions du COI (2015) dont l'objectif est de classer les huiles d'olive selon l'intensité des défauts et du fruité.

##### **1.1. Caractérisation spécialisée**

Nous avons procédé à l'évaluation de la qualité organoleptique des huiles, objet de l'étude, à l'aide d'un panel de dégustation composé de quatre enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Hassiba Ben Bouali, Chlef et quatre ingénieurs de laboratoire de la répression des fraudes de la wilaya de Chlef. Les personnes choisies ont l'habitude à déguster l'huile d'olive et à participer dans des congrès et compétitions nationaux et internationaux de dégustation.

Les séances de dégustation ont été prolongées sur trois jours vu le nombre important d'échantillons, elles ont été réalisées au laboratoire d'analyse sensorielle dans des cabinets

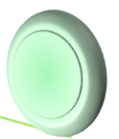


individuels par le biais du matériel nécessaire à la dégustation (verres ballon en couleur marron, chauffe-plat) pour maintenir l'huile à  $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant la durée d'une séance.

Les échantillons sont présentés dans des verres foncés qui cachent la couleur de l'huile.

La méthode de dégustation préconise les étapes suivantes :

- \* Le verre doit être maintenu légèrement incliné couvert avec la main ;
- \* Tourner le verre afin de mouiller le plus possible la surface intérieure ;
- \* Flairez l'échantillon par des inspirations lentes et profondes (la durée ne doit pas excéder 30 secondes).
- \* Procéder à l'évaluation de la flaveur (ensemble des sensations olfacto-gustatives et tactiles) ;
- \* Prendre une petite gorgée et la distribuer sur toute la cavité buccale (partie antérieure, latérale et enfin postérieure sans avaler).
- \* Des opérations brèves et successives en faisant pénétrer l'air par la bouche permettent de répandre l'échantillon sur toute la cavité buccale et de percevoir par voie rétro-nasale les composés aromatiques volatiles.
- \* utiliser la feuille de dégustation représentée dans la figure 17.



**FEUILLE DE PROFIL DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE**

**INTENSITÉ DE PERCEPTION DES DÉFAUTS :**

Chômé/lies |-----▶

Moisi-humidité-terre |-----▶

Vineux - Vinaigré -  
Acide - Aigre |-----▶

Métallique |-----▶

Rance |-----▶

**INTENSITÉ DE PERCEPTION DES ATTRIBUTS POSITIFS :**

Fruité |-----▶

vert       mûr

Amer |-----▶

Piquant |-----▶

**Nom du dégustateur :**

**Code de l'échantillon :**

**Date :**

**Observations :**

**Figure 17 :** fiche de dégustation (COI, 2015)



Ensuite, pour le classement des huiles, nous procédons au calcul de la médiane (Me) qui les classe comme suit :

- **Huile d'olive vierge extra** : médiane des défauts = 0  
Médiane du fruité >0
- **Huile d'olive vierge** : médiane des défauts > 0 et <3,5  
Médiane du fruité > 0
- **Huile d'olive vierge courante** : médiane des défauts >3,5 < 6,5  
Ou médiane du fruité > 0 et médiane des défauts < 3,5
- **Huile d'olive vierge lampante** : médiane des défauts > 6,5

## 1.2. Dégustation par des tests hédonique

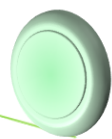
Ce test évalue la qualité gustative des huiles avec mesure du niveau d'appréciation des caractéristiques organoleptiques des treize échantillons d'huile d'olive par un panel de dégustateurs naïfs non qualifiés. Il comporte des personnes de toutes les classes d'âge et de tous les niveaux sociaux représentatifs d'une population consommatrice potentielle. Notre panel de dégustateurs est constitué de 250 personnes, dont l'âge est compris entre 18 à 80 ans (160 hommes et 90 femmes), qui sont des consommateurs potentiels d'huile d'olive, d'origines diverses.

Les séances de dégustation se sont déroulées pendant trois jours consécutifs par les mêmes personnes. Après avoir bien expliqué le contenu du questionnaire ( figure en annexe 1) et le sens de tous les critères sur lesquels notre étude est fondée, les sujets sont invités à flairer puis à goûter les échantillons en dégustant une tranche de pomme entre chaque dégustation pour pouvoir éliminer le goût de l'échantillon précédent, tout en rapportant leurs appréciations sur le questionnaire qui leur est présenté.

## 2. Caractérisation physico chimique

### 2.1. Densité

Le principe est basé sur la mesure de la masse à 20°C, d'un volume d'huile d'olive contenu dans un pycnomètre gradué de 0,9 à 1 préalablement étalonné à la même température



par rapport à l'eau (ISO 6883,1987 et UIPA 2.102 (7<sup>ème</sup> édition). La valeur de la densité est donnée par la formule:

$$D_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

$m_0$ : Masse en gramme du pycnomètre vide.

$m_1$ : Masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau.

$m_2$ : Masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile.

## 2.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et sa vitesse dans la substance. En pratique, la vitesse de la lumière dans l'air est utilisée à la place de celle dans le vide et la longueur d'onde choisie est celle de la moyenne des raies D du sodium (589,6 nm). L'indice de réfraction d'une substance donnée varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente et avec la température. Les mesures sont effectuées avec un réfractomètre, la température est fixée à 20°C.

La méthode suivie pour la détermination de cet indice est celle décrite par la norme ISO6320 (2006) révisée en 2017 identique à celle d'UIPA 2.102 (7<sup>ème</sup> édition) avec un réfractomètre réglé à 20°C, elle préconise le passage par les étapes suivantes:

- Régler la température de l'appareil à 20°C;
- déposer 2 à 3 gouttes d'huile entre les prismes du réfractomètre;
- l'appareil étant étalonné au préalable avec l'eau distillée;
- l'indice de réfraction est déterminé par la lecture directe.

## 2.3. Détermination de la couleur

La détermination de la couleur de l'huile est basée sur l'absorbance de celle-ci, dans le domaine du visible, selon la norme AFNOR (1993).

Les Lectures se font à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible dans les longueurs d'ondes 460nm, 550nm, 620nm et 670nm. Ensuite la valeur de la couleur est calculée par la formule ci-dessous, proposée par AFNOR (1993), après l'obtention des densités optiques dans les longueurs suscitées.

$$\text{Couleur} = 1,29 A_{460} + 69,7 A_{550} + 41,2 A_{620} + 56,4 A_{670}$$



## 2.4. Extinction spécifique

L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse, sur son état de conservation et sur les modifications dues aux processus technologiques (CEE, 1991). En effet, l'extinction spécifique d'une huile est une image de son état d'oxydation, plus son extinction à 232 nm est élevée, plus elle est oxydée par la présence d'hydroperoxyde.

De même, plus l'extinction à 270 nm est forte, plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation qui traduit ainsi sa faible aptitude à la conservation (Wolff, 1968).

Elle est déterminée d'après l'EEC Régulation N° 2586 (1991) par la lecture de l'absorbance d'une solution de 0,1 g de l'huile dissoute dans 10 ml de cyclohexane. Cette absorbance est mesurée dans une cuve en quartz par rapport à celle du solvant utilisé (avec le cyclohexane comme référence) à l'aide d'un spectrophotomètre U.V / Visible équipé d'une fibre optique d'1 cm d'épaisseur. La lecture se fait à une longueur d'onde de 232 nm et 270 nm. Les extinctions spécifiques à ces deux longueurs d'onde sont par la suite calculées selon la formule suivante:

Cette analyse prévoit aussi la détermination de la variation de l'extinction spécifique  $\Delta K$  selon l'équation suivante:

$$\Delta K = K_m - (K_{m-4} + K_{m+4}) / 2$$

Où  $K_m$  est l'extinction spécifique à la longueur d'onde d'absorbance maximale, aux environs de 270 nm.

## 2.5. Détermination de la teneur en eau et en matière volatile

La détermination de la teneur en eau et en matière volatile est faite selon la méthode décrite par la norme du COI (2015), dont les étapes sont comme suit:

- dans une capsule séchée et tarée, peser 5 g d'huile;
- éliminer l'eau par chauffage à l'étuve réglée à  $103 \pm 2C^\circ$ ;
- répéter le chauffage et la pesée dans les mêmes conditions, jusqu'à ce que la perte de poids entre deux pesées successives n'excède pas 2 mg. La teneur en eau et en matière volatile est exprimée en pourcentage en masse, et donnée par la relation suivante :

$$\text{La teneur en eau (\%)} = (M_1 - M_2) \times 100 / (M_2 - M_0)$$



**M<sub>0</sub>**: La masse en gramme de la capsule.

**M<sub>1</sub>**: La masse en gramme de la prise d'essai et la capsule.

**M<sub>2</sub>**: La masse en gramme de la capsule et résidu après chauffage.

### 3. Caractérisation chimiques

#### 3.1. Indice d'acide et acidité

L'acidité libre des huiles d'olive est un paramètre de qualité très important dans leur classification. L'EEC Régulation (2568/91), équivalent a ISO 660(1996) révisée en 2009 et équivalent à la méthode N°. 2.201 d'IUPAC (7<sup>th</sup> édition AOAC Wijs method) consiste à doser les acides gras libres par une solution titrée de potasse comme suit :

Une prise de 5 g d'huile est dissoute dans 10 ml d'un volume égal éthanol/chloroforme (V/V). Les fonctions carboxyliques libres sont dosées par une solution de KOH à 0,1 N en présence de phénolphtaléine à 1% dans l'alcool absolu. La fin du dosage est marquée par l'apparition d'une couleur légèrement rose.

L'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Indice d'acide (Ia)} = 56.1 \times V \times N / M$$

**V**: Nombre de millilitres de la solution titrée de KOH éthanolique.

**N**: Normalité de la solution titrée de KOH éthanolique.

**M**: Masse en gramme de la prise d'essai.

**56.1**: Masse molaire exprimée en gramme/mole de KOH.

L'acidité est le pourcentage en acides gras libres contenus dans un corps gras. Par convention, elle s'exprime en pourcentage d'acide oléique pour les huiles d'olive et elle est exprimée par la relation suivante:

$$A = \text{Ia} / 2$$

#### 3.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de microgrammes de peroxyde actif contenu dans un gramme de produit, ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation de l'huile (COI, 2011). En milieu acide, les hyperoxydes réagissent avec l'ion iodure pour générer de l'iode qui est titré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon (UICPA, 1979). Exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile (meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d'huile), est mesuré d'après la méthode consignée dans l'EEC



Régulation (2568/91), équivalente à ISO 3960 (2017). L'indice de peroxyde est déterminé par la mise d'une solution de 1g d'huile d'olive dans 12,2 ml d'une solution d'acide acétique glacial /chloroforme (3:2, V/V) à laquelle on ajoute 15ml d'une solution saturée de KI.

Le mélange est placé par la suite pendant 15 min à l'obscurité, puis additionné de 60 ml d'eau distillée et de 1ml d'une solution d'empois d'amidon ce qui conduit à l'apparition d'une couleur violette. A la fin, nous titrons par la solution de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  à 0,01N jusqu'à la disparition de la couleur. Un essai à blanc sans le corps gras est effectué parallèlement au premier essai.

La valeur de l'indice de peroxyde est calculée selon l'équation suivante:

$$I_p = [(V_1 - V_0) \times T / (m)] \times 1000$$

**T:** Titre ou normalité de la solution de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ).

**V<sub>0</sub>:** Volume de thiosulfate versé dans le blanc (en ml).

**V<sub>1</sub>:** Volume de thiosulfate versé dans la prise d'essai (en ml).

**m:** Prise d'essai en grammes.

### 3.3. Indice d'iode

L'indice d'iode est déterminé par la méthode décrite dans la norme du Règlement CEE (1991) selon les étapes suivantes :

- Peser une prise d'essai de 0.2 g de corps gras dans un ballon à fond plat puis ajouter à cette masse 10 ml d'hexane et 10 ml d'acide acétique et enfin 25 ml du réactif de wijs;
- laisser le mélange reposé à l'obscurité pendant 1 heure;
- introduire au mélange 20 ml de la solution saturée d'iodure de potassium et 150 ml d'eau distillée puis boucher le ballon et agiter pendant 5 mn;
- titrer le mélange avec la solution de thiosulfate de sodium 0.1N jusqu'à l'apparition de la couleur jaune;
- ajouter ensuite l'empois d'amidon et la coloration devient bleue foncée puis continuer le dosage jusqu'à la disparition de cette couleur.

- Un essai à blanc sans l'huile est effectué parallèlement au premier essai. L'indice d'iode est donné par l'équation:

$$\text{Indice d'iode (Ii)} = ((V_0 - V) \times 0.01269 \times 100) / P$$



**V<sub>0</sub>**: Nombre de ml de la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N versés dans l'essai à blanc.

**V**: Nombre de ml de la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N versés dans l'essai

**P**: Prise d'essai en grammes

**0.01269**: Masse de l'iode correspondant à 1 ml de thiosulfate.

### 3.4. Indice de saponification

Selon le protocole du Codex STAN (1981), l'indice de saponification est mesuré comme suit:

- Dans un ballon à fond plat, peser 2g d'huile;
- Ajouter 25ml de potasse alcoolique à 0.5N et porter à ébullition sous réfrigérant à reflux (en présence d'un régulateur d'ébullition) pendant une heure en agitant de temps en temps;
- Titrer la solution savonneuse chaude avec l'acide chlorhydrique à 0.5N en présence de phénolphthaléine;
- Réaliser parallèlement, un essai à blanc dans les mêmes conditions mais sans l'huile.

L'indice de saponification est exprimé en mg de KOH/g d'huile selon la formule suivante:

$$I_s = 56,1 \times T \times (V_0 - V) / M$$

**V**: Volume en ml de la solution d'HCl utilisée pour la prise d'essai.

**V<sub>0</sub>**: Volume en ml de la solution d'HCl utilisée pour l'essai à blanc.

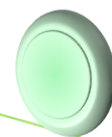
**T**: Titre exact de la solution d'HCl utilisée.

**M**: Prise d'essai en gramme.

**56,1**: Masse molaire du KOH exprimée en grammes par mole.

### 3. Caractérisation microbiologique des échantillons d'huile

L'isolement de bactéries à partir des treize échantillons d'huile d'olive a été effectué selon la méthode de Santona et *al.*(2018), elle est basée sur le passage par une étape d'enrichissement où nous avons mélangé 10 ml d'huile avec 90 ml de YEPD (1% d'extrait de levure, 2% de peptone et 2% de glucose), puis incubé le mélange pendant 24 h à 28°C dans des Erlenmeyers de 250 ml et sous agitation pendant 24 h à 28 °C. Ensuite, nous avons



prélevé des aliquotes de 100  $\mu$ L et préparé des dilutions au 1/10 sur six milieux de culture distincts. Les milieux de cultures utilisées et les conditions d'incubation pour chaque germe sont donnés dans le tableau 9.

**Tableau 9** : Germes recherchés dans les huiles et leurs conditions de croissance

Germe recherché	Milieu de culture	Conditions d'incubation
<b>bactéries mésophiles viables</b>	PCA	28 ° C pendant 48 h
<b>les bactéries psychrophiles,</b>	PCA	7 jours 5 ° C
<b>bactéries thermophiles</b>	PCA	45 ° C pendant 48 h
<b>bactéries sporulantes</b>	PCA traitées à 80 ° C pendant 15 min	28 et 37°C pendant 48h
<b>bactéries lactiques</b>	MRS	à 30 ° C dans des conditions d'aerobiose et d'anaerobiose
<b>YEPD</b>	champignons filamenteux, les levures	28 ° C pendant 48 h

Toutes les analyses ont été effectuées trois fois. En cas d'apparition de colonies, nous procédons à une identification classique des bactéries selon les normes.

### **5. Analyse de la composition chimique des huiles par chromatographie en phase gazeuse**

Les huiles sont principalement composées de triglycérides - triesters d'acides gras et du glycérol. Ces molécules sont difficiles à analyser tel quel en chromatographie gazeuse, où il faut d'abord détruire les liaisons ester glycérol - acide gras et synthétiser des esters du méthanol et des acides gras. Ces esters, étant plus volatils, sont plus faciles à analyser que les acides gras « libres ».

Les esters obtenus, souvent appelés FAME pour Fatty Acid Methyl Esters, sont séparés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne suffisamment polaire pour séparer les molécules aussi bien en fonction de leur taille que de leur degré d'insaturation (les nuages électroniques des liaisons n'étant susceptibles d'interagir avec des phases stationnaires polaires).



La préparation des esters méthyliques est effectuée selon le protocole décrit par le COI (2011) ou les triglycérides sont attaqués par la soude. Les acides gras ainsi libérés sont estérifiés par le méthanol sous catalyse acide ensuite :

- Environ 3 gouttes d'huile sont reprises par 1ml d'heptane dans un tube et le contenu est agité pendant 2 secondes tout en maintenant le tube bouché. 0,2 ml de NaOH

méthanolique (2mol/ l) est ajouté et le tube est agité vigoureusement pendant 10 secondes, ensuite placé dans un bain marie à 50°C pendant 20 secondes tout en continuant de maintenir le bouchon fermé ;

- après ce délai, le tube est agité encore une fois pendant 10 secondes puis 0,4 ml d'HCl méthanolique (1mol/l) est ajouté suivi d'une agitation ;

- après décantation, la phase organique contenant les esters méthyliques est recueillie et diluée 10 fois dans de l'heptane, puis transvasée vers le flacon d'analyse de la chromatographie en phase gazeuse.

La chromatographie en phase gazeuse est une technique permettant de séparer les composés d'un mélange transporté à travers une colonne contenant une phase stationnaire à l'aide d'un gaz vecteur. Les différents acides gras du mélange se séparent et sortent de la colonne les uns après les autres en fonction de l'affinité à la phase stationnaire de ces molécules.

A la sortie de la colonne, un détecteur identifie et quantifie les acides gras en fonction de leurs temps de rétention au niveau de la colonne par comparaison à des étalons, et le taux de chaque acide gras est déterminé par le calcul des aires des pics correspondants.

Un volume de 3 µl des EMAG est injecté dans un chromatographe en phase gazeuse de type CHROMPACK CP 9002. Les conditions d'analyse sont les suivantes :

- Colonne capillaire : Cp Sil 88 CB (5% Phényl + 95% diméthylpolysiloxane) ;

Longueur : 30m ; Diamètre intérieur : 0,32 mm ; Epaisseur : 0.25µm.

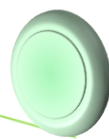
Four (soumis à un gradient de température): 150 °C, 220 °C, à raison de 4 °C /min

- Détecteur : FID (260°C)

- Injecteur : Split 1/100 (250°C)

- Gaz vecteur : Azote

- Vitesse du papier : 0.5 cm/min



## **Partie II : Extraction et dosage de quelques constituants de la fraction insaponifiable des huiles**

### **1. Extraction des polyphénols totaux**

Les extraits phénoliques contenus dans les huiles ont été obtenus suivant la méthode décrite par de Brenes *et al.*(1999) ; Laincer *et al.* (2014) qui consiste à :

- Ajouter 50 ml du solvant méthanol/eau (80:20 v/v) à 10 g d'huile d'olive;
- mélanger à l'aide d'un vortex, ensuite centrifuger à 5000 tr/min, pendant 30 min;
- récupérer le surnageant et ajouter 50 ml du solvant (méthanol/eau), puis centrifuger.

Répéter cette opération 3 fois;

- évaporer le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif pendant 22 minutes à 40°C sous vide;

- laver le résidu avec 5 ml d'hexane ensuite ajouter 5 ml d'acétonitrile;
- évaporer la solution résultante d'acétonitrile à 40 °C pendant 37 min;
- enfin dissoudre le résidu dans 1ml de méthanol.

### **2. Dosage des polyphénols totaux**

L'analyse des composés phénoliques dans l'huile d'olive présente un grand intérêt étant donné d'une part leur rôle d'antioxygènes naturels et d'autre part leur contribution à la saveur de l'huile. Le principe de dosage est le suivant :

Le réactif de Folin donne, en présence des polyphénols, une coloration bleue (la réduction des acides phosphotungstique et phosphomolybdique contenus dans le réactif de Folin-Ciocalteu par les polyphénols). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des phénols dans l'échantillon. Les phénols totaux sont extraits d'une prise d'essai de l'échantillon d'huile par un mélange volumique méthanol / eau, puis dosés par spectrophotométrie UV en présence de réactif de Folin.

La méthode de dosage adoptée dans cette étude est celle de Singleton *et al.* (1999) ; Ollivier *et al.*(2003) ; George *et al.*(2005) dont les étapes sont les suivantes :

- Ajouter 0.8 ml de réactif de Folin dilué 10 fois dans l'eau distillée aux 0.2 ml d'extraits phénoliques. Après 3 minutes, 1 ml de carbonate de sodium (75g/l) est ajoutée ;
- chauffer le mélange 15min à 50°C, puis mesure l'absorbance à 760 nm par rapport à un témoin négatif.



- l'étalonnage externe se fait par l'acide gallique entre 0 et 250 mg/L du mélange méthanol-eau (0; 50; 100; 250) qui est directement mélangé au Folin. La droite d'étalonnage externe est utilisée en n'oubliant pas que dans l'essai, les polyphénols de l'huile sont dilués deux fois au cours de l'extraction.

### 3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci se traduit par le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons.

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans l'huile d'olive a été faite selon la méthode de Bahorun *et al.* (1996); Djeridane *et al.* (2006) qui préconise de :

- Mettre 1 ml d'extrait méthanolique dans un tube à essai; ajouter 1 ml de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2%;
- laisser incuber pendant 15 min a une température ambiante;
- lire les absorbances à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 430 nm;
- effectuer la même opération pour la quercétine à différentes concentrations en introduisant 1 ml de ces derniers dans une série de tubes avec l'ajout de 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> à 2%;
- le blanc est représenté par le méthanol additionné à l'AlCl<sub>3</sub>;
- Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/g de matière fraîche.

### 4. Dosage des flavones et flavonols

La méthode utilisée pour l'estimation de taux de flavonols est celle décrite par Kosalec *et al.* (2004) qui se réalise de la manière suivante:

- Mettre 0.50 ml de l'extrait méthanolique dans un tube à essai, ajouter 1.5 ml de méthanol, 0.1ml de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 10%, puis 0.1 ml d'acétate de sodium (0.05%) et 2.8 ml d'eau distillée. Laisser incuber 30 min à une température ambiante;
- lire les absorbances par un spectrophotomètre UV-visible à 415 nm,



- la concentration des flavones et flavonols contenus dans l'huile est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/g de matière fraîche.

## 5. Dosage des O diphénols

Selon Bendini et *al.* (2003), 0,5 ml de l'extrait phénolique obtenu à partir de l'huile d'olive a été dissout dans 5 ml d'une solution de MeOH / eau (1: 1, v / v); 4 ml de la solution résultante est mélangée avec 1 ml d'une solution de molybdate de sodium de 5% de concentration (hydraté dans le MeOH-eau(1: 1, v / v) ). Après une agitation et un repos de mélange pendant 15 min, nous avons mesuré l'absorbance à 370 nm dans une cuve en verre en utilisant l'acide caféique pour la courbe d'étalonnage.

### **Partie III : Evaluation des activités antioxydantes des extraits phénoliques des treize échantillons d'huile d'olive**

#### 1. Test de piégeage du radical DPPH

Le test DPPH qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2.2-diphényl-1-pikrylhydrazyl radical, a été utilisé pour déterminer la capacité antioxydante des échantillons d'huiles (Rohman et *al.*, 2019).

Le radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction avec l'atome d'oxygène, un piègeur de radicaux de la réduction de DPPH-H (2.2-diphényl-1-pikrylhydrazin) est formé, qui est jaune (Villano et *al.*, 2007). Le changement de la couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 515 ou 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Molyneux, 2004).

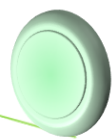
- Dans notre étude nous avons suivi la procédure de Keceli et Gordan (2001) modifiée par Laincer et *al.* (2014) décrite comme suit :

- 50µL de chaque extrait et de différentes dilutions, ainsi que le standard (l'acide ascorbique à raison de 10mg/ml, et le contrôle) sont ajoutées à un volume de 2.9 ml d'une solution méthanoliques du DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  mole/l).

- Ce mélange a été incubé 30min, puis mesurer l'absorbance à 515nm.

L'activité anti radicalaire est estimée en pourcentage grâce à la formule suivante :

$$\% \text{ AAR} = [A_0 - (A_1 - A_s) / A_0] \times 100$$



Où :

$A_0$  : L'absorbance de DPPH seule,

$A_1$  : l'absorbance de DPPH +extrait phénolique,

$A_s$  : l'absorbance de l'extrait phénolique seule.

La réalisation de la cinétique de cette activité a permis de déterminer les concentrations qui correspondent à 50% d'inhibition (IC50) ; la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur d'IC50 est exprimée en  $\mu\text{g/ml}$ .

## 2. blanchissement du $\beta$ -carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique des radicaux peroxydés suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène à partir de groupements méthylènes de l'acide linoléique.

Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène.

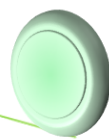
La cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène en absence et en présence des extraits phénoliques et d'antioxydant standards (BHT) a été suivie par la méthode de Barros *et al.* (2007) où nous avons préparé une émulsion composée de 0,5 mg de  $\beta$ -carotène, 1 ml de chloroforme, 25 $\mu\text{l}$  d'acide linoléique, 200 mg de Tween 40 et 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène.

- Après ajout de 0,5 ml des extraits méthanolique de chaque huile à 2,5 ml de l'émulsion précédemment préparée, incuber le mélange à 50°C pendant 2h dans un bain marie; puis lire les absorbances à chaque fois avec un intervalle de 20 min. Le blanc utilisé est sans  $\beta$ -carotène. Finalement le pourcentage de l'inhibition de la peroxydation lipidique IPL est calculé.

- le BHT est utilisé comme standard après son incubation au bain marie pendant 2h à 50°C;

## 3. Dosage des ATBS+

L'activité antioxydante des extraits phénoliques a été également testée par la méthode d'oxydation d'ATBS (2,2- Azibonis.(3- éthyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) par le sulfate de Potassium. La méthode utilisée est celle de Re *et al.* (1999) modifiée par Laincer *et al.*



(2014) qui consiste à mesurer l'absorbance à 734 nm d'une solution composée de 990 µl d'ABTS + diluée avec l'éthanol (jusqu'à une absorbance de 0,700 à 734 nm) et 10 µl de l'extrait à tester. Le pourcentage d'inhibition de l'absorbance a été calculé par le biais de la formule spécifiée dans la méthode de DPPH. L'activité antioxydante des différents extraits est exprimée par IC50 (concentration nécessaire pour une réduction de 50% d'ATBS).

#### **Partie IV: Evaluation de l'activité antibactérienne des Extraits phénoliques**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques issus des treize échantillons d'huiles d'olive à l'égard de huit souches bactériennes a été effectuée qualitativement par la méthode de diffusion sur gélose et quantitativement par la méthode de micro dilution.

##### **1. Préparation des prés-cultures bactérienne et standardisation des charges**

Avant la réalisation des tests antibactériens, une revivification par repiquage successif dans le Bouillon nutritif et une vérification de la pureté des souches bactériennes par identification biochimique (à l'aide de galeries classiques et galeries API) ont été effectuées.

La standardisation de l'inoculum bactérien est un facteur qui contribue de façon essentielle à la qualité des résultats de cette activité, pour cela, une suspension bactérienne de quelques colonies d'une culture fraîche (18 heures) préparée dans de l'eau physiologique a été soumise à un balayage entre 380-780 nm afin de déterminer la longueur d'onde d'absorbance maximale pour chaque souche.

Les souches bactériennes à tester ont étéensemencées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive. Après 18h d'incubation à 37°C, des suspensions bactériennes d'une densité optique de 0.50 ont été préparées pour chaque souche dans 9 ml d'eau physiologique stérile (la charge bactérienne de cette solution est aux alentours de  $10^6$ ,  $10^7$  UFC/ml (Garrabé et *al.*, 1998).

##### **2. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne : test de diffusion sur gélose**

Afin d'évaluer les activités antibactériennes des extraits phénoliques, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé appelée aromatoگرامme en utilisant des disques stériles en papier wattman de 6 mm de diamètre. Le principe de la méthode repose sur la diffusion de l'extrait phénolique en milieu solide dans une boîte de Pétri. L'effet antibactérien



de l'huile sur la cible est apprécié par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition qui apparaisse tout autour de disque (Bijman et *al.*, 2012).

Cette technique est appliquée par le dépôt d'un disque en papier Wattman préalablement imbibé par 0,20 µl de l'extrait à tester sur la surface d'une gélose Mueller Hinton qui a étéensemencée par l'inoculum bactérien à l'aide d'un écouvillon. L'expérience a été répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques (sans prendre en considération le diamètre de disque). Les résultats sont exprimés par diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signe d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait de l'huile d'olive comme le montre Ponce et *al.* (2003).

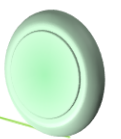
- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 2 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 3 à 8 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 9 à 13 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre >14 mm.

### **3. Test quantitatif (détermination des CMI)**

Les concentrations minimales inhibitrices des différents extraits ont également été étudiées pour les huit souches bactériennes à l'aide de la technique de micro-dilution (Tunçel, 1993 ; Lincer et *al.*, 2014). Des quantités appropriées de chaque extrait sont ajoutées de manière aseptique au Muller Hinton sur fusionnée et refroidie pour donner des concentrations finales de 0,3 - 0,4 - 0,5 - 0,6 - 0,7 - 0,8 - 0,9 - 1 - 1,2 - 1,4 - 1,6 - 1,8 et 2 mg/ml. Environ 10<sup>8</sup> UFC/ml de chaque culture sontensemencées sous forme de taches sur Muller Hinton contenant l'extrait souhaité en utilisant une boucle calibrée de 1ml et les plaques ont été incubées à 37°C pendant 48h. La concentration minimale sans croissance bactérienne a été déterminée comme étant la CMI.

### **V. Analyse statistique des résultats**

L'analyse statistique des résultats est réalisée à l'aide d'une version d'essai de XLSTAT 2019.1, menant à une analyse univariée (statistiques descriptives et analyse graphique) et bi variée (coefficients de corrélation R). En second lieu, une analyse multi variée comprenant un regroupement hiérarchique (AHC) et une analyse des composantes principales (ACP) est appliquée, afin d'identifier les différentes relations entre les paramètres analysés et les



différents échantillons étudiés. Enfin, les caractéristiques des échantillons d'huile d'olive sont analysées à l'aide d'une analyse factorielle discriminante.



### Chapitre III : Résultats et discussion

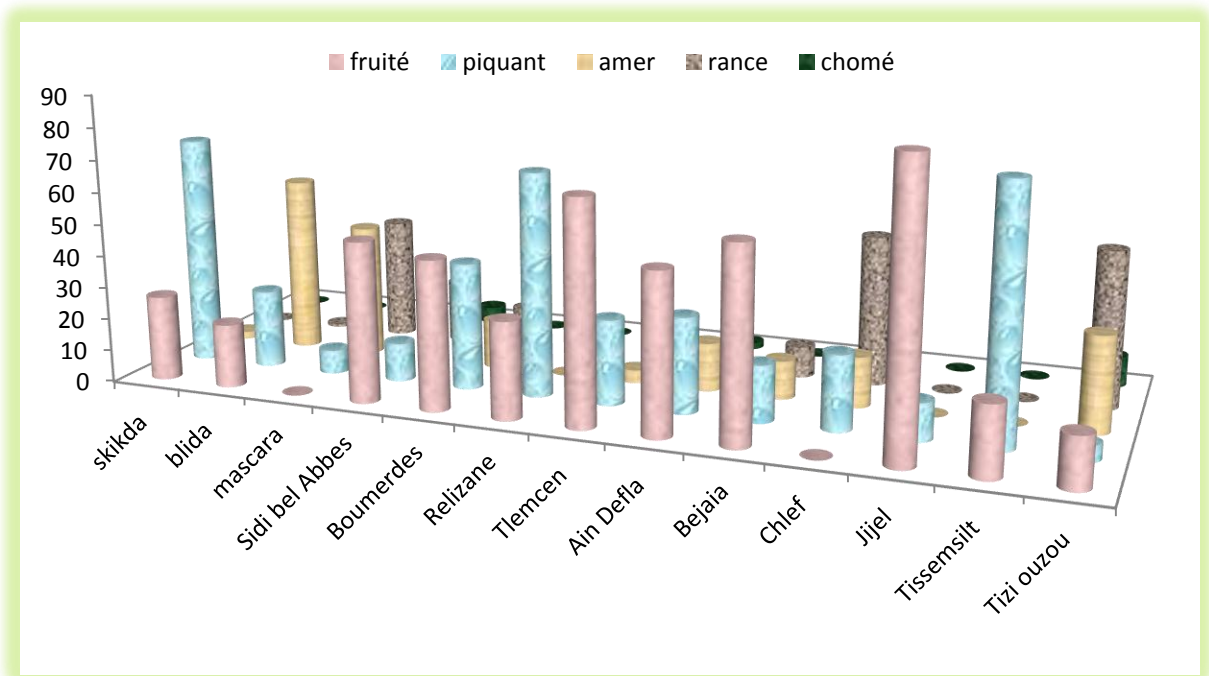
#### Partie I : Résultats de la caractérisation organoleptique et physico-chimique des échantillons d'huile d'olive

##### 1. Résultats de la caractérisation organoleptique

La caractérisation organoleptique des treize échantillons d'huile d'olive a été réalisée selon deux méthodes différentes, la première a consisté à une évaluation par un panel de dégustation composé de 250 personnes non spécialisées afin d'avoir une idée sur les préférences organoleptique des consommateurs concernant l'huile d'olive, et la deuxième a été effectuée à l'aide d'un panel de dégustation spécialisé afin d'évaluer la qualité organoleptique de nos échantillons selon les normes internationaux de dégustation.

##### 1.1. Résultats de la caractérisation hédonique

Les résultats de la dégustation non spécialisées sont présentés dans les figures 18,19 et 20.



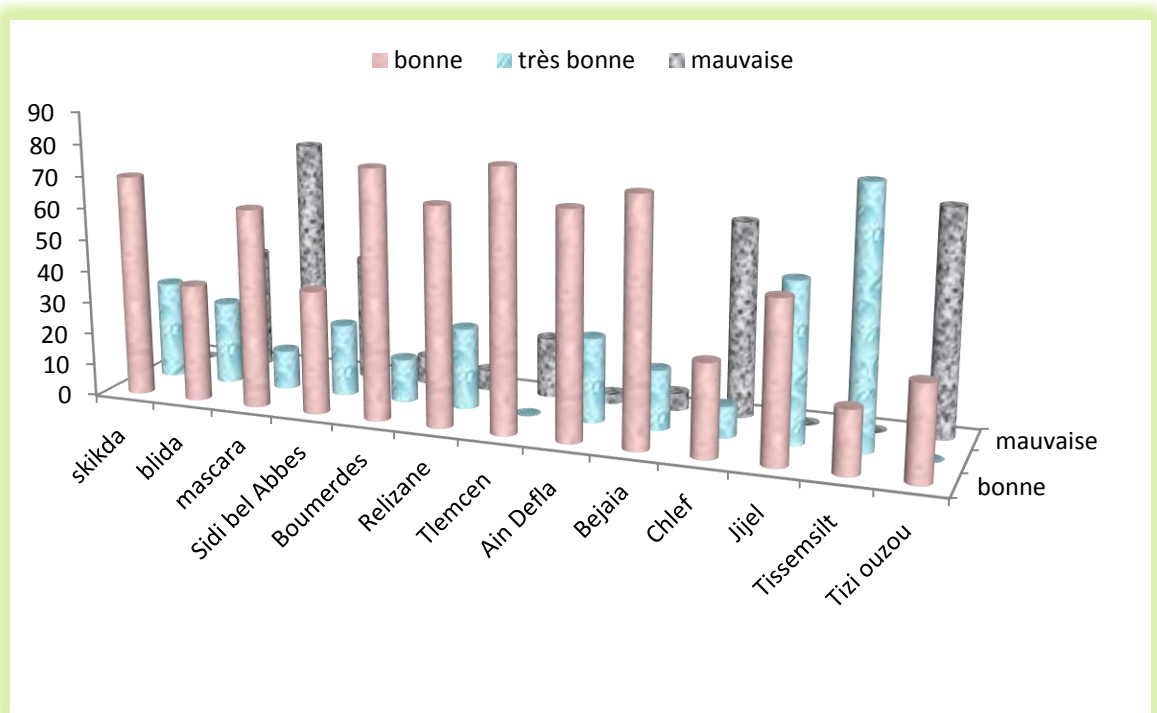
**Figure 18:** Résultats de la caractérisation du goût des échantillons d'huile d'olive



Les appréciations suivantes peuvent être tirées de la caractérisation non spécifique :

Entre 69,5% et 78% des dégustateurs trouvent que les huiles de Skikda, Relizane et Tissemsilt ont un gout piquant et le reste des dégustateurs n'aperçoivent ni le gout de rance ni chôme dans ces échantillons. Un nombre faible des membres de jury (entre 2,3% et 16%) ont senti un gout amer dans ces huiles.

Un gout de rance est détecté par plus de 30% des dégustateurs dans les huiles de Mascara et Chlef.

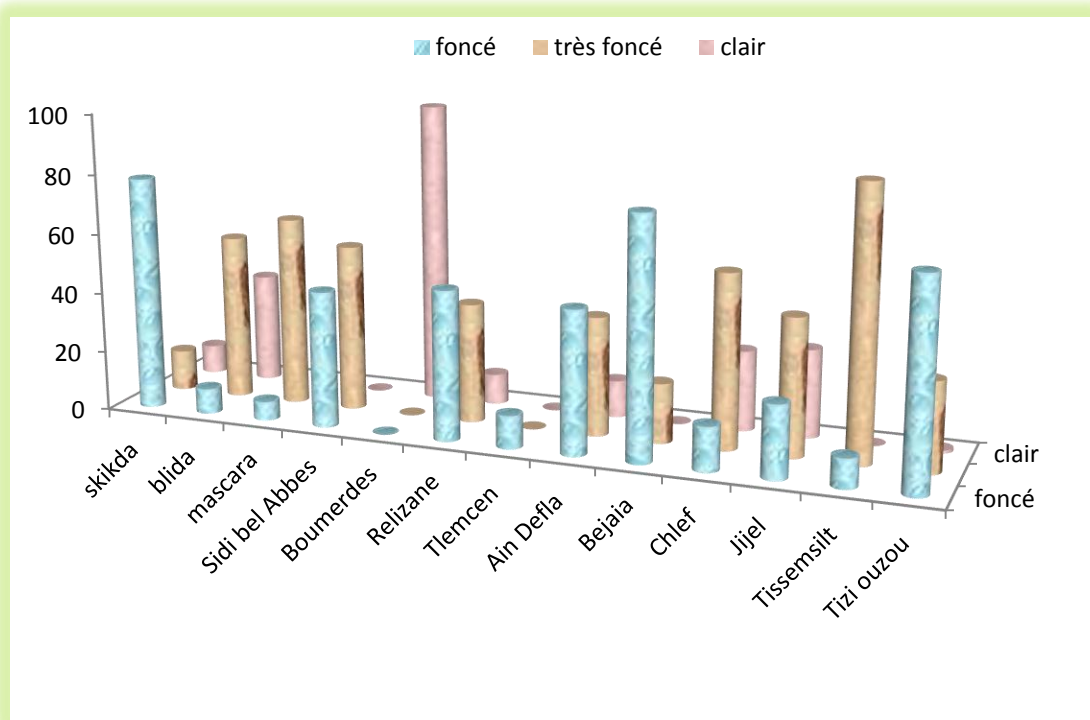


**Figure 19:** Résultats de la caractérisation de l'odeur des échantillons d'huile d'olive

La totalité des dégustateurs apprécie la bonne ou la très bonne odeur de ces huiles.

La mauvaise odeur signalée par plus de 60% des dégustateurs pour les huiles de Mascara et Chlef est due à l'oxydation des acides gras insaturés.

Plus de 50% des dégustateurs ont aimé la bonne odeur et le gout fruité des huiles de Jijel, Tlemcen, Boumerdes et Bejaia. Cependant, 9,82% et 19,58% ont senti un gout de rance dans les huiles de Bejaia et celles de Sidi bel abbés.



**Figure 20:** Résultats de la caractérisation de la couleur des échantillons d'huile d'olive

La couleur des échantillons de Skikda et celle de Relizane (78% et 50% respectivement) semblent foncée et très foncée pour l'huile de Tissemsilt (90% des dégustateurs). La couleur de l'huile de Chlef varie entre le foncé et le clair avec sédiment; ceci peut être dû au phénomène d'oxydation des acides gras insaturés et un défaut dans le raffinage de l'huile.

La couleur des échantillons des huiles de Bejaia, de Tissemsilt et celles de Sidi bel abbès varie entre le foncé et le très foncé.

D'ordre général, les préférences des différents dégustateurs ont été différentes. Au moment que 50% préfèrent les huiles fruitées, douces de couleur légèrement foncée (cas de l'huile de Skikda), 35,6% optent pour les huiles piquantes de couleur foncée ou très foncée (cas de l'huile de Tissemsilt), les préférences des autres ont été très divergentes.

## 1.2. Résultats de la caractérisation spécialisée

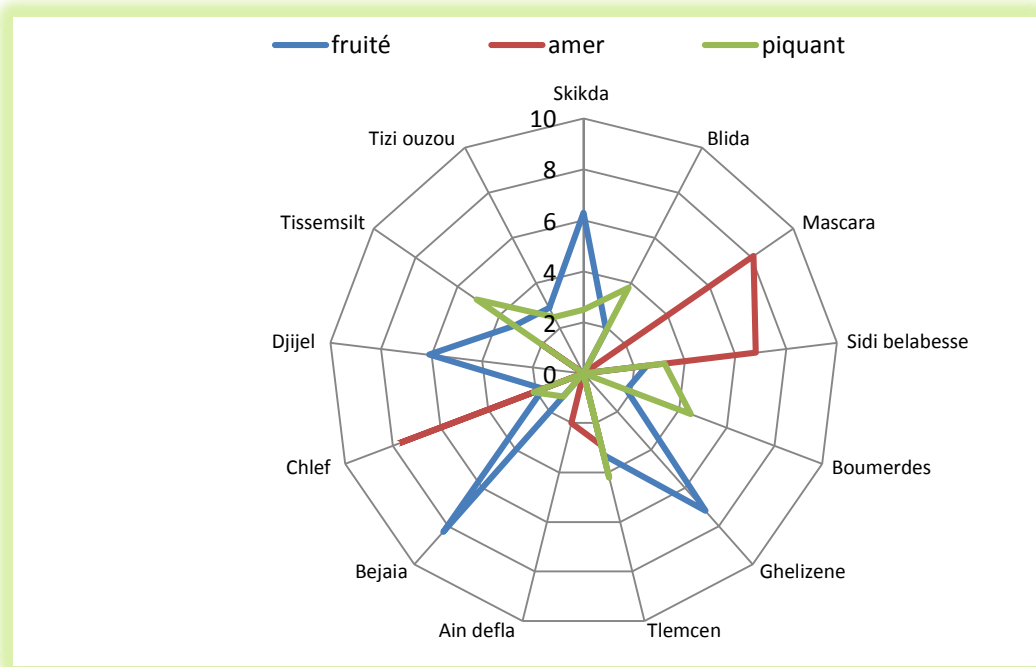
Selon les valeurs de la médiane récapitulées dans le tableau 10, les huiles de Skikda, Tissemsilt et Relizane sont classés parmi les huiles d'olive vierge extra avec une médiane des défauts égale à 0 et de fruitée supérieure de 0.

**Tableau 10** : résultats de la caractérisation organoleptique des huiles d'olive

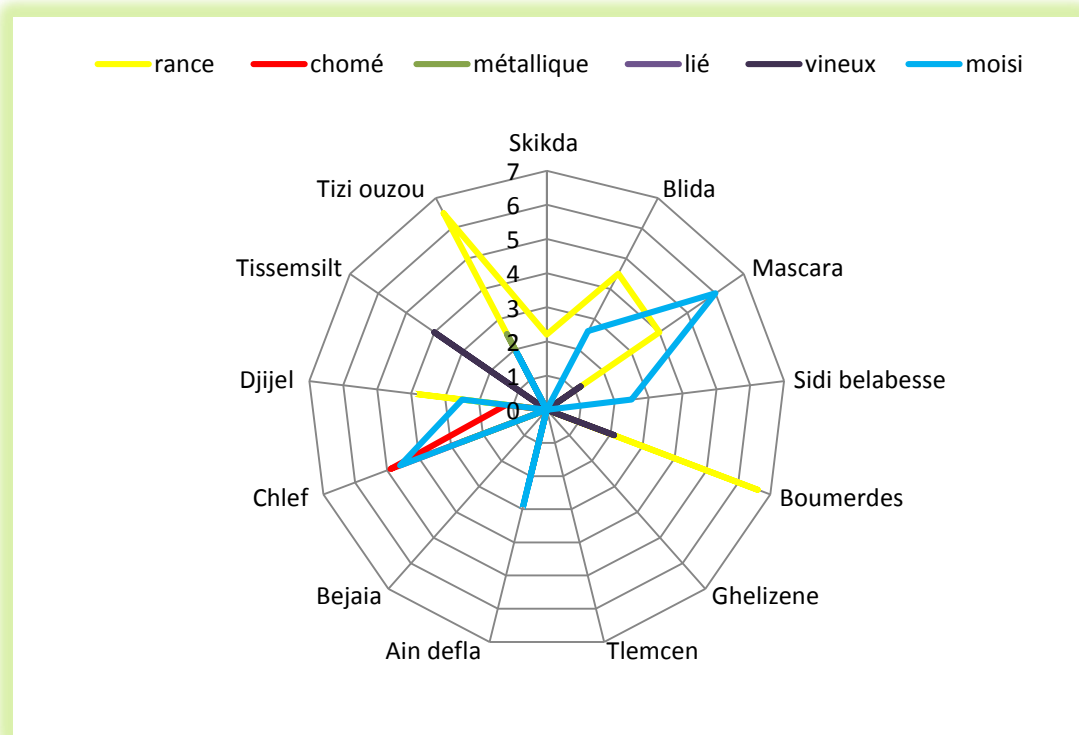
Echantillons	fruité	amer	piquant	Médiane du fruité	rance	chômé	Métal l-ique	lié	vineux	moisi	Médiane des défauts
Skikda	6.3	0	2.5	2.5	2.2	0	0	0	0	0	0
Blida	1.9	0	3.8	1.9	4.5	0	0	0	0	2.6	0
Mascara	0	8.1	0	0	4	0	0	0	1.2	6	0.6
Sidi –bel abbés	2.5	6.8	3.2	3.2	0	0	0	0	0	2.5	0
Boumerdes	1.8	0	4.5	1.8	6.6	0	0	0	2.1	4, 6	0
Ghelizene	7.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tlemcen	3.3	2.9	4.2	3.3	0	0	0	0	0	0	0
Ain Defla	0	2	0	0	1.9	0	0	2.3	0	3	0.95
Bejaia	8.3	0	1.2	1.2	0	0	0	0	0	0	0
Chlef	1.7	7.8	2.1	2.1	0	4.9	2.7	0	0	4.6	1.35
Djijel	6.1	0	0	0	3.9	1.2	0	0	0	2.5	0.6
Tissemsilt	3.3	2	5.1	3.3	0	0	0	0	4	0	0
Tizi ouzou	2.9	0	2.5	2.5	6.5	0	2.5	1.8	0	1.9	1.85

Les autres échantillons d'huile d'olive sont qualifiées de vierge avec une médiane des défauts inférieure à 3,5 (COI, 2015) et de fruité supérieur à 0 (figure 21) à l'exception des échantillons de Mascara et de Ain Defla qui sont classées comme vierge lampante, car la médiane du fruité est égale à 0 (figure 22).

Les résultats des deux caractérisations sont proches malgré les différences dans les préférences des consommateurs.



**Figure 21:** Profil organoleptique des attributs positifs des treize échantillons d'huile d'olive



**Figure 22:** Profil organoleptique des attributs négatifs des treize échantillons d'huile d'olive



Une certaine similitude est soulevée entre nos résultats et ceux trouvés par Essid et *al.* (2016). Ils montrent que les échantillons tunisiens dégustés étaient fruités avec une très bonne arôme résultant d'une synergie entre plusieurs composants fortement influencés par la région géographique et des facteurs génétiques. De plus, les attributs positifs d'une huile d'olive diffèrent d'une variété à une autre.

D'autre part, Ben Hassine et *al.* (2013) ont élucidé l'effet du stockage sur les caractéristiques olfactives de l'huile d'olive. Ils ont remarqué que les échantillons de l'huile de Coratina (sud de l'Italie) ont perdu leurs attributs positifs (spécialement le piquant et l'amertume) avec le stockage quel que soit le type d'emballage utilisé.

Servili et Montedoro (2002) ont mis en évidence la relation entre les sensations de l'huile d'olive et sa teneur en composés phénoliques qui subissent des modifications qualitatives et quantitatives en raison de réactions de décomposition et d'oxydation au cours du stockage. Par conséquent, l'intensité du goût amer typique de l'huile d'olive extra vierge fraîche diminue. Par contre, Dabbou et *al.* (2011) ont constaté que les caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive ne sont pas influencées par son mode d'extraction.

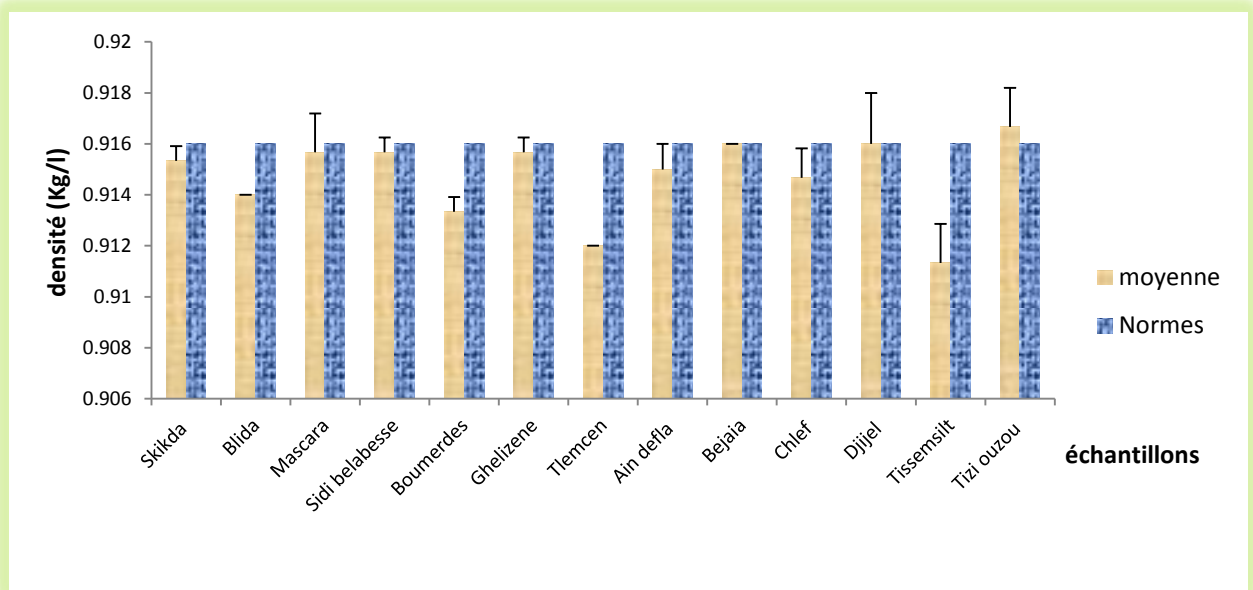
## **2. Résultats de la caractérisation physico-chimique et microbiologique des huiles**

Les critères qui caractérisent une huile d'olive sont divisés en deux catégories: critères physiques et critères chimiques.

### **2.1. Résultats des critères physiques**

#### **2.1.1. Densité**

La détermination de la densité d'une huile nous renseigne sur sa pureté (Karleskind, 1992). Les résultats consignés dans la figure 23 montrent que la différence entre la densité des huiles mesurée à 20 °C est très hautement significative ( $p < 0,0001$ ), les valeurs qui ont oscillé entre  $0,911 \pm 0,001 \text{Kg/l}$  et  $0,916 \pm 0,001 \text{Kg/l}$  sont toujours dans l'intervalle fixé par le COI (2019).



**Figure 23:** Résultats de la densité des échantillons d'huile d'olive

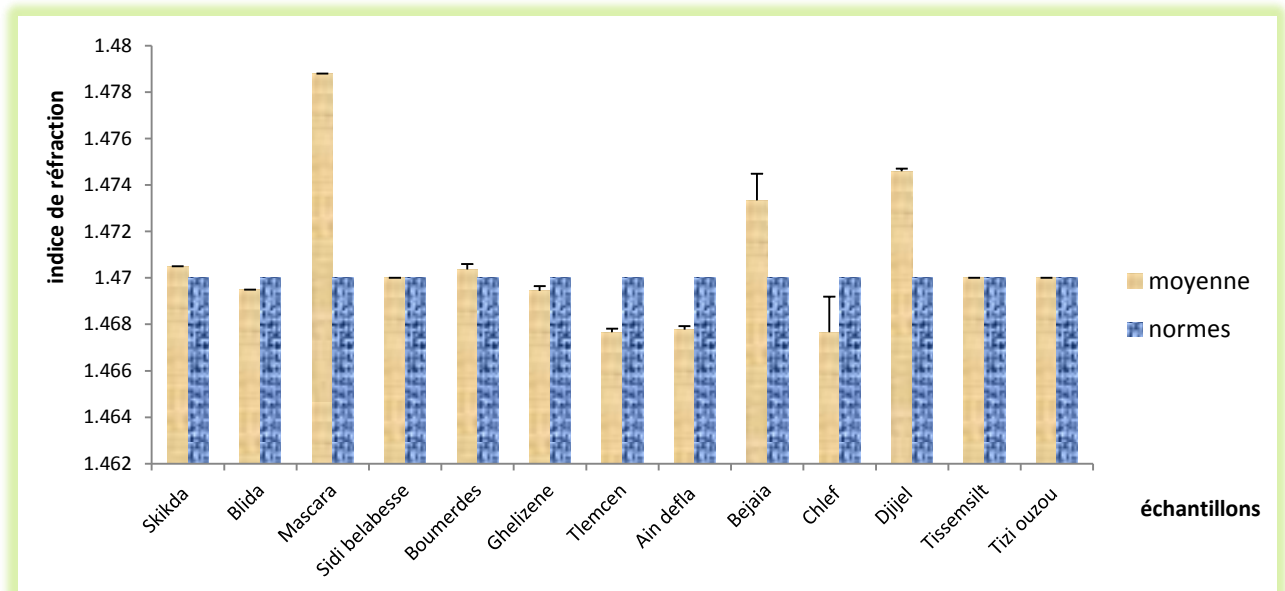
Nous déduirons aussi que les huiles de Mascara, Bejaia et Jijel sont plus insaturées et plus oxydées avec des valeurs de densité proche de  $0,916 \pm 0,001$  Kg/l que les autres huiles. Dans le même sens, Sekour (2012) a signalé que la densité des huiles est fonction de leur instauration et de leur état d'oxydation, plus elle augmente plus l'huile est oxydée.

En caractérisant des échantillons d'huile d'olive algérienne, Bouchenak (2018) a trouvé des valeurs de densité relative plus élevée que les nôtres pour l'huile d'olive de jijel (0,927 Kg/l), plus proche variant de 0,918 Kg/l- 0,912 Kg/l -0,907 Kg/l pour des échantillons collectés de Dellys, Bejaia et Biskra et il a conclu que l'échantillons le plus insaturé est celui de Jijel.

Dans le même sens, Fronco rebiero et *al.* (2018) ont trouvé que la densité de l'huile d'olive est de 0,916 kg/l à une température de 20° C et qu'elle se dilate avec l'augmentation de la température ; ce qui aboutit à une diminution de sa densité. La différence de densité entre l'huile d'olive et l'eau est utilisée par les producteurs pour séparer l'eau des olives de l'huile extraite par centrifugation.

### 2.1.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est un critère de pureté d'une huile. Il varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente ainsi qu'avec la température.



**Figure 24:** Résultats de l'indice de réfraction des huit échantillons d'huile.

Les valeurs de l'indice de réfraction récapitulées dans la figure 24 sont comprises entre 1,467 et  $1,474 \pm 0,001$  avec une différence très hautement significative ( $P < 0,0001$ ) et les huiles ont été regroupées en quatre classes (tableau en annexe) ou la classe c renferme le nombre le plus élevé d'échantillons (Skikda, Boumerdes, Sidi Bel abbés, Tissemsilt, Tizi ouzou, Blida et Relizane).

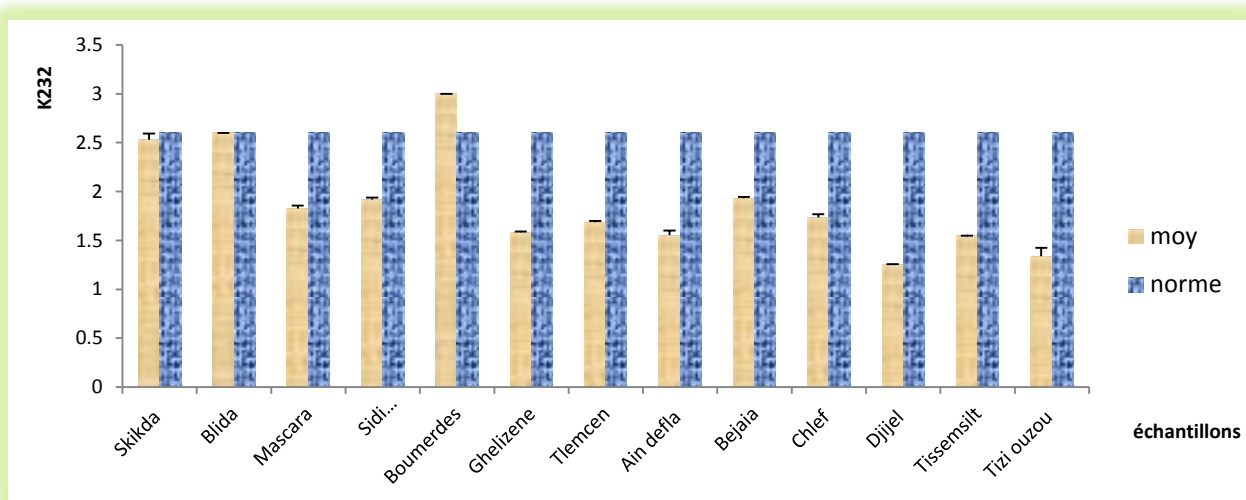
A l'exception des huiles de Mascara, Bejaia et Jijel avec des teneurs d'indice de réfraction dépassant  $1,474 \pm 0$ , les autres huiles sont conformes aux normes prescrites par le COI (2019) qui limite l'indice de réfraction à 1,470.

Nos résultats sont proches de ceux de Bouchenaket *al.* (2018) variant de 1,467 à 1,407 pour des huiles d'olive algérienne ; Bahti et *al.* (2015) pour des huiles d'olive palestinienne (1,470-1,471) et Bhnsawy et *al.* (2018) pour des échantillons égyptiennes (1,467-1,468).

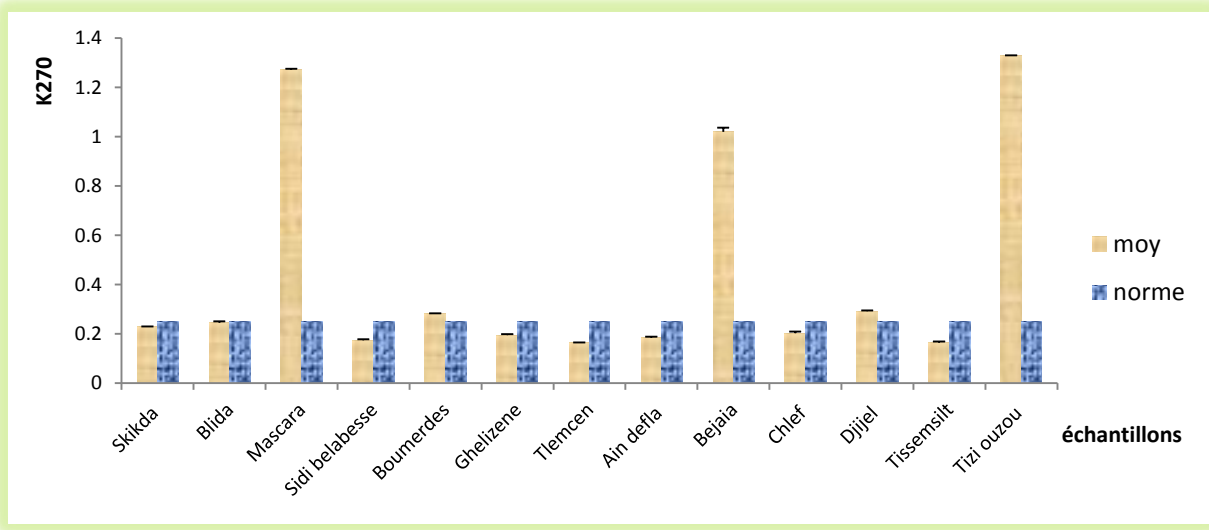
L'indice de réfraction d'après Chéneveau (1917) varie en fonction de la longueur de la chaîne latérale et du degré d'insaturation des acides gras entrant dans la composition des huiles. Il est également proportionnel aux poids moléculaire des acides gras ainsi que leur degré d'insaturation, ce qui donne une bonne appréciation sur la possibilité d'oxydation (Yunus *et al.*, 2009 ; Bhnsawy *et al.*, 2018).

### 2.1.3. Extinction spécifique

Les données recueillies pour l'extinction spécifique sont consignées dans les figures 25 et 26.



**Figure 25:** Résultats de l'extinction spécifique à K 232



**Figure 26 :** Résultats de l'extinction spécifique à K 270



Avec une différence très hautement significative ( $p < 0.0001$ ) entre les échantillons, les valeurs de K270 obtenues montrent que les huiles de Mascara, Bejaia, Jijel et Tizi Ouzou présentent une extinction spécifique plus élevée que les autres huiles dépassant ainsi les limites fixées par le COI (2019) et nous permet de déduire que ces huiles sont dans un état d'oxydabilité avancée car les triènes conjugués (produits secondaires d'oxydation) absorbent au voisinage de 270 nm ; ils sont proportionnels au degré d'oxydation des acides gras insaturés présents dans les huiles (Gutiérrez et *al.*, 1999 ; Vera et *al.*, 2019).

Les valeurs obtenues à 232 nm indiquent aussi que les échantillons de Jijel, Bejaia et Boumerdes sont hors norme. La densité et l'indice de réfraction de ces échantillons d'huiles confirment ces constatations.

Des variations moyennes ont été enregistrées entre nos huiles et les huiles analysées par Bendi Djelloul (2016) pour les deux coefficients : K232 (avec une valeur maximale de 2,42 pour l'huile de sidi Bel Abbés et minimale de 1.87 pour l'huile de Zanata) et K270 où les valeurs ont oscillé entre 0.13 et 0.20.

Par contre, ces teneurs sont proches de ceux enregistrés par Lincer et *al.* (2014) pour des huiles de l'Est algérien, où les extinctions spécifiques ont varié de 1.15 à 2.46 pour K 232 et de 0.10 jusqu'à 0.20 pour K 270 ; Blekas et *al.* (2002) avec des valeurs de K232 oscillant entre 1,20 et 2,40 et de 0,07 à 0,20 pour K270 concernant des variétés Grecques.

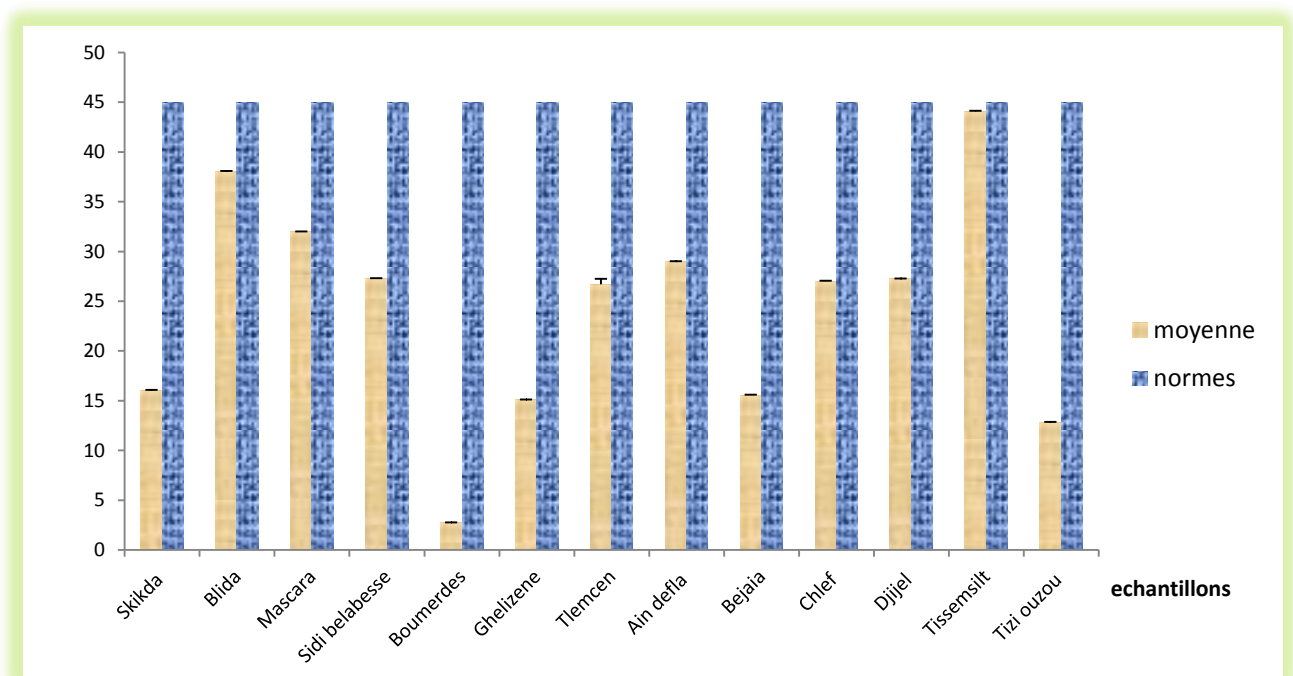
Les valeurs de l'indice de peroxyde inférieur à 20 meqO<sub>2</sub>/Kg d'une huile ne signifient pas toujours l'absence du phénomène d'oxydation. Le recours à la détermination des coefficients d'absorbance dans l'ultraviolet (K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub>) renseigne sur la présence ou l'absence de produits d'oxydation secondaire dans l'huile. Les hydroperoxydes des premiers stades de l'oxydation absorbent à 232 nm, alors que les produits d'oxydation secondaires tels que les cétones insaturées-dicétones absorbent au voisinage de 270 nm (Malvis, 2019).

L'absorbance dans l'ultraviolet est un moyen d'évaluation de l'état de conservation de l'huile. C'est également un indicateur sur la douceur de la méthode d'extraction et sur l'oxydation par surexposition de l'huile à l'air lors de la trituration. Plus l'extraction se fera à température basse ( $< 28^{\circ}$ ) moins il y aura de contact avec l'air

pendant l'extraction, et plus les valeurs de  $K_{232}$ ,  $K_{270}$ , seront faibles (Wolff, 1968). Plusieurs facteurs peuvent expliquer les valeurs élevées d'extinction spécifique. Il s'agit de la récolte tardive des olives, une exposition excessive des olives et de l'huile extraite à l'oxygène de l'air et à la lumière, voir aussi un réchauffement de la pâte lors de la trituration (Tanouti *et al.*, 2011).

#### 2.1.4. Couleur

La couleur des huiles est due aux pigments qui peuvent éventuellement exister dans cette dernière (Rahmani, 1989). Elle a été déterminée en analysant les huiles par spectrométrie dans le visible (AFNOR, 1993).



**Figure 27:** Résultats de la couleur des huiles

A la lumière des données présentées dans la figure 27 ; nous constatons que nos échantillons ont des couleurs variables conformes à ceux exigés par la norme AFNOR (1993) qui les situent entre 1 et 45 et aux résultats de la caractérisation organoleptique, nos huiles possèdent les couleurs suivantes :

- Huile de Boumerdes: Légèrement colorée car elle se situe entre 1 et 9 ;
- Huile de Bejaia, Skikda, Relizane et Tizi Ouzou : Foncée, avec une valeur située entre 12 et 19.

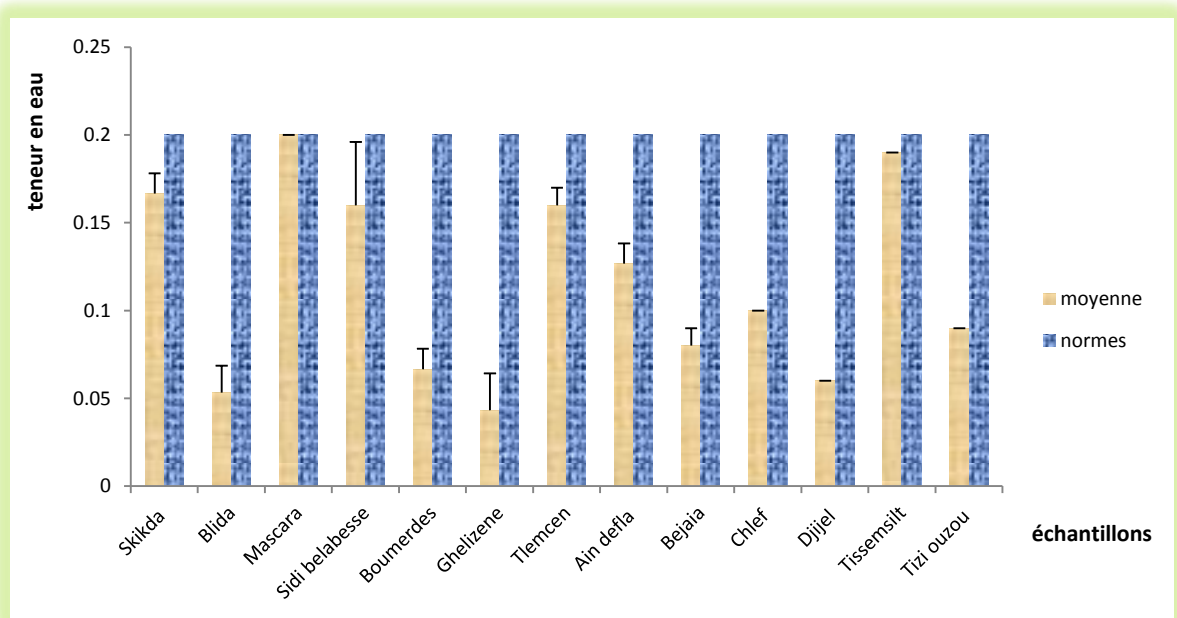


- Huile de Chlef, Sidi Bel Abbés, Jijel et Tlemcen : sont des huiles Foncée avec dominance du vert (de 20 à 29).
- Huile de Blida, Mascara et Tissemsilt: Très foncée avec une dominance du rouge (30-45).

La couleur foncée et très foncée des huiles de Chlef, Sidi bel Abbés, Jijel, Blida et Tissemsilt est due à la présence en plus de chlorophylle de pigments caroténoïdes et xanthophylles comme montrait Karleskind (1992) ; Giuliani (2011). Par ailleurs, la couleur de l’huile d’olive est le résultat d’une teneur qualitative et quantitative en pigments qui se diffère d’une année à une autre dans la même région et qui est fortement corrélée aux conditions climatiques de l’année de récolte et aux attaques des mouches qui affectent le métabolisme des olives résultant ainsi en un profil pigmentaire différent (Angela *et al.*, 2011 ; Lazzarini et Domenici, 2017).

### 2.1.5. Détermination de la teneur en eau et en matière volatile

La teneur en eau dans les huiles est conforme aux normes prescrites par le COI (2019) Comme le montre la figure 28.



**Figure 28:** Résultats de la teneur en eau dans les échantillons d'huile d'olive

Ceci indique que les échantillons d'huile ont subi une bonne séparation entre les



phases huileuses et aqueuses au cours de la production ; ce qui est un avantage de l'extraction par trois phases qui a été appliquée dans les unités d'extraction dont nous avons prélevé les échantillons.

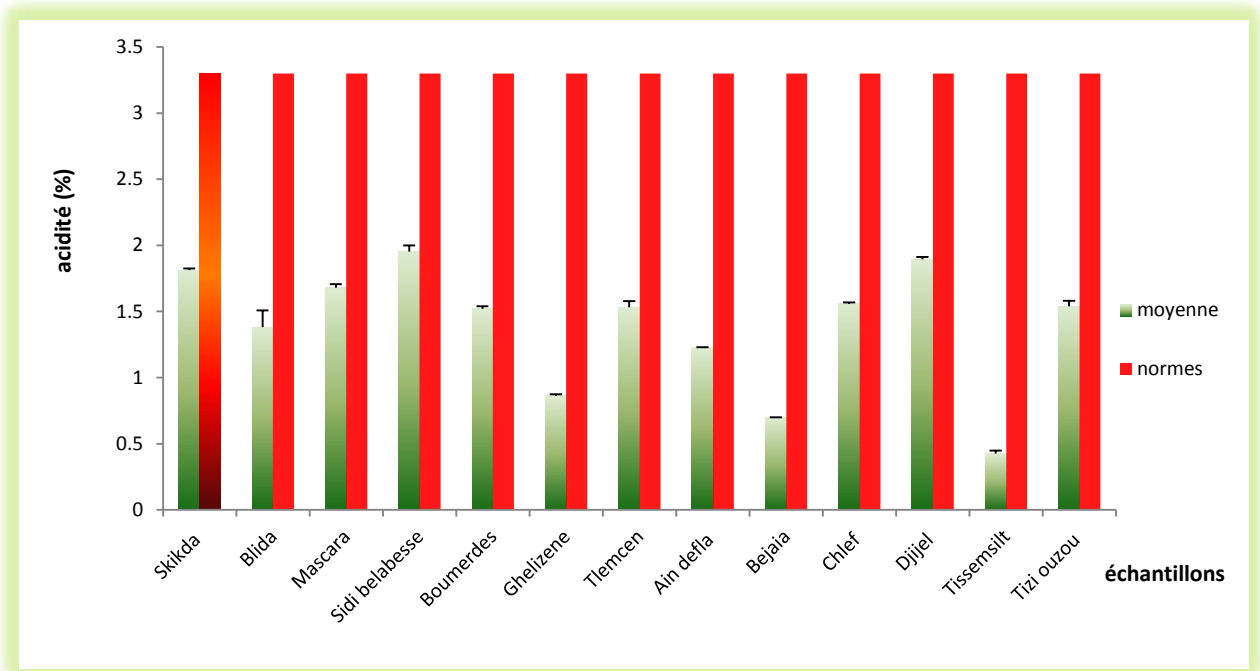
D'après l'étude statistique, la différence dans la teneur en eau entre les huiles de Ain Defla, Sidi Bel Abbés et Tlemcen est non significative ( $p > 0,05$ ) et sont dans le même groupe (a).

Les fluctuations entre les valeurs peuvent être expliquées par l'effet de stade de maturation des fruits, car la teneur en eau des olives diminue avec leur maturation (Cimato, 1990). Elle est aussi reliée au processus métabolique qui pourrait survenir à l'intérieur des fruits caractéristique pour chaque variété (Leonardi et *al.*, 2002).

## **2.2. Caractéristiques chimiques**

### **2.2.1. Indice d'acide et l'acidité**

L'indice d'acide est un critère chimique de fraîcheur et de pureté de l'huile, il nous renseigne sur son degré d'altération (Ollé, 2002).



**Figure 29:** Résultats de l'acidité libre des échantillons d'huile d'olive

D'après la figure 29, l'acidité des treize échantillons n'a pas excédé les limites fixées par le COI (2016a) et le COI (2019), tandis que l'analyse statistique par l'Anova a décelé une différence hautement significative ( $p < 0,0001$ ) et nous a permis de classer les huiles en plusieurs groupes dont les plus importants sont:

Le groupe a comportant les huiles de : Sidi Bel Abbés et Jijel avec une valeur d'acidité de l'ordre de  $1,95 \pm 0,04\%$  et  $1,89 \pm 0,01\%$  respectivement ;

le groupe b où figure les échantillons des huiles de Jijel et skikda ;

et le groupe d avec les huiles de Chlef, Tizi Ouzou, Mascara, Tlemcen et Boumerdes.

Les huiles qui ont fait l'objet de cette étude sont classées en huiles d'olive vierge extra avec une acidité inférieure à 0,8% (Relizane, Bedjaia et Tissemsilt) et huiles vierge avec une acidité située entre 0,8% et 3,3% (Chlef, Ain Defla, Mascara, Tizi ouzou, Jijel, Blida, Boumerdes, Sidi Bel Abbés, Skikda et Tlemcen).

Les valeurs de l'acidité de nos huiles sont dans le même intervalle que celles enregistrées par Benabid et *al.*, (2008) (valeurs comprises entre 0.77% et 9.26%) pour des huiles de l'est algérien ; Bendi Djelloul (2016), qui a enregistré des taux d'acidité variable entre 0,6% et 2,8% dans des huiles d'olive algérienne ; par contre elles sont plus élevées que



celles rapportées par Lainer et *al.*, (2014) et Mansouri et *al.*(2017) pour des huiles du centre et de l'est algérien où elle n'a pas dépassé 0,8%.

Nos échantillons sont aussi plus acide que des huiles tunisienne avec des teneurs comprise entre 0,38 et 0,41% d'acide oléique analysés par Zarrouk et *al.*(2008) qui sont proches des huiles espagnoles (acidité de 0,10 à 0,25 %) caractérisées par Pardo *et al.*(2007) et des variétés d'huiles européennes introduites en Tunisie dont les teneurs ont varié entre 0,11 et 0,28 % (Dabbou *et al.*, 2010). Par contre, elles sont moins acides que celles caractérisées par Boulfane et *al.*, (2015) pour lesquelles l'acidité libre est comprise entre 2 et 3,3 %.

Ces différences peuvent être expliquées par l'influence du cultivar et le degré de maturité des olives ; car l'acidité des huiles augmente avec la récolte tardive des fruits comme l'annonça El Qarnifa (2019).

Les travaux de Mouawad et *al.* (2005) sur des huiles d'olives libanaises ont montré que l'acidité n'est pas affectée par le sol mais par le système d'extraction. Chimi (2006) a rapporté que l'huile extraite par presse est caractérisée par un degré d'oxydation et une acidité élevée.

Ryan et *al.* (2002) ont indiqué que la qualité de l'huile d'olive est liée au mode et à la durée de stockage des olives avant l'extraction. De même, Yousfi et *al.* (2006) ont élucidé que l'acidité de l'huile de la variété Arbequina passe de 0,13% à 0,29 % au bout d'un mois et demi de maturation. En effet, plus le temps de stockage est long, plus l'acidité libre dans le fruit est importante, ce qui déprécie et dégrade la qualité organoleptique du produit d'extraction.

Jean Marc et Mirielle (2003) affirment dans leur études que l'acidité oléique doit être utilisée comme une spécification de composition et non de qualité parce qu'il n'y a aucune corrélation entre la quantité d'acides gras libres et leurs état d'oxydation.

Inversement et d'après Grati-Kamoun en (2007) l'acidité est un critère de qualité de l'huile d'olive et ne devrait guère dépasser 0,3% lorsque l'huile est obtenue à partir d'olives récoltées à la main et transformées rapidement avec peu ou sans temps de stockage et à un stade de maturité approprié (pas très avancé).

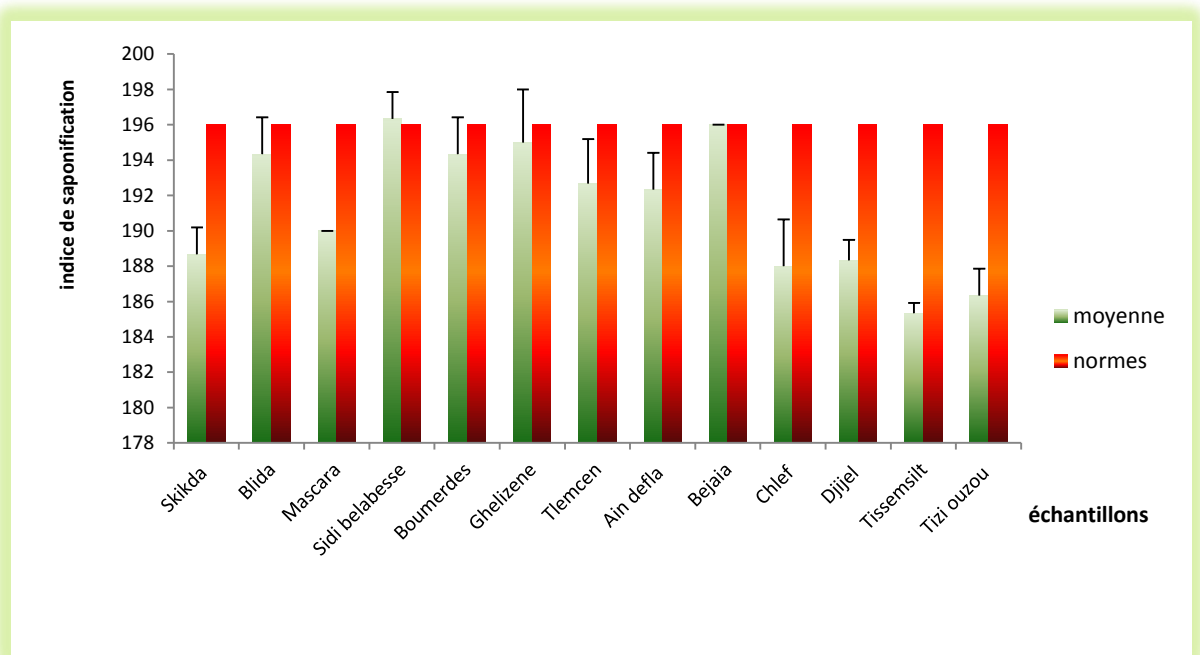
Adnan et *al.* (2015) ; Gouvinhas et *al.* (2017) déclarent qu'au niveau du moulin, le mode d'extraction des huiles, ainsi que leur stockage jouent un rôle important dans la réduction de leur qualité. La modification la plus importante que l'on rencontre est

l'oxydation ou rancissement qui est causé par plusieurs facteurs, comme l'oxygène, la lumière, la température, facteurs qui favorisent un certain nombre de phénomènes en l'occurrence la fermentation (Catania et *al.*, 2017) .

Le contenu en acides gras libres d'une huile est un indicateur de la qualité, de la fraîcheur du fruit et de la stabilité de l'huile pendant le stockage ; mais aussi de l'activité de la lipase, dont l'acidité augmente avec la maturité du fruit d'olive, suite à une augmentation de l'activité enzymatique spécialement l'enzyme lipolytique qui provoque les dommages tissulaires des fruits (Boskou, 2009 ; Boudour Benrachou et *al.*, 2017).

### 2.2.2. Indice de saponification

Les résultats donnés dans la figure 30 révèle que conformément aux normes internationales du COI (2019) ; L'indice de saponification de nos échantillons a varié de  $185,33 \pm 0,57$  à  $196,33 \pm 1,52$  avec des différences hautement significative ( $p < 0,0001$ ).



**Figure 30:** Résultats de l'indice de saponification des échantillons d'huile d'olive

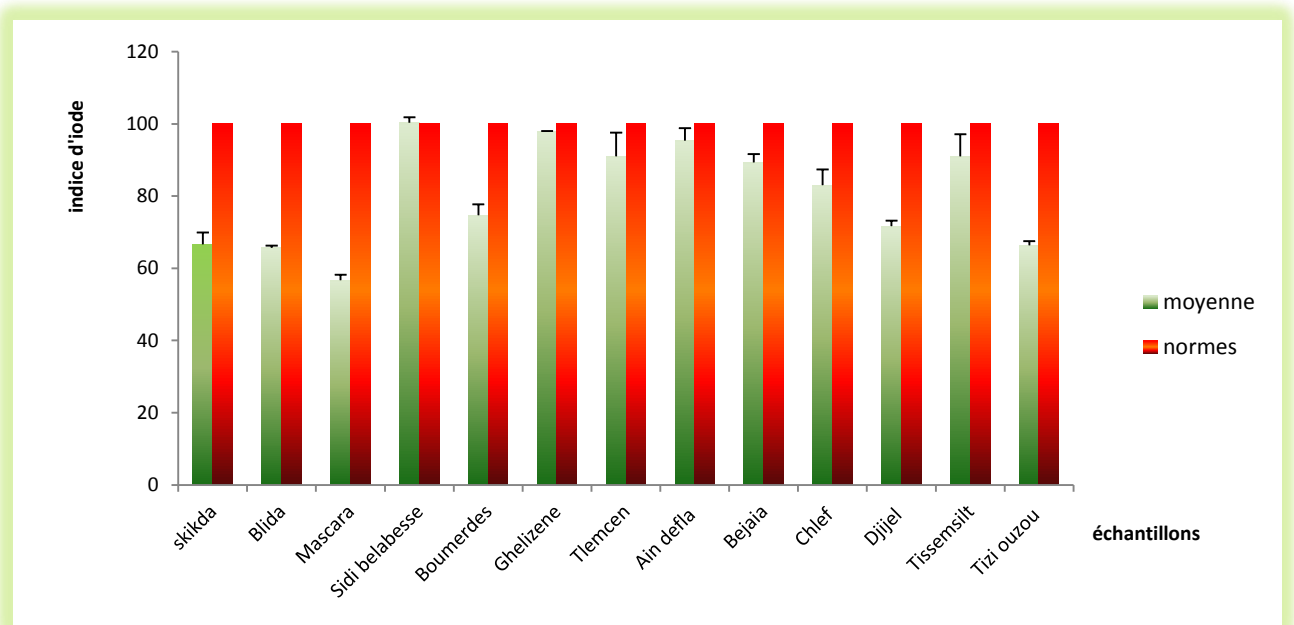


Quatre grands groupes ont apparu selon Anova. Le groupe « a » rassemble les échantillons d’huiles les plus recherchées en industrie de savonnerie avec des valeurs d’indice de saponification variant de  $192,33 \pm 2,08$  à  $196,33 \pm 1,52$ , et le groupe « d » où figurent les huiles avec les indices les plus faibles. Les huiles que nous avons utilisées présentent des indices de saponification plus faibles que ceux des huiles de Benabid (2009) dont les valeurs d’indice de saponification de ses échantillons ont variée entre 182,36 jusqu’à 201,05 ; mais dans le même intervalle que ceux de Bouchenak et *al.*, (2018) pour des huiles d’olive algérienne (valeurs comprises entre 197,75 et 186,53).

L’indice de saponification d’une huile varie en fonction de son origine géographique et aussi selon le procédé utilisé lors de son extraction (Hillali, 2005).

### 2.2.3. Indice d'iode

L’indice d’iode donne une indication globale sur l’insaturation de l’huile (présence d’acides gras insaturés).



**Figure 31:** Résultats de l’indice d’iode des échantillons d’huile d’olive

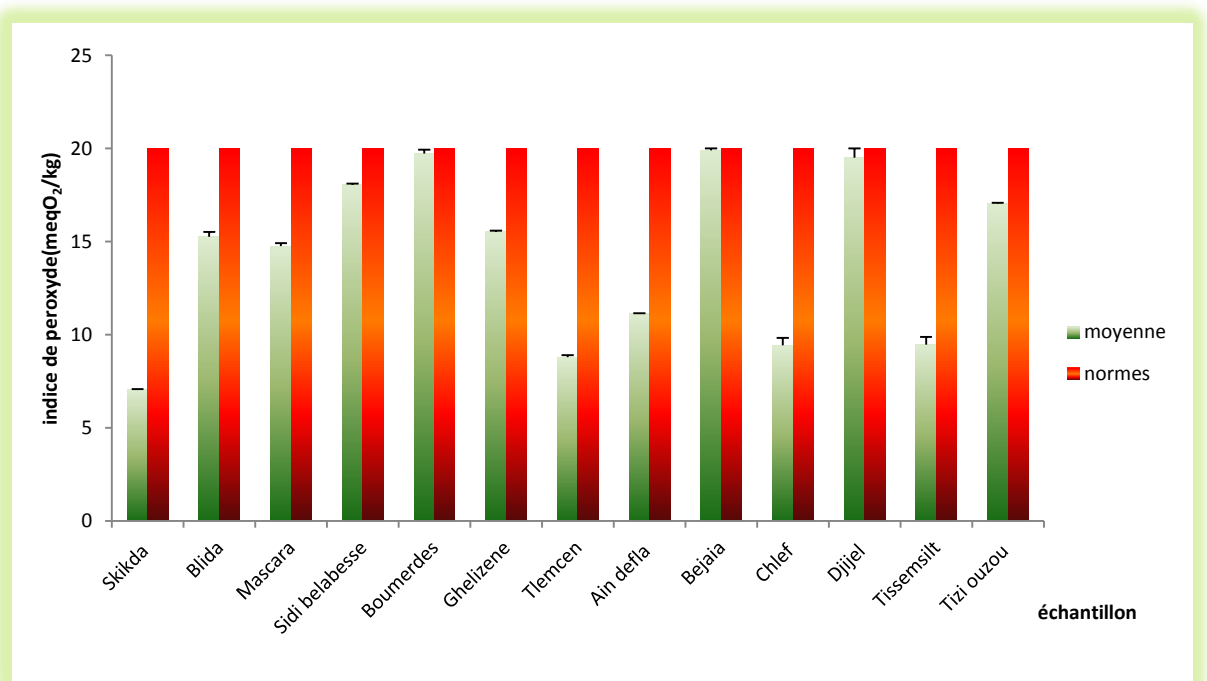


En examinant les résultats indiqués dans la figure 31, il en ressort que les indices d'iode de tous les échantillons ont des valeurs comprises entre 66 et 100 et sont conformes aux normes fixées par le COI (2015). Bouchnak et *al.* (2018) ont annoncé des valeurs d'indice d'iode similaires avec un maximum de 94,4 pour l'huile de Jijel et un minimum de 55,12 pour l'huile de Dellys. De même, Benabid (2009) a enregistré des teneurs comprise entre 77,18 et 86,71 pour des huiles d'olive algérienne.

La différence entre les échantillons est hautement significative ( $p < 0,0001$ ), pour cette raison, ils ont été regroupés en six groupes différents. La valeur la plus faible d'indice d'iode a été enregistrée avec l'huile de Mascara ( $56,66 \pm 1,52$ ) qui a possédé l'extinction spécifique la plus faible.

#### 2.2.4. Indice de peroxyde

La figure 32 montre que les valeurs d'indice de peroxyde sont conformes aux normes prescrites par le COI (2016) ( $22 \text{ meqO}_2/\text{kg}$ ). En outre, la différence entre les échantillons a été hautement significative ( $p < 0,0001$ ) et les a dispersés sur huit groupes différents.



**Figure 32:** Résultats de l'indice de peroxyde des échantillons d'huile d'olive



Comparativement aux résultats trouvés par Bendi Djelluol (2016) qui varient entre 6.7 et 14,66 meq d'O<sub>2</sub>/Kg, les indices de peroxydes de nos huiles sont dans le même ordre. Ils sont proches de ceux des huiles turques caractérisées par Ocakoglu *et al.* (2009), avec des valeurs qui se situent entre 7,37 et 16,08 meq d'O<sub>2</sub>/Kg. Alors qu'ils sont plus inférieurs que certaines huiles italiennes pour lesquelles, les indices de peroxyde oscillaient entre 5,3 et 24 meq d'O<sub>2</sub> /Kg (Del Carlo, 2004).

Les indices de nos huiles sont plus élevées que ceux rapportées par Haddada *et al.* (2008) pour des huiles tunisiennes (2,63 et 7,90 meq d'O<sub>2</sub>/Kg) ; Salvador *et al.* (2003) pour des huiles d'olive de différentes régions oléicoles du centre de l'Espagne (7,8 et 12,9 meqO<sub>2</sub>/kg).

L'indice de peroxyde estime l'état d'autoxydation de l'huile; c'est un mécanisme lent mais inéluctable. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (température élevée, eau, enzyme, trace de métaux : Cu, Fe...). Cette autoxydation ou rancissement aldéhydique conduit dans un premier temps à la formation de peroxyde (ou hydroperoxydes) qui se décomposent ultérieurement en dérivés carbonyles aldéhydes et hydrocétones (responsables de l'odeur de rance) et en divers produits oxygénés (alcools, acides...)( Benrachou, 2013).

Il faut noter également que l'indice de peroxyde augmente avec la maturité des olives, et surtout à la suite d'un choc thermique consécutivement à un gel ou à un processus de fabrication défectueux. Le stockage inadapté ou prolongé est également une des causes d'augmentation de ce paramètre.

D'après Mouawad *et al.* (2005) l'indice de peroxyde est influencé par l'altitude. Selon Sanchez Casas *et al.* (1999), il pourrait être retenu pour contrôler les problèmes de production, en particulier les problèmes qui peuvent se produire après la récolte et au cours de la transformation (Cecchi *et al.*, 2006 ; Bouchenak, 20018).

### **2.3. Résultats de la caractérisation microbiologique des huiles**

Les résultats obtenus de cette caractérisation indique l'absence totale d'une croissance microbienne à la surface des différents milieux de culture utilisés car l'huile d'olive est considérée comme un substrat défavorable à la croissance d'une microflore microbienne. Ce résultat s'accorde avec plusieurs études antérieures. A titre d'exemple, Cifardini *et al.* (2013) ; Zullo *et al.* (2018) ont montré que le procédé d'extraction de l'huile d'olive spécialement la



malaxation et la séparation de la phase aqueuse évite la contamination de l'huile nouvellement produite par les bactéries tels que les coliformes et même par les levures tels que *Candida parapsilosis* provenant des fruits, des opérateurs ou des moulins.

Cependant, l'huile d'olive nouvellement extraite peut être contaminée plus tard par des coliformes et autres, qui peuvent survivre et se reproduire dans cet habitat si la teneur totale en composés phénoliques est trop faible. Les résultats de cette étude démontrent aussi que les phénols polaires de l'huile d'olive peuvent empêcher la survie des *E. coli* présents dans le produit après le processus d'extraction, uniquement en présence de concentrations suffisantes,

Grâce à l'identification moléculaire, 72 isolats regroupés en 36 clusters ont été élucidés par Francello et *al.* (2020) dans des huiles d'olive italienne en utilisant des méthodes moléculaires. Les principaux isolats appartenaient principalement à *Bacillus spp.*, *Brevibacillus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Pantoea spp.*, *Lysinibacillus spp.*, *Kocuria spp.*, et *Lactobacillus spp.*

Dans le même contexte, Ils ont conclu qu'il existe différentes espèces bactériennes et que la fréquence et la diversité de ces espèces dépendent de la variété d'olive. Ces espèces sont typiques aux environnements naturels, tels que les sols et les plantes ; mais aussi à l'environnement et à l'être humain.

En effet, les bactéries de l'huile d'olive, ainsi que les levures, peuvent influencer leurs propriétés sensorielles et chimiques pendant le stockage. Cependant, ils représentent également un réservoir de diversité microbienne qui nécessite une réflexion plus approfondie.

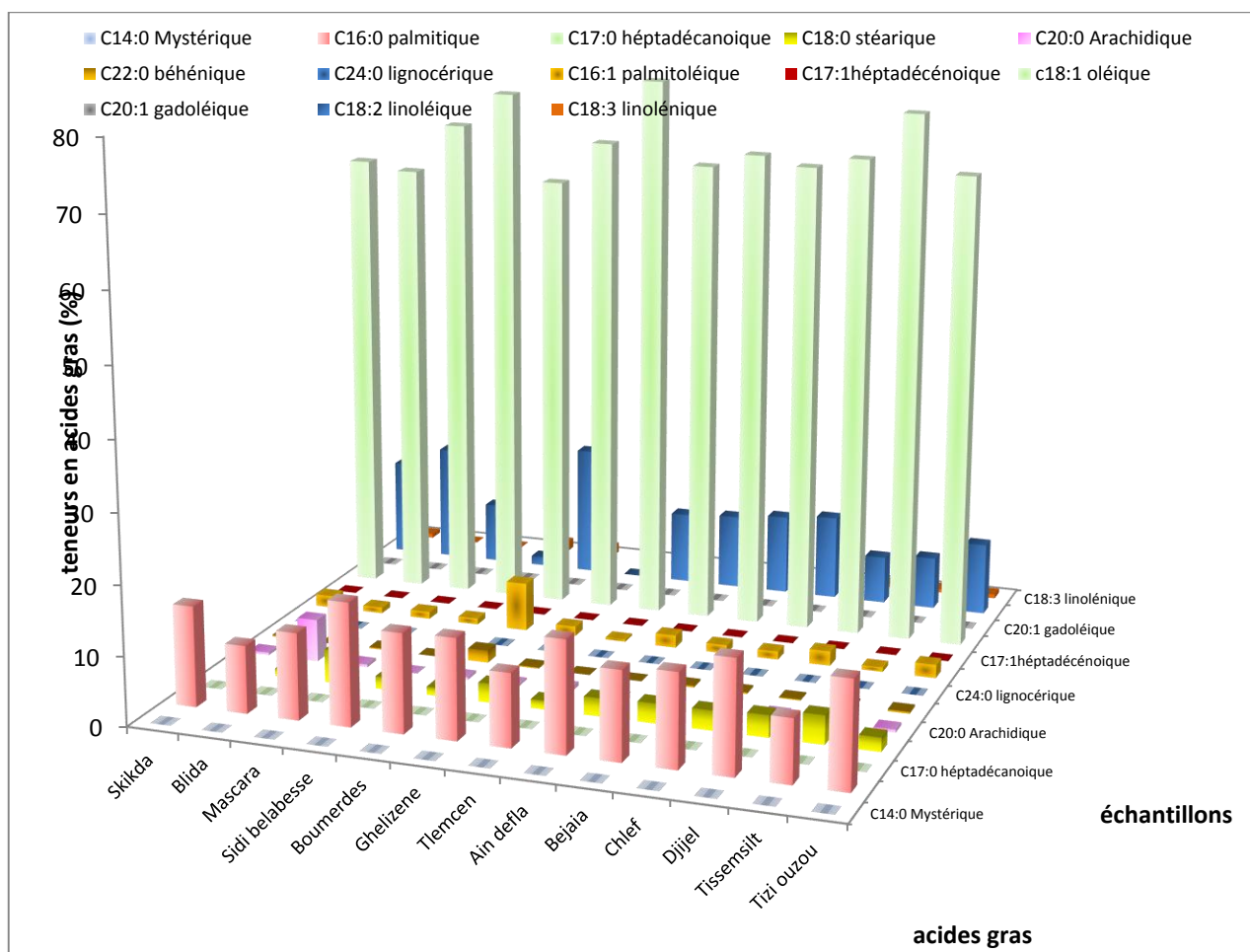
Certaines espèces trouvées présentent un potentiel biotechnologique intéressant pour la bioconversion industrielle des lipides, des graisses et des huiles en produits de grande valeur. Tandis que d'autres sont des rhizobactéries qui stimulent la croissance des plantes ou peuvent être utilisées comme des substituts d'engrais chimiques, détoxifiant naturel ou encore sous-produits agro-industriels. De plus, *Bacillus spp.* et *L. rhamnosus* ont un potentiel probiotique qui peut être exploré compte tenu de l'utilisation probiotique possible de certaines huiles d'olive extra vierges (Vuletin et *al.*, 2019).



### 3. Résultats de la détermination du profil des acides gras par chromatographie en phase gazeuse CPG

La composition en acides gras est un autre aspect essentiel de l'évaluation qualitative des huiles d'olive. En effet, ce paramètre revêt une grande importance pour leur classement et commercialisation. C'est également l'un des moyens utilisés pour s'assurer de l'adultération de l'huile et la détection des fraudes qui peuvent avoir lieu (Christopoulos *et al.*, 2004).

Certains auteurs ont classé les huiles d'olive selon leurs origines (Ranalli *et al.*, 1997); (Paz Aguilera *et al.*, 2005 ; Bouchenak , 2018), d'autres notent plutôt des variations minimales de taux d'acide gras principal (C18:1) chez la même variété d'olivier même si elle est cultivée dans des lieux différents (Gutierrez, 1999 ; Boudour Benrachou *et al.*, 2017).



**Figure 33:** profil des acides gras dans les échantillons d'huile d'olive



L'analyse de la composition des acides gras (figure 33), est qualitativement similaire entre les différents échantillons. Quantitativement, toutes les huiles étudiées présentent des teneurs en différents acides gras répondant aux normes établies par le COI (2019) ; malgré les différences hautement significatives enregistrées ( $P < 0,0001$ ).

L'acide oléique (C18 :1) est l'acide gras dominant, toutes les huiles étudiées ont des proportions supérieures à 60 %. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans les huiles de Tlemcen (79,6%), Tissemsilt (77,02%) et Boumerdes (70,9 %). Les plus faibles sont celles de Blida (64,16 %) et Boumerdes (63,91 %). Par ailleurs, les huiles d'olive de Mascara et de Jijel se distinguent par les valeurs les plus élevées en acide stéarique (4,83 % et 3,21 % respectivement).

Ces taux sont très proches de ceux obtenus pour des huiles d'olive algériennes (Bendi Djelloul, 2016), tunisiennes (Haddada et *al.*, 2007), marocaines (El Antari et *al.*, 2003), turques (Gurdeniz et *al.*, 2008) et palestiniennes (Abu-Reidah et *al.*, 2013) où les teneurs d'acide oléique ont oscillé entre 67.24 % et 72.27 %; tandis qu'ils sont supérieurs à ceux enregistrées dans des huiles d'olive tunisiennes analysées par Issaoui et *al.* (2010) et espagnole (Pardo et *al.*, 2007 ; Allalout et *al.*, 2009),

Quant à l'acide linoléique, les teneurs les plus élevées sont enregistrées dans les huiles de Boumerdes et Blida avec des valeurs de l'ordre de 17,16 et 15,18%, respectivement. Valeurs proches de la norme (21%). Ceci peut être expliqué par l'utilisation d'olives résultant d'une récolte tardive qui favorise selon Cimato (1990) l'augmentation du taux des acides gras insaturés, notamment l'acide linoléique, au dépend de l'acide palmitique. Les pourcentages de l'acide linoléique trouvés dans les treize échantillons sont en accord avec ceux trouvés par Bendi Djelloul (2016) et proches de ceux d'Oueslati et *al.* (2009) pour une huile d'origine tunisienne.

D'autres acides gras qualifiés de minoritaires (teneur inférieur à 1%) et qui sont considérés, d'après Bertuccioli et *al.* (2014), comme indicateurs variétal sont présents dans nos échantillons tels que l'acide béhénique et l'acide arachidonique.

Nous avons trouvé, également, la présence de l'acide linoléique dans tous les échantillons avec des teneurs variant de 0,52 % à 1,66 %.

La teneur en acides gras de l'huile d'olive varie en fonction de la zone de production, la latitude, le climat, la variété et le stade de maturation du fruit. Baccouri et *al.* (2008) ont



prouvé que le ratio acide oléique/acide linoléique montre une tendance à baisser avec la maturité des olives. Les huiles grecques, italiennes et espagnoles sont pauvres en acides linoléique et palmitique ; mais elles présentent un pourcentage élevé en acide oléique inversement aux huiles marocaines et tunisiennes qui sont riches en acides linoléique et palmitique et pauvres en acide oléique (Benlemlih et Ghanam, 2012).

#### 4. Etude des acides gras saturés et insaturés et le rapport entre eux

Il faut signaler que la composition en acides gras obtenue révèle une prédominance des acides gras mono insaturés (IGM) (tableau 11). Le pourcentage des acides gras insaturés varie légèrement en fonction des échantillons étudiés. Il varie entre 83,23 % pour l'échantillon de Blida et 85,42 % pour l'échantillon de Tissemsilt. Cependant, le pourcentage en acides gras saturés oscille entre 12,06 pour l'huile de Tlemcen et 20,19 % pour l'huile de Jijel.

**Tableau 11:** teneurs en AGS, AGI et leur rapport dans les échantillons d'huile d'olive

huiles /AG	AGS (%)	AGMI (%)	AGPI (%)	AGI/AGPS (%)
<b>Skikda</b>	18,18	67,23	14,82	4,83
<b>Blida</b>	16,97	64,55	18,68	4,90
<b>Mascara</b>	17,98	71,61	10,58	4,57
<b>Sidi bel Abbes</b>	19,51	77,73	2,8	4,12
<b>Boumerdes</b>	11,73	71,15	18,69	7,65
<b>Relizene</b>	17,67	71,81	10,77	4,76
<b>Tlemcen</b>	12,06	80,32	11,76	7,63
<b>Ain defla</b>	18,72	68,09	11,77	4,62
<b>Bejaia</b>	16,42	71,35	12,57	5,11
<b>Chlef</b>	17,14	70,09	13,18	4,84
<b>Jijel</b>	20,19	72,39	7,55	3,95
<b>Tissemsilt</b>	14,73	77,18	8,24	5,79
<b>Tizi ouzou</b>	18,15	70,67	11,18	4,50



Le rapport entre les acides gras insaturés et les acides gras saturés (AGI / AGS) montre une fluctuation en fonction des échantillons étudiés. Ce rapport est très faible pour l'huile de Jijel (3,95%) et plus élevé pour l'huile de Tlemcen (7,63%). Par contre les autres échantillons ont un rapport situé entre 4% et 5,7%. Ce rapport est utilisé comme paramètre de stabilité et plusieurs études ont montré qu'un rapport élevé engendre une stabilité oxydative importante et une valeur nutritionnelle exceptionnelle (Ryan et *al.*, 1998 ; Aparicio et Luna, 2002 Abaza et *al.*, 2003 ; Haddada et *al.*, 2007 ; Boudour Benrachou et *al.*, 2017).

Les taux d'acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) varient en fonction des huiles et de la variété. Des variations cultivar-dépendante en profils d'acide gras des variétés d'huile d'olive sont relevées par plusieurs auteurs (Inglese, 1994 ; Di Bella et *al.*, 2007 ; Allalou et *al.*, 2009).

Zarrouk et *al.* (1996), Aranda et *al.* (2003) ; Abaza et *al.* (2003), Ben Temmime et *al.* (2006), Dabbou et *al.* (2010) estiment que la composition en acides gras de l'olive change en fonction des étapes de développement et de maturation. Quant à Baccouri et *al.*, (2007), ils ont montré que le contenu des acides gras de l'huile d'olive notamment les acides oléique, palmitique et linoléique Joue un rôle important dans la préservation de l'huile durant la conservation et sont quantitativement affectée par le cultivar , l'origine, la maturation du fruit, la période de récolte et les conditions pédoclimatiques de la production.

### **Discussion générale**

De la caractérisation organoleptique et physico chimique des treize échantillons testés, nous déduirons que les huiles de Jijel, Bejaia et Boumerdes ont été fabriqués sans respect des bonnes pratiques de fabrication (exposition des huiles à l'air lors de la trituration, mal conservation des olives et utilisation d'olives abimés..) comme ils ont été mal préservés.

Les différences hautement significatives signalées sont dues à plusieurs facteurs ; en l'occurrence la maturité des olives où une maturité importante des olives. Cette dernière est associée à une diminution de l'amertume, elle provoque également une légère augmentation de l'acidité de l'huile d'olive tandis qu'elle diminue la teneur en eau et l'indice de peroxyde. Elle provoque aussi une modification dans le profil des acides gras où la teneur des acides oléiques et palmitique diminue au profit de l'acide linoléique quand la peau du fruit passe du vert au semi noir (El Qarnifa, 2016 ; Haung et *al.*, 2020). C'est le cas des échantillons de Jijel,



Bejaia et Boumerdes qui ont été plus oxydées. Cette constatation a été également renforcée par les appréciations des dégustateurs qui ont trouvé un goût de rance dans ces huiles.

Le processus de maturation des olives dure quelques mois au cours desquels l'atmosphère, l'environnement, les conditions climatiques et agricole jouent un rôle important malgré le contrôle génétique strict qui peut être appliqué (Rohman et *al.*, 2019 ; Violino et *al.*, 2020).

La saison de récolte, les conditions environnementales, la zone géographique et le cultivar sont à l'origine des différences significatives montrées par Giuffre (2013) dans la composition en triglycérides des échantillons d'huile d'olive produits en sud de l'Italie. Sous les mêmes conditions agronomiques et microclimatiques, elle a constaté en 2017 que le cultivar et l'année de récolte affectaient considérablement la biométrie des drupes et la composition de l'huile d'olive.

Pradoxalement, Baiano et *al.* (2013) ; Mansouri et *al.* (2018); Jimenes carvelo et *al.* (2019) ont mis l'accent sur le comportement variable des différents cultivars vis-à-vis des conditions climatiques, ces différences ont touché la composition de l'huile d'olive spécialement la teneur en acides gras et pas les indices de qualité qui ont resté toujours dans les normes.

Parallèlement, en Tunisie El Gharbi et *al.* (2018) ont montré que la zone géographique joue un rôle majeur dans la détermination des caractéristiques de qualité de l'huile d'olive. Elle semble avoir un effet significatif sur sa composition chimique. Ce comportement peut s'expliquer par la variabilité des caractéristiques du sol et des conditions climatiques (précipitations, température et humidité) entre les différentes régions (Lopez et *al.*, 2019).

Contrairement, (Christophoridou, 2017 ; Vera et *al.*, 2019 ; Katerinopoulou, 2020) ont montré que l'origine géographique peut conduire à des caractéristiques chimiques distinctes reflétant les conditions environnementales et du sol dans lesquelles les olives sont cultivées. Où les huiles d'olive extra vierge d'appellation protégées sont caractérisées par des différenciations géographiques, de cultivar et de culture qui sont à l'origine de la saveur et la qualité unique de ces huiles AOP.

Ranalli et *al.* (1997), et Kiritsakis (1998), signalent que l'origine géographique n'a aucune influence significative sur les paramètres analytiques qui, sont fondamentalement



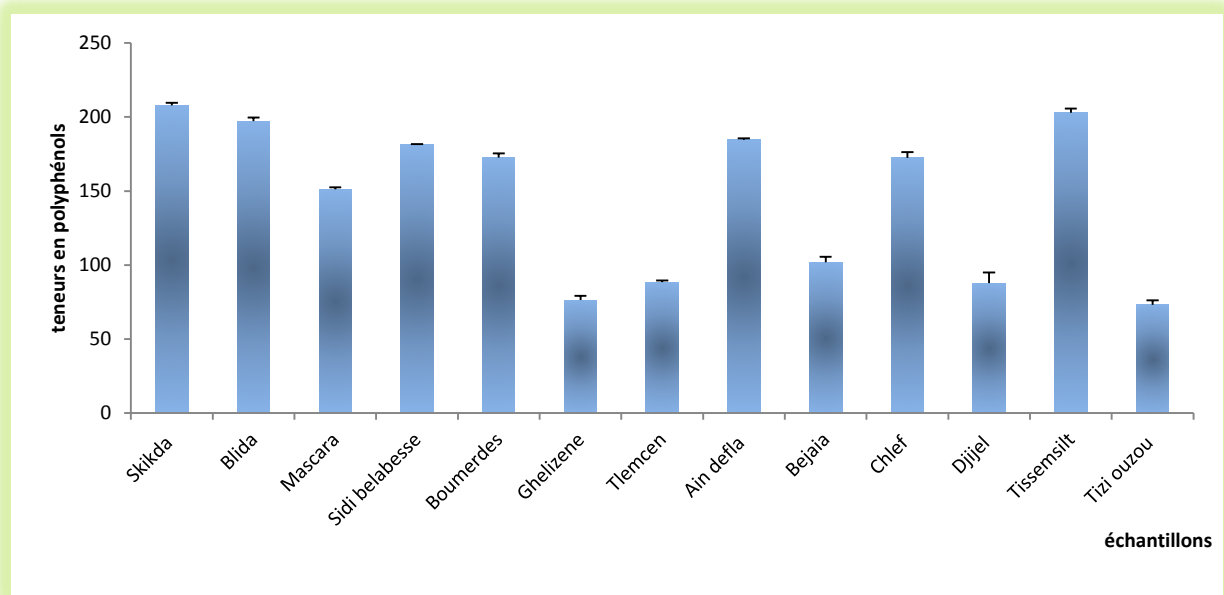
affectés par des facteurs endommageant les fruits tels que l'attaque par les mouches, le matériel de la récolte, le transport et le stockage des olives.

L'irrigation, le stockage, les procédures d'extraction, l'exposition à la lumière, la température élevée et l'oxygène sont tous de naturels adversaires de l'huile d'olive et contribuent à sa détérioration, ajoutant l'irrigation Patumi et *al.* (2001) ; Bousahel et *al.* (2020) ; Titouh et *al.* (2020).

## **Partie II : Résultats de l'évaluation de la teneur des huiles en quelques constituants de la fraction insaponifiable**

### **1. Teneurs en polyphénols totaux dans les échantillons d'huile d'olive**

Les teneurs en polyphénols totaux dans nos échantillons d'huiles étaient variables ; les plus élevées ont été enregistrées dans les huiles de Skikda, Tissemsilt, Sidi Bel Abbés, Blida, Ain Defla, Boumerdés, Chlef et Mascara (teneurs variables entre 207,97 et 151,12 mg/Kg). Alors que les huiles de Tlemcen et Tizi Ouzou ont montré des taux plus faibles avec des valeurs qui n'ont pas dépassé 74 mg/Kg (Figure 34).



**Figure 34:** teneurs en polyphénols totaux dans les échantillons d'huile d'olive



Les résultats que nous avons trouvés sont en parfaite concordance avec ceux trouvés par Rivas *et al.* (1998) ; Abouzar *et al.* (2010) et Veneziani *et al.* (2018). Alors qu'ils sont supérieurs à ceux mentionnés dans les travaux de Boukachabine *et al.* (2011) où la teneur en polyphénols totaux est estimée à 101 mg/Kg pour une huile obtenue de *Picholine marocaine* cultivée au Maroc.

Dans le même contexte, Bassi *et al.* (2002) ont trouvé une teneur de 181 mg/Kg pour l'huile obtenue de la variété (*Picholine marocaine*) cultivée en Italie qui était similaire à celle déclarée par Fraihat *et al.*(2017) en Arabie Saoudite (157 à 287mg/Kg ).

La variation des teneurs en polyphénols totaux semble être liée au profil variétal et à la zone géographique oléicole. Généralement, les huiles d'oliviers situés en altitude moyenne se montrent plus riches en phénols que celles des oliviers des plaines (Ocakoglu, 2009 ; Cifardini et Zullo ,2014 ; Kalogeropoulos et Tisimidou, 2014, Starec *et al.*, 2021).

Parallèlement, l'étude menée par Dabbou *et al.* (2011) montre que l'huile d'oléastre semble intéressante en termes de composés mineurs (polyphénols et composés volatils). Cette richesse est explicable par sa résistance avérée aux conditions critiques comme le stress hydrique (Durand et Terral, 2005). En effet, le taux de composés phénoliques est plus élevé dans les huiles provenant de cultures soumises à la sécheresse que celles des cultures irriguées (Tovar *et al.*, 2001 ; Tovar *et al.*, 2002 ; Talhaoui 2016 ; Gucci *et al.*,2019).

Morelló *et al.*(2005) ont conclu que l'activité des enzymes responsables pour la synthèse de composés phénoliques, tels que la L-phénylalanine ammoniac-lyase, diffère selon les conditions de l'eau. De plus, l'étude de Baccouri *et al.* (2008) sur les huiles d'oléastre montre que le facteur génétique influence la composition en phénols. La richesse en composés phénoliques des oléastres constituerait donc un critère de qualité.

Des différences en contenu phénolique ont été également constatées par rapport à la période de récolte, degré de maturité des olives et conditions climatiques de la Culture. Veneziani *et al.*(2018) ; El Qarnifa *et al.* (2019), ont noté une diminution significative de la teneur en composés phénoliques dans des huiles obtenus d'olives très mures récoltées tardivement.

Pendant la maturation des olives, l'activité photosynthétique diminue à mesure que la teneur en huile des fruits augmente (El Sohaimy *et al.*, 2016). Au premier stade de maturation

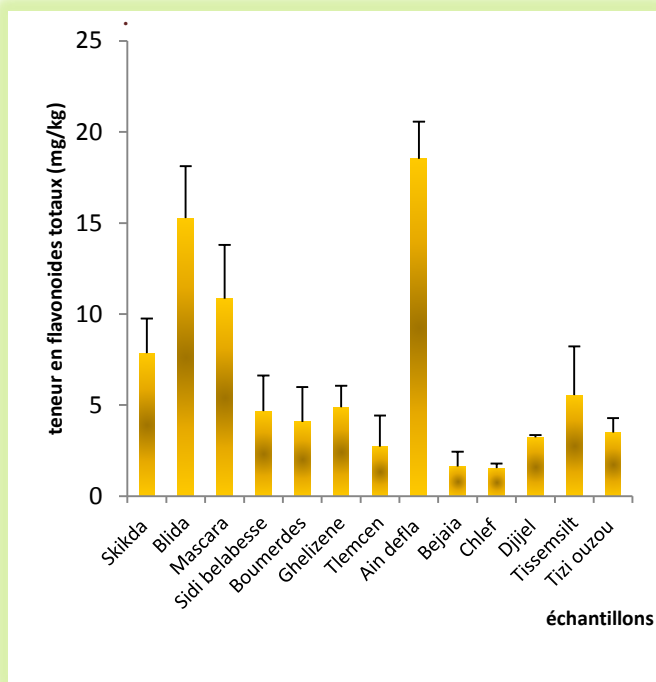


dénoté vert, les fruits mûrs ont déjà acquis leur taille finale, donc la maturation se poursuit et les chlorophylles dans la peau sont lentement remplacés par les anthocyanes faisant passer les olives du vert au violet foncé où ils ont la teneur en composés phénolique la plus élevée dans la phase entre le vert et la peau la plus foncée et par conséquent, le degré de maturation est un facteur important pour définir la bonne récolte qui produira la meilleure huile et peut être utilisé comme une clef pour choisir la composition voulue de l'huile d'olive.

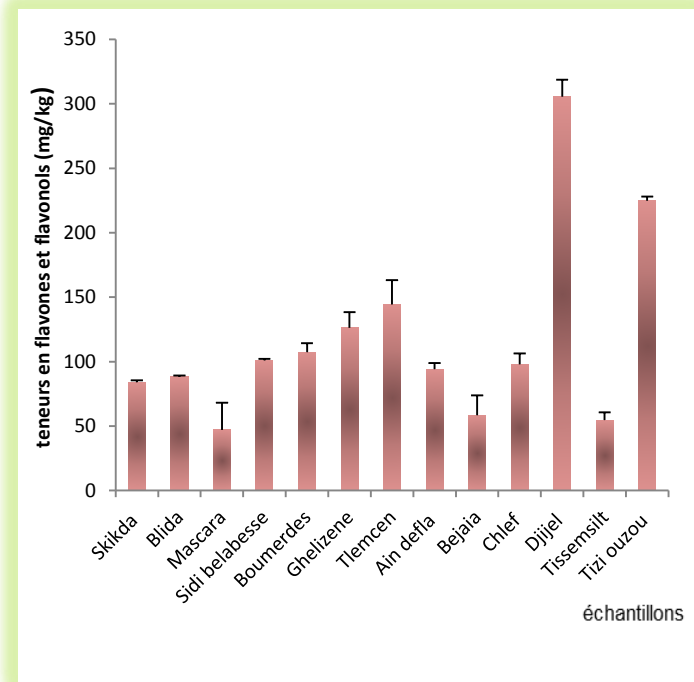
Plusieurs études (Kayel *et al.*, 1994 ; Fares *et al.* 2016 ; Lanza et Nifali, 2020) ont mis l'accent sur l'influence de la température et des procédés technologiques utilisés pour séparer la phase aqueuse de la phase huileuse sur la composition de l'huile d'olive en composés phénoliques.

## **2. Teneurs en flavonoïdes totaux, flavones et flavonols**

Les échantillons d'huile que nous avons utilisé ont enregistré des teneurs variables en flavonoïdes totaux (Figure 32) ; une différence entre les huiles de Chlef, Skikda, Blida, Maskara et Ain Defla a été constatée. Toutefois, aucune différence n'est enregistrée entre les teneurs en flavones et flavonols des huiles de Skikda, Sidi Bel Abbés, Boumerdés, Relizane et Ain Defla (Figure 35 et 36).



**Figure 35:** teneurs en flavonoïdes totaux dans les échantillons d'huile d'olive

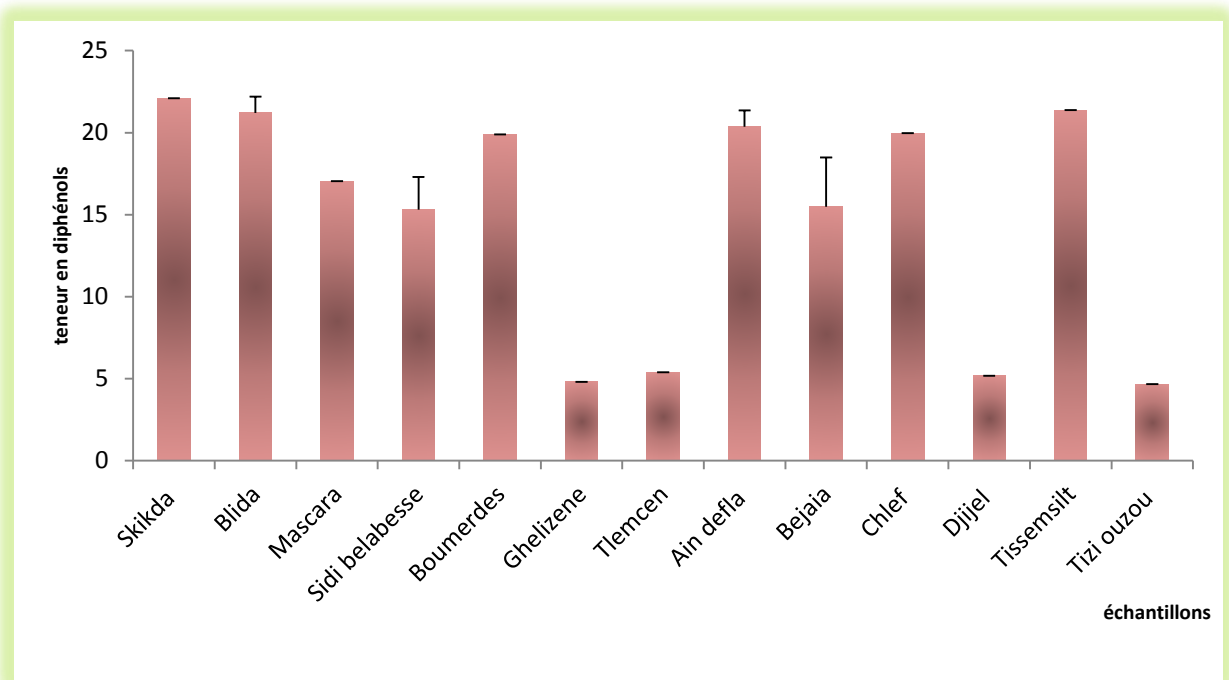


**Figure 36:** teneurs en flavones et flavonols dans les échantillons d'huile d'olive

Des constatations similaires ont été rapportées par Andjelkovic *et al.* (2009) qui ont mentionné des teneurs de flavonoïdes totaux situées dans l'intervalle de 3.91 mg/Kg à 15,6 mg/Kg détectés respectivement dans les huiles obtenus de la variété Sigoise (Sig) et Chemlal (Sidi Bel Abbés). La lutéoline et l'apigénine ont été les composés les plus pertinents dans ce groupe. La luteoline était le flavonoïde le plus abondant dans les échantillons analysés (2.45 mg/Kg pour Sigoise (Sig) et 10.16 mg/Kg pour Chemlal de Sidi Bel abbés) ; tandis que les concentrations de l'apigénine ont varié entre 1.46 mg/Kg pour Sigoise (Sig) et 5.44 mg/Kg pour Chemlal (SBA). Des valeurs plus faibles ont été obtenues par Criado *et al.* (2004), Ilyasoglu *et al.* (2010).



### 3. Teneur en O diphénols



**Figure 37:** teneurs en O diphénols les échantillons d'huile d'olive

D'après les résultats présentés dans la figure 37, il en ressort que les extraits de Skikda, Blida et Tissemsilt présentent les teneurs les plus élevées en O diphénol ( $22,1 \pm 0,9$  mg/ml ;  $21,2 \pm 1$  mg/ml et  $21,38 \pm 0,2$  mg/ml respectivement). Une forte corrélation positive a été établie entre la teneur en polyphénols totaux et en O diphénols ( $r = 0,92$ ) dans les extraits des huiles.

De même, Cerratani et *al.* (2006) ; Lainer et *al.* (2014) ont trouvé des corrélations positives entre les teneurs en polyphénols totaux et en O diphénols, ceci peut être expliqué par le fait que les O diphénols constituent une classe importante de polyphénols présents dans l'huile d'olive

Les composants mineurs de l'huile d'olive représentés principalement par les stérols, les phénols, les composés volatils, les tocophérols et les caroténoïdes, outre leurs propriétés nutritionnelles et bénéfiques pour la santé humaine, peuvent être utilisés pour l'authenticité de l'huile d'olive. Leur présence, leur profil et leur contenu sont uniques dans les olives, et cela se reflète dans l'huile correspondante (Christophoridou, 2017). Ils sont grandement affectés



par le cultivar d'olives au moment que l'effet de l'origine géographique reste discutable par certains auteurs comme Mikou et *al.* (2020).

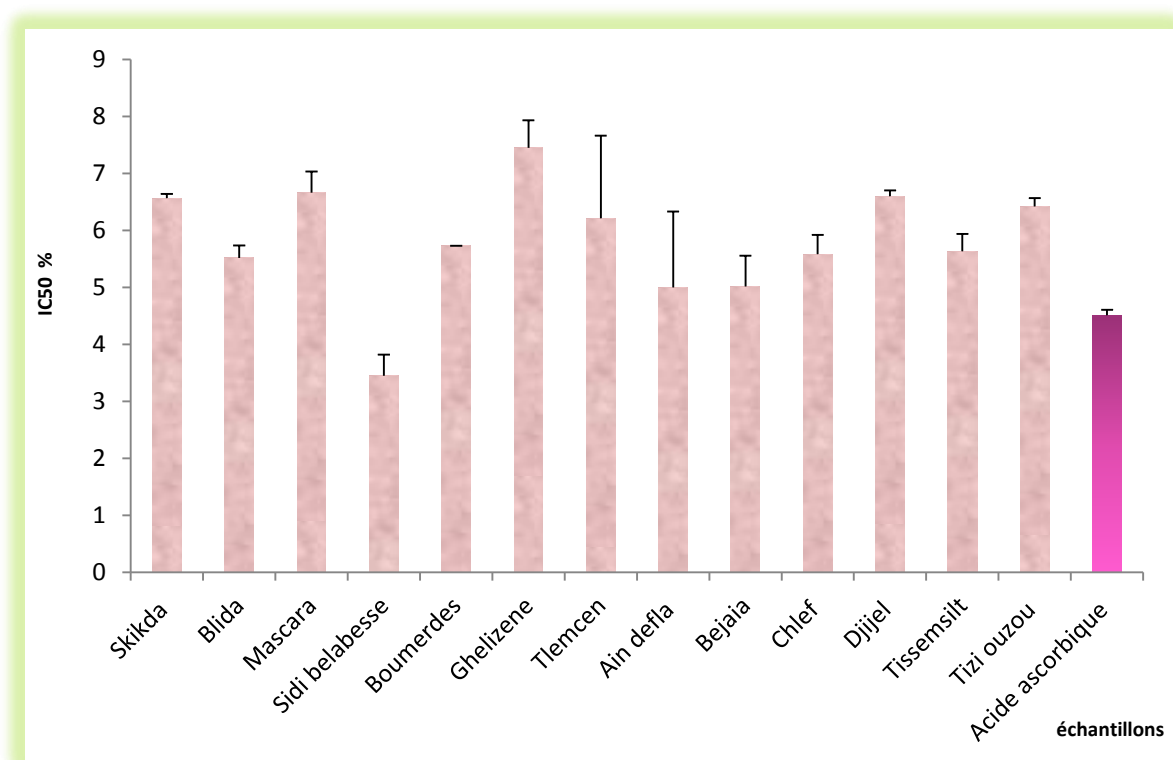
Le système d'extraction et les conditions de stockage influencent la conservation de l'huile. Une corrélation positive a été détectée entre la teneur en composés phénolique de l'huile d'olive et sa stabilité oxydative (George, 2019 ; Martín-Peláez, 2017).

Ces micronutriments fonctionnels sont des métabolites secondaires qui sont produits en réponse à des stimulations environnementales. En outre, les huiles d'olive vierges (VOO) à dénomination d'origine protégée (AOP) possèdent des marqueurs qui peuvent garantir de manière adéquate un produit de haute qualité pour les consommateurs en termes de cultivar, techniques de culture, périodes de récolte et méthodes d'extraction. Ainsi, l'authenticité de l'huile d'olive est devenue un sujet important d'un point de vue commercial et sanitaire.

### **Partie III : Résultats de l'activité antioxydante des treize échantillons d'huile d'olive**

#### **1. Réduction du DPPH**

Les plus importantes activités antioxydantes sont décelées avec les extraits phénoliques des huiles de Sidi Bel Abbés, Ain Defla, Bejaïa, Blida, Tissemsilt et Boumerdés dont l'IC50 a été supérieure de celui de l'acide ascorbique (Figure 38).



**Figure 38:** réduction du DPPH par les extraits phénoliques des différents échantillons d'huile d'olive

Une corrélation négative ( $r = -0,45$ ) est détectée entre les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux ( $r = -0,10$ ), en O diphénols ( $-0,43$ ) dans les huiles et la réduction du DPPH. Cette corrélation est assez faible ( $r = 0,32$ ) entre la teneur des huiles en flavones et flavonols et l'IC50 correspondante.

Dans le même contexte, Arslan et Ozcan (2011) ont mis l'accent sur l'étroite relation entre la nature des polyphénols et la réduction du DPPH. D'autre part, Othman et *al.* (2010) ont aussi montré la relation entre les IC50, la teneur et la nature des polyphénols, à l'opposé, d'autres études n'ont pas établie cette relation (Caporaso, 2016).

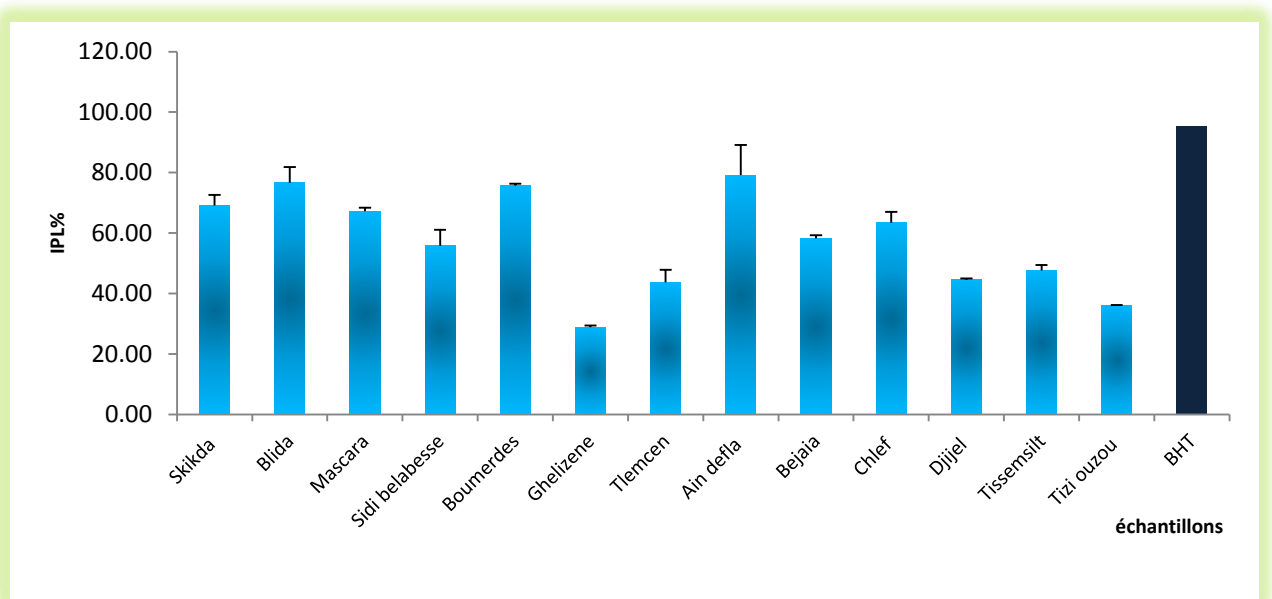
Ces résultats corroborent ceux de Cicerale et *al.* (2010); Lincer et *al.* (2014) qui ont affirmé que des variations de la capacité antioxydante des extraits poly phénoliques des différentes huiles pourraient être dues aux différences de la composition des extraits, notamment la présence de l'oleuropéine, du tyrosol et de l'hydroxytyrosol (trois polyphénols prépondérant dans l'olive et son huile) qui possèdent une activité antioxydante vis-à-vis du



DPPH. Inversement, Galvano *et al.* (2007) Condelli *et al.* (2015) ; koseoglu *et al.*(2016) ; Xiang *et al.*(2017) ont montré que les activités anti-radicalaires de l’huile d’olive sont corrélées positivement avec les teneurs en composés phénoliques et en  $\alpha$ -tocophérol.

## 2. Test de Blanchissement du $\beta$ -carotènes (BHT)

Les pourcentages d’inhibition de la peroxydation lipidique montrent que les extraits des huiles de Ain Defla, Boumerdés et Blida possèdent un très grand pouvoir inhibiteur vis-à-vis du radical peroxyde, avec des valeurs respectives de 79,18%, 75,68% et 76,63% (Figure 39).



**Figure 39:** résultats de réduction de blanchissement du  $\beta$  carotène par les extraits phénoliques des différents échantillons d’huile d’olive

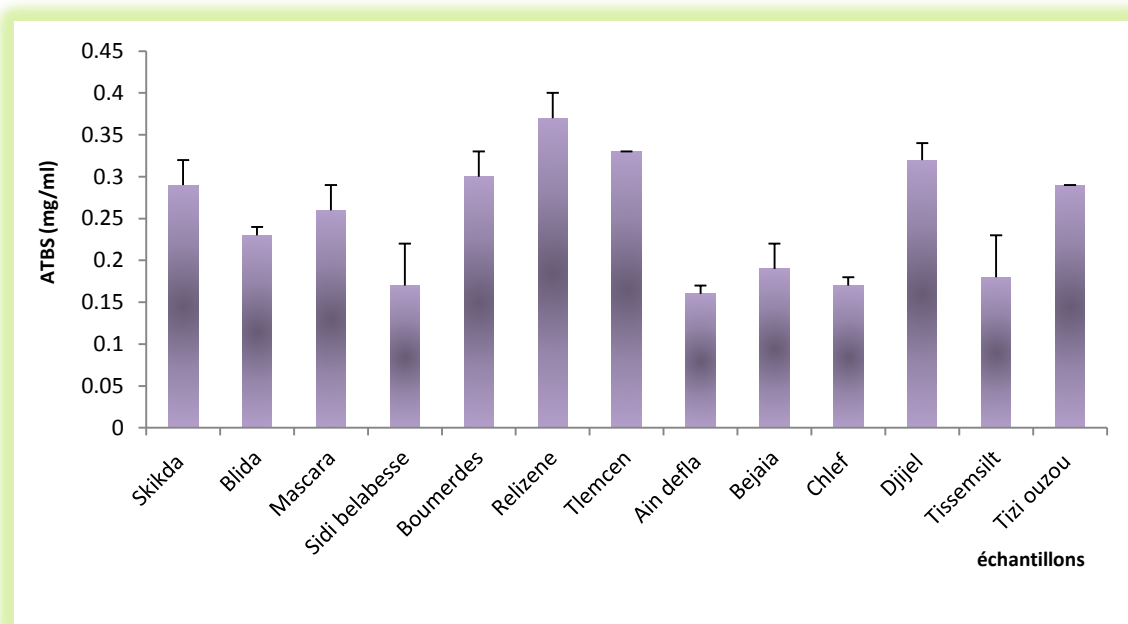
Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en diphénols sont fortement corrélée au blanchissement de  $\beta$ -carotène avec des coefficients de corrélation ( $r = 0,75$ ,  $r = 0,60$  et  $r = 0,83$  respectivement), ceci s’explique par la nature polaire des composés phénoliques présents dans ces échantillons d’huiles ; car la polarité et l’hydrophobicité des agents antioxydants sont deux facteurs importants dans les systèmes de biomembranes (Gambacorta *et al.* 2015).

Les résultats de cette étude sont similaires à ceux trouvés par Leporini *al.* (2018) pour des huiles monovariétales tunisiennes, comme ils ont établi une corrélation positive entre la teneur en polyphénols et l’activité anti-oxydante.



### 3. Test de piégeage des ABTS<sup>+</sup>

La meilleure neutralisation du radical ABTS<sup>+</sup> est mise en évidence par l'extrait de l'huile d'Ain Defla suivi par Sidi Belabès, Chlef et Tissemsilt (figure 40). Ils présentent les valeurs d'IC 50 les plus basses (0,16 mg/ml ; 0,17 mg/ml et 0,18 mg/ml respectivement). Tandis que les extraits de jijel, Tlemcen et Skikda ont montré une activité de piégeage ABTS<sup>+</sup> inférieure avec des valeurs d'IC50 plus élevées (0,32 mg/ml ; 0,33mg/ml et 0,29 mg/ml respectivement). Ces résultats sont très proches de ceux rapportés par Miniotti et Georgiou (2010).



**Figure 40:** résultats du test d'ATBS pour les extraits phénoliques des différents échantillons d'huile d'olive

Des corrélations négatives sont remarquées entre le test d'ATBS et les teneurs des huiles en polyphénols totaux ( $r = -0,60$ ) ; en flavonoïdes totaux ( $r = -0,26$ ) et en O diphénoles ( $r = -0,66$ ) ; tandis qu'une corrélation positive ( $r = 0,52$ ) est établit entre la teneur en flavones et flavonols et le test d'ATBS.

Malgré leur teneur élevée en composés phénoliques, les extraits de l'huile de Skikda présentent une activité antioxydante inférieure proche de 0,30 mg/ml. Cela peut s'expliquer par la qualité des polyphénols présents dans cet échantillon.



Les huiles d'olives riches en hydroxytyrosol libre et en lignanes présentent une activité antioxydante élevée (Lavelli, 2002). Concernant le pouvoir antioxydant des lignanes, Owen et *al.* (2000) ont montré l'existence d'une corrélation claire entre la capacité de piégeage des radicaux d'un extrait phénolique d'huile d'olive vierge et la concentration de lignane. L'activité antioxydante du pinorésinol était plus importante que l'activité de ligstroside aglycon, tyrosol (Carrasco-Pancorbo et *al.*, 2005).

Des résultats contradictoires sont relevés dans les études concernant la relation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité anti-oxydante.

Au moment que Leporinini et *al.* (2018) ont détecté une corrélation positive entre les teneurs en polyphénols totaux et l'activité antioxydante, Haung et *al.* (2020) ont annoncé que les concentrations les plus élevées de polyphénols totaux, de flavonoïdes et l'activité antioxydante la plus importante ont été trouvées dans des huiles d'olive pauvre en oleuropéine. En revanche, Laincer et *al.* (2014); ont confirmé l'effet synergique des différents composants phénoliques de l'huile d'olive d'où ils ont conclu que l'activité antioxydante est qualité dépendante, elle est en étroite relation avec la nature des polyphénols et non pas avec leur teneurs.

La capacité antioxydante des huiles d'olive est significativement corrélée avec les concentrations de tyrosol, d'hydroxytyrosol et d'oleuropéine. L'hydroxytyrosol comprenant plus de 40% des composés phénoliques totaux de l'huile d'olive a principalement contribué à l'activité anti-oxydante des huiles d'olives testées par Bayram et *al.* (2012). Cette activité est fortement corrélée avec la teneur en polyphénols, comme l'indique Negro et *al.* (2019). Ils ont prouvé également que le décarboxyméthyl oleuropéine aglycone et la décarboxyméthyl ligstroside aglycone sont les deux composés présentant une corrélation plus élevée avec les activités anti-oxydantes.

Les niveaux d'hydroxytyrosol, de la rutine, des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes totaux et les activités antioxydantes de l'huile d'olive diminuent avec la maturation des olives, donc les fruits récoltés à un indice de maturité plus faible semblaient être plus adaptés à la production d'huile d'olive extra vierge de haute qualité chimique (Negro et *al.*, 2019)

Bousahel et *al.*(2020) ont mis l'accent sur l'effet des cultivars sur les teneurs de l'huile d'olive en composés phénoliques et leur relation avec l'activité antioxydante où ils ont détecté



que les huiles issues des cultivars Tefahi et Manzanilla ont donné les activités les plus importantes par rapport aux autres cultivars. Ceci est attribuable à leur composition en composés phénoliques bioactifs, tels que les sécoiridoïdes, qui jouent un rôle important dans la santé humaine comme piègeurs de radicaux libres.

La qualité de l'huile d'olive est également attribuée à la présence, dans sa composition, de composants mineurs tels que les phytostérols, caroténoïdes, tocophérols et les phénols hydrophiles conférant à cette dernière une forte activité antioxydante.

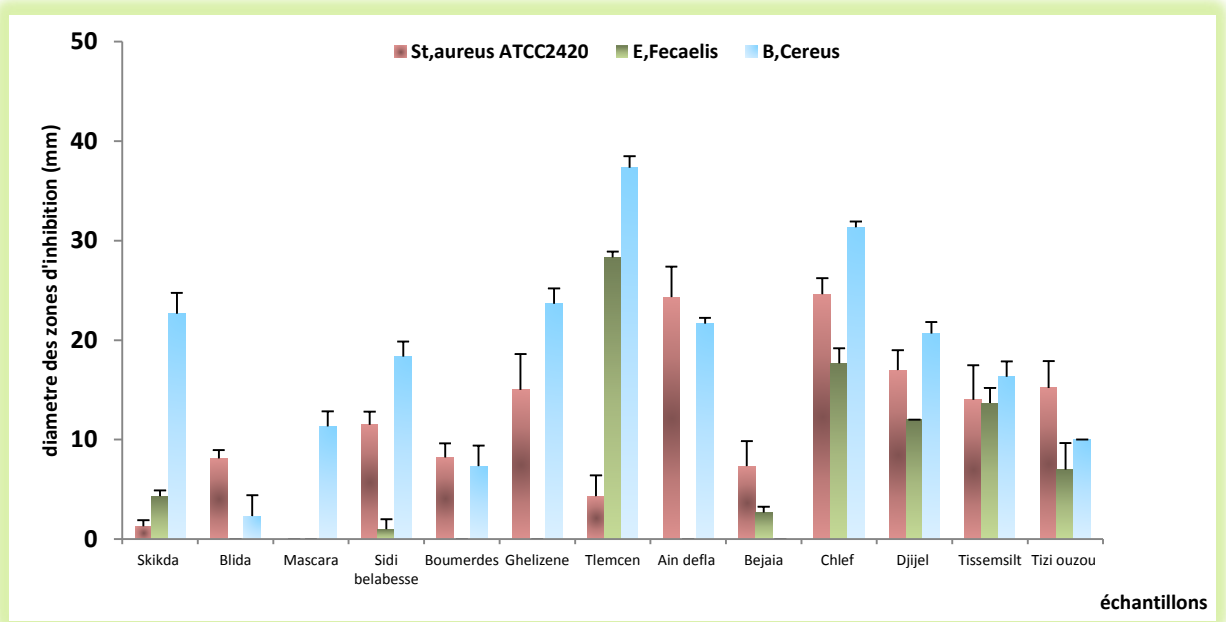
Les composés phénoliques sont utilisés comme marqueurs de qualité pour l'huile d'olive vierge. Ils sont d'un grand intérêt en raison de leurs propriétés anticancéreuses, antivirales et anti-inflammatoires. Leur contenu est un facteur important lors de l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive, car ils ont été corrélés avec la stabilité de l'huile à l'oxydation et, en particulier, sa résistance à la peroxydation lipidique.

Cependant, Bousahel et *al.* (2020) ont prouvé l'influence des techniques agronomiques et de stade de maturation des olives sur la composition des huiles produites.

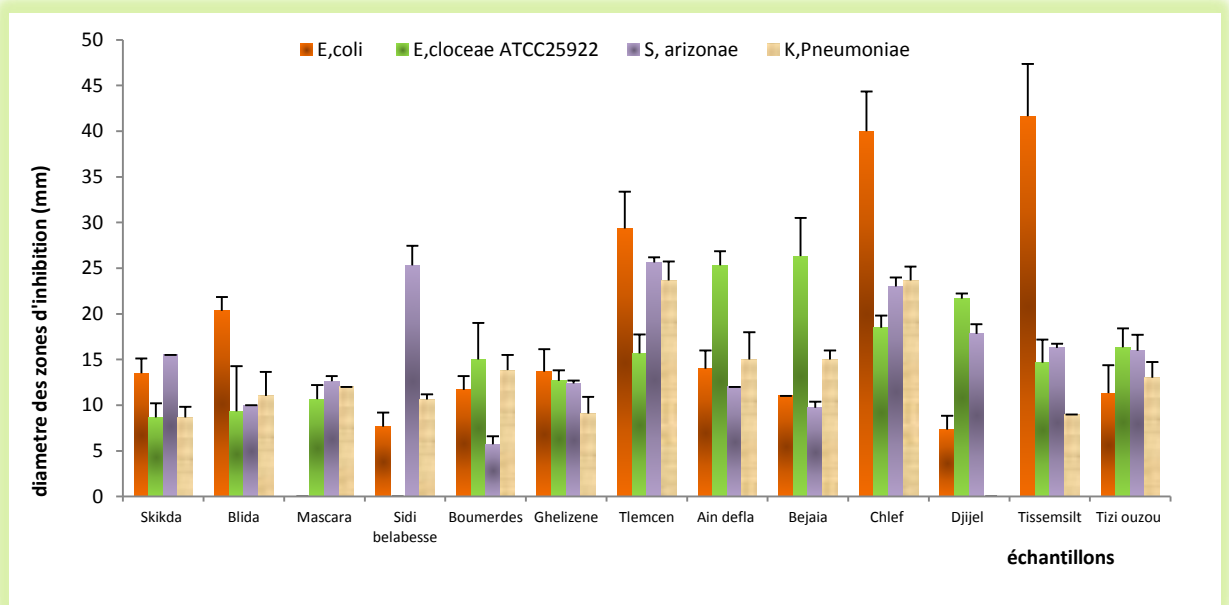
## **Partie VI : Résultats de l'activité antibactériennes des extraits de la fraction insaponifiable**

### **1. Test qualitatif de l'activité antibactérienne**

L'effet des extraits phénoliques sur les souches bactériennes utilisées est variable, dans la mesure où la différence entre les diamètres des zones d'inhibition a été significative ( $P < 0,05$ ). Au moment où *E. coli* a montré une sensibilité très élevée à tous les extraits testés pouvant atteindre des diamètres d'inhibition dépassant  $30 \pm 4,04$  mm, surtout avec les huiles de Tlemcen, Chlef et de Tissemsilt. *E. faecalis* a développé une résistance aux extraits de Blida, Mascara, Sidi Bel Abbés, Boumerdés et Relizane. Alors que, *Bacillus cereus* est sensible à tous les extraits testés avec des diamètres d'inhibition variant de  $10 \pm 0,00$  mm à  $37,33 \pm 1,15$  mm (Figures 41 et 42).



**Figure 41:** Diamètres des zones d'inhibition des bactéries Gram positif



**Figure 42 :** Diamètres des zones d'inhibition des bactéries Gram négatif



Aucune corrélation n'a été notée entre les teneurs des différents composants de la fraction insaponifiable des huiles et les diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes testées. Le comportement des bactéries vis-à-vis des extraits phénoliques a été variable (tableau 12).

Nos résultats corroborent ceux trouvés par Taleb et *al.* (2016) ; Dağdelen (2016), qui ont prouvé que les extraits phénoliques de trois échantillons d'huile d'olive obtenu à partir de plusieurs régions de la Turquie ont montré un effet antimicrobien contre une large gamme de micro-organismes. Les microorganismes les plus sensibles sont *Clostridium perfringens* ATCC 13124 et *Campylobacter jejuni* ATCC 33291. Par ailleurs, Tripolli et *al.* (2005) ; Guo et *al.* (2019) ont rapporté que les extraits phénoliques de l'huile d'olive sont connus depuis longtemps pour leur activité antimicrobienne *in-vitro* contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Karaosmanoglu et *al.* (2010) ont élucidé une activité antimicrobienne, contre les virus, les bactéries, les levures et les champignons, de l'oleuropéine, tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'acide caféique, l'acide gallique, syringique, l'acide p-coumarique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide protocatéchique, la quercétine et la lutéoline. Les mêmes observations ont été rapportées par Bisignano (1999); Medina et *al.* (2006) et Medina et *al.* (2007) et Piroddi et *al.*(2017).

Dans le même sens, d'autres études Karasmamoglu et *al.* (2010) ; Korukluoglu et *al.* (2010); affirment que la nature des composés phénoliques influent sélectivement sur les microorganismes. Lee et Lee (2010) ont prouvé que l'acide caféique en tant que composé phénolique est un agent antimicrobien contre *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*. En revanche, l'acide gallique n'avait pas de propriétés antimicrobiennes mais pouvait plutôt favoriser la croissance de certains agents pathogènes comme *Escherichia coli* O157: H7 ( Lee et *al.*,2006)

Selon Cicerale et *al.* (2010 ; 2012); Lainer et *al.* (2014), l'activité inhibitrice des extraits de l'huile d'olive est en relation étroite avec la nature des polyphénols et leurs effets synergiques.



## 2. Détermination des CMI

Les valeurs quantitatives de CMI indiquées dans le tableau 13 renforcent les résultats qualitatifs de diffusion sur gélose. Elles sont variables et une corrélation positive est remarquée entre le diamètre des zones d’inhibition et les CMI. Nous avons remarqué également les CMI les plus faibles avec les extraits qui ont donné les diamètres des zones d’inhibition les plus élevées. A titre d’exemple, la CMI la plus faible (0,3 mg/ml) est enregistrée avec l’extrait de Tissemsilt à l’égard d’*E. coli* où le diamètre de la zone d’inhibition est de l’ordre de 41,67mm.

En plus, la croissance des souches bactériennes qui ont résisté aux extraits n’a pas été inhibée même avec des concentrations supérieures à 2 mg/ml.

**Tableau 13:** concentrations minimales inhibitrices (CMI) en mg/ml des différents extraits phénoliques à l’égard des espèces bactériennes

	<i>E.coli</i>	<i>E.cloceae</i>	<i>St.aureus</i>	<i>S.arezonia</i>	<i>K.pneumoneae</i>	<i>E.feacalis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.cereus</i>
<b>Skikda</b>	1,2	0,4	/	1,8	/	/	2	0,8
<b>Blida</b>	0,8	0,6	2	1,8	1,9	/	2	/
<b>Mascara</b>	/	0,8	/	1,6	1,9	/	/	1,8
<b>Sidi Belabesse</b>	2	/	1,8	0,9	1,9	/	2	1,4
<b>Boumerdes</b>	1,8	1	/	/	1,9	/	2	/
<b>Ghelizene</b>	1,8	0,9	1,4	1,4	2	/	1,9	0,8
<b>Tlemcen</b>	0,7	0,9	/	0,8	0,9	0,7	1,8	0,2
<b>Ain Defla</b>	1,4	0,6	0,9	1,4	1,6	/	1,2	0,7
<b>Bedjiai</b>	2	0,6	2	2	1,6	/	2	/
<b>Chlef</b>	0,5	0,7	0,8	0,7	0,9	2	2	0,7
<b>Djijel</b>	2	0,4	1,6	1,8	/	2	2	1,4
<b>Tissemsilt</b>	0,3	0,2	1,2	1,8	/	2	1,4	2
<b>Tizi ousou</b>	0,9	1,4	1,8	1,8	2	/	1,6	2

/ : Non déterminée

Les valeurs de CMI enregistrées sont plus faibles à ceux rapportées par Laincer et al. (2014) qui a testé des extraits phénoliques des huiles d’olive monovariétale. Ceci peut être expliqué par la nature de nos huiles qui sont obtenus à partir de plusieurs variétés. Néanmoins,



ils sont conformes aux études de Tafesh et *al.* (2011) qui a prouvé une nette augmentation de l'action inhibitrice des composés phénoliques de l'huile d'olive en combinaison.

Par contre, ils sont dans le même intervalle des valeurs de CMI déclarées par Atzeri et *al.* (2016) qui a trouvé que la croissance de *Bacillus cereus* est inhibée par une CMI de 0,6 à 1,6 mg/ml et la croissance de *Bacillus subtilis* est stoppée avec une CMI variant de 1,2 jusqu'à 1,8 mg/ml.

Dağdelen (2016) a conclu que l'activité antibactérienne des composés phénoliques de l'huile d'olive est due à la présence du système ortho-diphénoliques. Par conséquent, la position et le nombre de groupes hydroxyles sur le groupe phénols sont liés à leur toxicité relatives vis-à-vis des microorganismes avec des preuves que l'augmentation de l'hydroxylation entraîne une augmentation de l'activité antibactérienne.

## V. Traitement statistique des résultats

### 1. Analyse multivariée par ACP

L'utilisation d'approches statistiques exploratoires et de classification telles que l'analyse en composantes principales (ACP) peut contribuer au regroupement des échantillons. Afin de trouver des groupes homogènes d'échantillons d'huile d'olive en fonction des facteurs étudiés, l'ACP a été appliquée aux variables physico-chimiques. L'interprétation des résultats est basée sur la visualisation des scores et des loadings. Nos données sont regroupées dans une matrice de dix variables physico-chimiques et de treize individus (zones).

Les résultats énumérés montrent que les trois premiers composants représentaient 64,55% de la variabilité totale,

La première composante (CP1) qui explique 26,48% de la variabilité est dominée par les polyphénols totaux, la couleur des huiles et leurs teneurs en eau qui sont fortement corrélés entre eux et caractérisent l'huile de Tissemsilt. Ces variables sont négativement corrélés avec l'indice de peroxyde et la densité caractérisant ainsi les huiles de Relizane, Bejaïa et Tizi Ouzou .

La deuxième composante (CP2) a montré 19,34% de variabilité totale traduisant ainsi l'opposition entre l'indice de saponification, l'indice d'iode (valeurs positives) caractérisant les huiles de Sidi Bel Abbés et Boumerdes et la teneur en eau, l'indice de réfraction (valeurs négatives) caractérisant les échantillons de Mascara et Skikda. Par ailleurs, les huiles de Sidi



Bel Abbès et Boumerdes sont corrélées négativement avec celles de Mascara et Skikda. Enfin la troisième CPA (CP3) a montré 18,73% de variabilité. Elle est principalement corrélée positivement avec le K232 caractérisant fortement les huiles de Boumerdes et Blida et négativement corrélée avec l'indice d'iode caractérisant principalement l'huile d'olive de Tlemcen.

Les résultats de cette ACP corroborent ceux consignés précédemment où nous avons remarqué des corrélations (négatives ou positives) en fonction des relations entre les différents critères. Citons à titre d'exemple, l'indice de peroxyde et la densité qui caractérisent ensemble les huiles riches en acides gras insaturés et n'ont aucune relation avec leur teneur en polyphénols totaux. De même, pour les indices de saponification et d'iode.

## 2. Analyse discriminante

Une analyse discriminante canonique multi variée des treize échantillons d'huile d'olive a été menée. Cette dernière nous a permis de distinguer les différents groupes d'huiles d'olive décrit par les valeurs de nombreuses variables en fonction des régions et des variétés d'olive utilisées dans l'extraction de l'huile. Pour cela, nous avons réalisé des représentations pour les différents individus dans un système à deux dimensions selon des axes connus sous le nom d'axes canoniques.

77,95% de variance est expliquée par le premier axe (tableau 14). Cet axe est principalement corrélé positivement avec la couleur des huiles ( $r = 0,9$ ) et leurs teneurs en polyphénols totaux ( $r = 0,52$ ) (Figure 50). Les huiles d'olive de Tissemsilt et Blida sont clairement discriminées du côté positif du premier axe (figure 51), tandis qu'il est négativement corrélé avec K270 ( $r = -0,62$ ), l'indice de peroxyde ( $r = -0,51$ ) et la densité ( $r = -0,44$ ). Les échantillons de Tizi Ouzou et Bejaia étaient clairement discriminées du côté négatif de cet axe, alors qu'une similitude entre les huiles d'olive de Chlef, Jijel, Ain Defla, Sidi Bel Abbès et Tlemcen est traduite par un fort chevauchement sur le premier axe. Le deuxième axe montre une discrimination de 18,07%. Cet axe était principalement corrélé négativement avec K270 ( $r = -0,78$ ) et l'indice de réfraction ( $r = -0,54$ ), l'huile de Mascara est principalement discriminée du côté négatif de cet axe.



**Tableau 14 :** Résumé de l'analyse discriminante entre les treize huiles d'olive montrant la discrimination cumulative et les coefficients discriminants canoniques normalisés

	<b>D1</b>	<b>D2</b>
<b>Discrimination (%)</b>	77.9465	18.0730
<b>Cumulative %</b>	77.9465	96.0195
<b>Acidité</b>	-0.3620	0.0356
<b>Indice d'iode</b>	-0.2254	0.2177
<b>Indice de saponification.</b>	-0.6160	0.2163
<b>Indice de peroxyde</b>	-0.1658	0.3820
<b>Densité</b>	0.1582	0.1718
<b>Indice de refraction</b>	0.8555	0.4766
<b>Teneur en eau</b>	-0.3969	-0.3288
<b>Couleur</b>	1.7225	-0.6297
<b>K232</b>	0.0778	0.1947
<b>K270</b>	-0.9621	-0.9953
<b>DPPH</b>	1.8607	-0.1127
<b>Beta-carotene</b>	-1.0437	0.2856
<b>Polyphénols totaux</b>	0.7007	-0.0168

Enfin, les paramètres discriminants les plus significatifs entre les treize échantillons huiles d'olive sont la réduction de DPPH, la couleur de l'huile, le blanchissement du bêta-carotène et le K270 comme le montre leurs coefficients discriminants canoniques normalisés élevés de 1,86, 1,72, -1,04 et - 0,96 respectivement. En effet selon Hill et Lewicki (2005), plus le coefficient normalisé est grand, plus la discrimination de la variable respective est grande. Ces résultats vont dans le même sens de ceux trouvés par l'ACP.

### 3. Clustering hiérarchique (AHC)

Le regroupement hiérarchique (AHC) des variables selon la similitude de Pearson R a différentes variables a séparé les caractéristiques des huiles en trois groupes principaux; le premier groupe comporte la densité, l'acidité, la réduction du DPPH, le K270 et l'indice de réfraction tandis que le deuxième est composé de l'indice de peroxyde, l'indice de



saponification et l'indice d'iode, enfin le troisième groupe est représenté par la couleur de l'huile, sa teneur en eau, en polyphénols totaux, son blanchissement du bêta-carotène et son K232

De la même manière, les treize échantillons d'huile d'olive sont devisés en trois classes avec une similitude Pearson R supérieure à 0,98. La première comprend l'huile d'olive de Chlef, Ain Defla, Sidi Belabesse, Boumerdes, Blida et Mascara ; la deuxième est composée des huiles de Bejaïa, Tlemcen, Tizi Ouzou, Jijel et Relizane ; enfin la troisième classe composée uniquement de l'huile d'olive de Tissemsilt.

Les différences constatées entre les huiles sont dues à plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques de la saison de croissance, le cultivar, la densité des plantes et la campagne agricole comme le confirment Giuffrè et *al.* (2018) ; Rodrigues et *al.* (2018) ; Paraskevi et *al.* (2019). Paradoxalement, Vichi et *al.* (2009) ; Slim et *al.* (2018) ont annoncé que la période de récolte et les conditions de stockage des olives affectent considérablement la qualité de l'huile d'olive, qui peut être améliorée par l'ajout d'acide citrique selon Bekkar (2018).

Dans le même contexte, Souayahet *al.* (2017) ont établi des corrélations fortement positives entre l'indice de peroxyde, le K232, le K270 des huiles d'olive. Ces paramètres ont été conditionnés par plusieurs facteurs en l'occurrence les variétés d'olives, les conditions de stockage, le type d'emballage et les variations des températures. Ils sont discriminants et influencent fortement les qualités sensorielles et physico-chimiques de l'huile d'olive.

Les auteurs ont montré aussi que l'acidité libre et l'indice de peroxyde des huiles ont été principalement influencés par le système d'extraction ; tandis que la teneur en  $\alpha$ -tocophérol était principalement influencée par le type d'emballage.

En ce qui concerne les composés volatils, leurs quantités sont influencées, principalement, par la période de stockage où une diminution considérable est observée après conservation de l'huile pendant 9 mois. Cela s'est traduit par un changement de leurs caractéristiques sensorielles (perte des attributs positifs fruité, amertume et piquant et apparition de défauts)

La combinaison de l'analyse multi variée de certains échantillons d'huile d'olive et de la chimiométrie par Nicasio et *al.* (2017) a permis une discrimination entre les régions géo-climatiques et les années de culture. Cela présente un grand potentiel pour établir de nouveaux



facteurs de correction pour déterminer l'origine géographique (appellation d'origine) des huiles d'olive, une discrimination géographique a été également élucidée par portarena et *al.* (2017) ,

Ben-Hassine et *al.* (2013) ont montré des corrélations positives avec la température, la distance et l'altitude de la mer, et négatives avec la latitude, la longitude et les précipitations. Ils confirment également que les facteurs génétiques influencent fortement la formation les composés volatils et ont une capacité discriminante plus forte vis-à-vis de la composition en acides gras et en triglycérides qui peuvent être des marqueurs chimiques pour l'authentification des huiles d'olive et la détection des fraudes. Blasi et *al.* (2019) ont montré que les approches statistiques envisagées permettaient une discrimination entre les différents cultivars et les années de culture.

Guissou et *al.* (2018) ont surligné que l'analyse des composants variables effectuer sur les données physico-chimiques des huiles d'olive joue un rôle potentiel dans l'authentification des huiles d'olive algériennes.



## Conclusion

Dans la présente étude, l'objectif était de caractériser treize échantillons d'huile d'olive d'origine Algérienne collectés directement auprès des unités d'extraction situées dans plusieurs régions et produits par la technique de trituration à trois phases, tout en évaluant leurs teneurs en quelques constituants mineurs (polyphénols totaux, flavones, flavonols) ainsi que leurs activités antioxydantes et antibactériennes.

Les résultats présentés dans ce travail ont indiqué que les caractéristiques organoleptiques, physico chimiques (densité, teneur en eau, acidité, indice de saponification, indice de peroxyde et indice d'iode) de la presque totalité des échantillons testés sont conformes aux normes internationales prescrites par le Codex Alimentarius 2013, Le COI 2017 et 2019 malgré les différences hautement significatives ( $p < 0,0001$ ) enregistrés entre les valeurs d'analyse.

Les résultats relatifs aux aspects organoleptiques et à l'acidité des huiles nous ont permis de les classer en huiles d'olive vierge (échantillons de Skikda, Chlef, Blida, Sidi Bel Abbés, Tizi Ouzou, Mascara, Boumerdes, Jijel et Ain Defla) et extra vierge (Relizane, Bejaia et Tissemsilt), tout en observant que les huiles de Jijel, Bejaia et Boumerdes sont plus oxydées que celles des autres régions.

Les différences dans les caractéristiques physico chimiques des huiles ont été dues à plusieurs facteurs; en l'occurrence le degré de maturité des fruits, les conditions pédoclimatiques, durée et conditions de conservation des olives avant trituration, mais aussi aux mélanges de variétés utilisés dans chaque unité d'extraction.

Pour leurs compositions, nous avons détecté des différences entre les teneurs en acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés, à titre d'exemple: les échantillons de Tlemcen et Tissemsilt ont présenté les teneurs les plus élevées en acide oléique. Par ailleurs, les huiles d'olive de Mascara et Jijel se distinguent par les valeurs les plus élevées de l'acide stéarique (4,83% et 3,21% respectivement).

Nous avons également constaté que les treize échantillons d'huile d'olive testés avaient des teneurs variables en composés phénoliques oscillant entre  $73,10 \pm 2,89$  et  $207,97 \pm 1,57$  mg d'acide gallique/kg; les huiles de Tissemsilt et Skikda étaient les plus riches. De même pour les flavonoïdes totaux, flavones, flavonols et O diphénols où les échantillons d'Ain Defla et Jijel ont présenté les teneurs les plus importantes.



Les extraits phénoliques des différentes huiles d'olive ont exercé une activité antioxydante remarquable. L'IC50 de l'extrait de l'huile de Sidi Bel Abbés a été plus faible que celui de l'acide ascorbique ( $3,45 \pm 0,37$ ) tandis qu'une corrélation négative ( $r = -0,45$ ) a été mise en évidence entre les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux ( $r = -0,10$ ), en O diphénols ( $r = -0,43$ ) dans les huiles et la réduction du DPPH; cette corrélation a été assez faible ( $r = 0,32$ ) entre la teneur des huiles en flavones et flavonols et l'IC50 correspondante. Inversement, les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en O diphénols ont été fortement corrélées au blanchissement du  $\beta$  carotène avec des coefficients de corrélation ( $r = 0,75$ ,  $r = 0,60$  et  $r = 0,83$  respectivement).

Une activité antibactérienne variable à l'égard d'une gamme de souches bactériennes Gram positifs et Gram négatifs a été exercée par les extraits des différents échantillons avec des CMI différentes.

Le traitement statistique des résultats a révélé que les paramètres discriminant les plus significatifs sont la réduction du DPPH, la couleur des huiles, le blanchissement du  $\beta$  carotène et le K270 et avec une similitude de Pearson  $R = 0,98$  ; les huiles sont représentées en trois classes différents où l'huile de Tissemsilt figure dans une classe à part.

Les résultats de cette investigation ont mis en évidence l'importance de l'huile d'olive Algérienne en termes de variabilité dans sa composition, et richesse en constituants mineurs de la fraction insaponifiable (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, flavones et flavonols) dotés de pouvoirs antioxydants et antibactériens non négligeables. D'où le mérite que cette huile soit mieux valorisée.

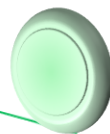
En guise de perspectives d'avenir, l'accent doit être mis sur la grande nécessité d'améliorer sans cesse les conditions de production et de veiller sur la qualité de l'huile d'olive, car l'Algérie est confronté actuellement à un grand défi, et doit mettre sur le marché des huiles contrôlées en se basant sur le patrimoine variétal local et en donnant un intérêt particulier à certaines variétés qui présentent des caractères recherchés et peuvent améliorer, avec une bonne gestion et une maîtrise des différents paramètres, la filière oléicole en Algérie.

D'autre part, il s'avère nécessaire d'établir par le biais d'activités de recherches une banque de données originales concernant la composition chimique des huiles d'olive algériennes, afin de fournir des informations fiables pouvant être utilisés par les oléiculteurs Algériens dans des plantations à grande échelle, du moment que l'oléiculture traditionnelle



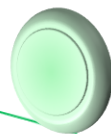
Algérienne est caractérisée par une grande hétérogénéité, qui tient non seulement aux variabilités climatiques et géographiques mais aussi aux facteurs agronomiques, technologiques et variétaux.

Finalement, Il serait intéressant de poursuivre cette investigation en considérant un nombre d'échantillons et d'années de culture plus important, au niveau de toutes les régions oléicoles de l'Algérie ; évaluer qualitativement et quantitativement le plus grand nombre de paramètres et d'indices à l'aide de techniques fines afin de détecter la composition de la fraction mineur des huiles d'olive Algérienne sans négliger la nécessité de mener d'autres études sur l'évaluation *in vitro* et *in vivo* des activités biologiques des extraits de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive (anti diabétiques, anti inflammatoires, anti cancéreuses ...) qui promet plusieurs résultats grâce à la mise en place d'un réseau qui produira de nouvelles biomolécules, fonctionnalisées et vectorisées, à destination des domaines de l'Agrochimie, l'Agroalimentaire, le cosmétique, le pharmaceutique et le médical.

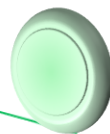


## Références bibliographiques

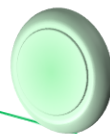
1. Abaza L, Ben Temime S, M'Sallem M, Daoud D, Zarrouk M, Cherif A. Etude comparative de la lipogenèse chez quelques variétés d'oliviers cultivées en Tunisie. 2003. Riv. Ital. Dell Sost. Gr.2003; **80**: 297-306.
2. Abaza L, Taamalli A, Nsir H, Zarrouk M. Olive Tree (*Olea europaeae* L.) Leaves: Importance and Advances in the Analysis of Phenolic Compounds. *Antioxidants*. 2015 ; (4) :682-698.
3. Abenoza M, Benito M, Saldaña G. Effects of pulsed electric field on yield extraction and quality of olive oil. *Food and Bioprocess Technology*. 2013; **6**: 1367- 1373.
4. Abouzar H. Reza FG, Davood B. Fatty acids composition and pigments changing of -virgin olive oil (*Olea europea L.*) in five cultivars grown in Iran Australian. *Journal of Crop Science*. 2010; **4**(4): 258-263.
5. Abu-Reidah MB, Yasin M, Urbani S, MaurizioServili G. Study and characterization of Palestinian monovarietal Nabali virgin olive oils from northern West Bank of Palestine. *Food Research International*.2013; **54**(2) :1959-1964.
6. Achat S, Tomao V, Madani K, Chibane M, Elmaataoui M, Dangles O, Chemat F. Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. *Ultrason. Sonochem*. 2012; **19**: 777 -786.
7. Adnan IK, Sale A et Ghaida AR. Effect of processing techniques on olive oil quality. *American Journal of Food Technology*. 2015; **10**(4):176-183.
8. AFIDOL. Association Française Interprofessionnelle de l'olive .critères d'évaluation de l'huile d'olive
9. AFNOR. Corps gras, graines oléagineux, produits dérivés. 5<sup>ème</sup> Ed. (1993); P: 531.
10. Aggoun-Arhab M. Caractérisation de la composition en micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires. 2016, Université Frères Mentouri-Constantine, Constantine, 175p.
11. Alais G, Linden G. Biochimie alimentaire, 4<sup>ème</sup> Ed. 1997. Paris: Masson. P: 150.
12. Alcázar Román R, Amorós JA, Pérez de los Reyes C, García Navarro FJ et Bravo S. Major and trace element content of olive leaves. *OLIVÆ*. 2014; **119**:1-7.



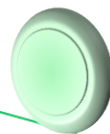
- 13.** Alev Yüksel A, Bağdatlıoğlu N, Köseoğlu O. Effect of ultrasound on olive oil extraction and optimization of ultrasound-assisted extraction of extra virgin olive oil by response surface methodology (RSM). 2017; *Grasas y Aceites*. **68**(2):189.
- 14.** Allalout A, Krichène D, Methenni K, Taamalli A, Oueslati I, Daoud D, Zarrouk M. Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae*. 2009; **120**: 77-83.
- 15.** Alu MH, Rababah T, Alhamad MN. Application of Olive Oil as Nutraceutical and Pharmaceutical Food: Composition and Biofunctional Constituents and Their Roles in Functionality, Therapeutic, and Nutraceutical Properties; Elsevier Inc 2017; Amsterdam, The Netherlands; ISBN : 9780128114124.
- 16.** Amirante R, Distaso E, Tamburrano P. Acoustic cavitation by means ultrasounds in the extra virgin olive oil extraction process. *Energy Procedia*. 2017; **126** : 82-90.
- 17.** Amouretti MC, Comet G. *Le livre de l'olivier*. 1985. Ed: Edisud. P: 173.
- 18.** Andjelkovic M, Acun S, Van Hoed V, Verhe R, Van Camp J. Chemical composition of Turkish olive oil-Ayvalik. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2009. **86**:135-140.
- 19.** Angela G, Angelo C, Lorenzo C. Chlorophylls in olive oil: Chemistry and Occurrences. 2011; **51**(7):678-90.
- 20.** Angerosa F, Servili M, Selvaggini R, Taticchi A, Esposto S et Montedoro GF. Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *Journal of Chromatography A*. 2004; **1054**:17-31.
- 21.** Anggraini DR, Widyawati T, Sari MI, Wahyuni HS, Syarifah S, Fratamasinaga AP. Antioxidant assay of *Phaseolus vulgaris* beans ethanolic extract in vitro and in vivo. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018; **11** (Special Issue 1): 122-125.
- 22.** Angles S. *Oléiculture, systèmes oléicoles et territoires méditerranéens : de la filière au paysage*. Mémoire d'habilitation à diriger des recherches universitaire. 2016 ; paris 13 ufr lettres, sciences humaines et sociales (lshs). 7338 pléiade.
- 23.** Aparicio R, Luna G. Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2002; **104**: 614-627
- 24.** Aparicio-R, Gandul-Rojas B. Decoloration kinetics of chlorophylls and carotenoids in virgin olive oil by autoxidation. *Food Res. Int*. 2014; **65**: 199–206.



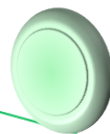
- 25.** Aparicio-Soto M, Sánchez-Hidalgo M, Cárdeno A, Lucena JM, González-Escribano F, Castillo MJ, Alarcón-de-la-Lastra C. The phenolic fraction of extra virgin olive oil modulates the activation and the inflammatory response of T cells from patients with systemic lupus erythematosus and healthy donors. 2017; *Mol Nutr Food Res* : **61**(8).
- 26.** Aranda F, Gómez-Alonso S, Rivera dellamo, Salvador MD, Fregapane G. Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars. *Food Chemistry* . 2003; **86**: 485-492.
- 27.** Argenson C. L'olivier. 1999. Ed: Ctifl. P: 204.
- 28.** Arslan D, Ozcan M. M. Phenolic profile and antioxidant activity of olive fruits of the Turkish variety 'sariulak' from different locations. *Grasas Y Aceites*.2011, **62** (4) :453-461.
- 29.** Arslan D. Physico-chemical characteristics of olive fruits of Turkish varieties from the province of Hatay. *Grasas Aceites*. 2012; **63**: 158–166.
- 30.** Arslan D, Ok S. Characterization of Turkish Olive Oils in Details. *Food Reviews International*. 2019; 1–25.
- 31.** Atzeri A, Lucas R, Incani A, Hydroxytyrosol and tyrosol sulfate metabolites protect against the oxidized cholesterol pro-oxidant effect in Caco-2 human enterocyte-like cells. *Food & Function*. 2016; **7** (1): 337–346.
- 32.** Aydar AY, Bagdatlioglu N, Köseoglu O. Effect of ultrasound on olive oil extraction and optimization of ultrasound-assisted extraction of extra virgin olive oil by response surface methodology (RSM). *Grasas y Aceites*. 2017; **68**: 1-11.
- 33.** Aydar AY. Utilization of Response Surface Methodology in Optimization of Extraction of Plant Materials. United Kingdom: Intech Open. 2018: 157-169.
- 34.** Aydar AY. Physicochemical characteristics of extra virgin olive oils obtained by ultrasound assisted extraction from different olive cultivars. *International Journal of Scientific and Technology Research*. 2018; **4** : 1-10.
- 35.** Baccouri B, Ben Temime S, Taamalli W, Daoud D, M'Sallem M, Zarrouk M. Analytical characteristics of virgin olive oils from two new varieties obtained by controlled crossing on Meski variety. *Journal of Food Lipids*. 2007; **14** : 19-34.
- 36.** Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerretani L, Bendini A, Lercker G, Zarrouk M, Ben Miled DD. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*. 2008. **109**: 743-754.



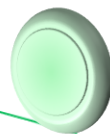
37. Bahti AM, Musameh ShM, Abdelraziq IR. Rheological properties (refractive index) for olive oil in Palestine. *Material Sciences MSAIJ*. 2015; **12** (6): 196-198.
38. Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin JC, Pinkas M, Luycky M., Gazin M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. 1996. *Drug Research*, 16.
39. Baiano C, Terracone I, Viggiani Nobile MAD, “Effects of cultivars and location on quality, phenolic content and antioxidant activity of extra-virgin olive oils,” *Journal of the American Oil Chemists’ Society*. 2013. 90; **1**: 103–111.
40. Barranco D, Rallo L. Epocas de Floracido y Maduracion. Chap.5. in variedades de olivo en Espana (Libro II). Junta de Andalucia (MAPA). 2005. Ed. Munidi-Prensa / Madrid.
41. Barros L, Ricardo C, Calhella LM . Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts *European Food Research and Technology*. 2007; **225** (2): 151-156.
42. Bassani B, Rossi T, De Stefano D .Chemopreventive activities of a polyphenol rich purified extract from olive oil processing on colon cancer cells. *Proceeding of American Association for Cancer Research*; 2017.Washington **77**: 13.
43. Bassi D, Tura D, Geuna F, Failla O, Pedo S. Characterisation of local olive (*Olea europea* L.) accessions by oil composition, morphological and molecular markers methods. 2002; *Acta Hortic*. **586**: 57–60.
44. Bayram B, Esatbeyoglu T, Schulze N, Ozcelik B, Frank J, Rimbach G. Comprehensive analysis of polyphenols in 55 extra virgin olive oils by HPLC-ECD and their correlation with antioxidant activities.*Plant Foods Hum Nutr* . 2012; **67** (4): 326-336.
45. Bejaoui MA, Beltran G, Aguilera MP, Jimenez A. Continuous conditioning of olive paste by high power ultrasounds: Response surface methodology to predict temperature and its effect on oil yield and virgin olive oil characteristics. *Food Sci. Technol*. 2016 ; **69**: 175–184.
46. Bekkar K, Oumeddour R, Nigri S, Selaimia R. Improved stability to auto-oxidation of the olive oil by addition of citric acid *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2018. **30** (7): 621-630.



47. Benabid H, Naamoune H, Noçairi H, Rutledge D. Application of chemometric tools to compare Algerian olive oils produced in different locations. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 2008 ; **6** (2): 43-51.
48. Benaziza A, Semad D. Oleiculture : Caracterisation De Six Varietes D'olives Introduites Dans Le Sud – Est Algerien. *European Scientific Journal*. 2016 ; **12** : 33.
49. Bendi Djelloul MCE . Influence du Sol, de l'Altitude et de la Variété sur la qualité de quelques huiles d'olives dans l'ouest algérien. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques. 2016. Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen. 128p.
50. Bendini A, Bonoli M, Cerretani L, Bigguzi B, Lercker G, Toschi, TG. Liquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olives oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *J. Chromatogr*. 2003; **985** :425–433.
51. Ben-Hassine K, Taamalli A, Ferchichi S, Mlaouah A, Benincasa C, Romano E, Flamini G, Lazzez A, Grati-kamoun N, Perri E, Malouche D, Hammami M. Physicochemical and sensory characteristics of virgin olive oils in relation to cultivar, extraction system and storage conditions. *Food Research International*. 2013 ; **54** (2): 11.
52. Benlemlih M, Ghanam J. Polyphénols d'huile d'olive, trésors santé ! Étude scientifique. 2012. Ed. Macro pietteur. Belgique.
53. Benrachou N. Etude des caractéristiques physico-chimiques et de la composition biochimique de l'huile d'olives issus de trois cultivars de l'est algérien. Thèse Doctorat en Biochimie Appliquée. 2013. Université d'Annaba, 112p.
54. Ben Temime S, Taamalli W, Baccouri B, Abaza L, Daoud D, Zarrouk M. Changes in olive oil quality of Chetoui variety according to the origin of plantation. *Journal of Food Lipids*. 2006; **13**: 88-99.
55. Benyahia N, Zein K. Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. Contribution spéciale de « Sustainable Business Associates » à l'atelier «Pollution and Development issues in the Mediterranean Basin», 2<sup>ème</sup> Conférence Internationale « Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries » (SESEC II) à Lausanne, Suisse Bioresource Technology. 2003 ; **101** :6225–6229.
56. Bertelli M, Kiani AK, Paolacci S, Manara E, Kurti D, Dhuli K, Bushati V, Miertus J, Pangallo D, Baglivo M, Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *J. Biotechnol*. 2020 ; **309** : 29–33.



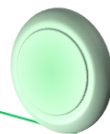
57. Bertuccioli M, Monteleone E. The sensory quality of extra-virgin olive oil. In *The Extra-Virgin Olive Oil Handbook*. 2014. Ed.; JohnWiley & Sons Ltd.: Hoboken, NJ, USA: 35–58.
58. Bhnsawy R, Naglaa H, Hassanen M, Mounir M. *Current Science International*. Comparative Study of the Quality of Extra Virgin Olive Oil in the Egyptian Market (from different Mediterranean countries). 2018; **06** (01): 208-219.
59. Bianchi G. Lipids and phenols in table olives. *European journal of Lipid Science and technology*. 2003; **105** : 5.
60. Bisignano G, Tomaino A, Cascio RL. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1999; **51** : 971–974.
61. Blasi F, Pollini L, Cossignani L. Varietal Authentication of Extra Virgin Olive Oils by Triacylglycerols and Volatiles Analysis. *Foods*. 2019 ; **8** (2): 58.
62. Blekas G, Psomiadou E, Tsimidou M, Boskou D. On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2002 ; **104**: 340–346.
63. Boarelli MC, Biedermann M, Peier M, Fiorini D, Grob K. Ergosterol as a marker for the use of degraded olives in the production of olive oil. *Food Control*. 2020; **112** : 107-136.
64. Bolmont R, Buessler L, Jaubert J. L'Olivier. 1993. Dans : BT 1095, 02/1998, 1-41
65. Borges TH, Pereira JA, Cabrera-Vique C, Lara L, Oliveira AF, Seiquer I. Characterization of Arbequina virgin olive oils produced in different regions of Brazil and Spain: Physicochemical properties, oxidative stability and fatty acid profile. *Food Chem*. 2017; **215** : 454–462.
66. Boskou D. *Huile d'olive, chimie et technologie*. AOCS press, Champaign III.U.S.A. 1996.
67. Boskou D. *Olive Oil: Chemistry and Technology*. 2006; Second Edition (AOCS Publishing).
68. Boskou D. Phenolic compounds in olives and olive oil In *Olive oil: minor constituents and health*. 2009; Ed. CRC press. 11-44.
69. Boskou D. Olive oil. In *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition*. 2015; Elsevier: 3–38.
70. Borzì AM, Biondi A, Basile F, Luca S, Dante Vicari ES, Vacante M, Olive Oil Effects on Colorectal Cancer. *Nutrients* . 2019 ; **11** (1) : 32.



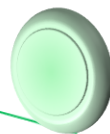
71. Bouchenak O, Yahiaoui K, Toubal S, Benhabyles N, Laoufi R et Arab K. Etude comparative des huiles de cinq régions d'Algérie (Bouira, Bejaia, Biskra, Dellys et Jijel. *Agrobiologia*. 2018 ; **8** (2) :1038-1046.
72. Boudour-Benrachou N, Jérôme P ,Pinatel C,Artaud J, Dupuy N. Fatty Acid Compositions of Olive Oils from Six Cultivars from East and South-Western Algeria. *Advances in Food Technology and Nutritional Sciences*. 2017 ; **3** (1):1-5.
73. Boukachabine H, Ajana, El Antari A. A study of fatty acids and triglycerides oil composition and quality parameters of five autochthon olive varieties in morocco. *Lebanese science journal*. 2011 ; **12** (2).
74. Boulfane S, Maata N, Anouar A, Hilali S. Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*.2015; **87** : 8022– 8029.
75. Boussahel S, Stefano VD, Muscarà C, Cristani M et Melilli MG. Phenolic Compounds Characterization and Antioxidant Properties of Monocultivar Olive Oils from Northeast Algeria. *Agriculture*. 2020 ; **10**: 494.
76. Bouyoucef D, Laoudj O.Diversification et valorisation des produits oléicoles : une piste d'avenir pour un développement local, cas du secteur oléicole de la wilaya de Bouira. *La Revue des sciences commerciales*. 2016 ; **15** (1): 149–162.
77. Brenes M, Garcia A, Garcia P. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999; **47** (9):3535-3540.
78. Camargo A, Rangel-Zuñiga OA, Haro C, Meza-Miranda ER, Peña-Orihuela P, Meneses ME, Marin C, Yubero-Serrano EM, Perez-Martinez P, Delgado-Lista J, Olive oil phenolic compounds decrease the postprandial inflammatory response by reducing postprandial plasma lipopolysaccharide levels. *Food Chem*. 2014; **162** : 161–171.
79. Caponio F, Squeo G, Difonzo G, Pasqualone A, Summo C, Paradiso M. Has the use of talc an effect on yield and extra virgin olive oil quality. *J Sci Food Agric*. 2016; **96**: 3292–3299.
80. Caporaso N. Virgin Olive Oils: Environmental Conditions, Agronomical Factors and Processing Technology Affecting the Chemistry of Flavor Profile. *Journal of Food Chemistry et Nanotechnology*. 2016; **2** (1):21-31.
81. Carrapiso AI, García A, Petróñ MJ, Martín L. Effect of talc and water addition on olive oil quality and antioxidants. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2013 ; **115** : 583–588.
82. Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Bendini A, Segura Carretero A, Del Carlo M, Gallina-Toschi T, Lercker G, Compagnone D, Fernández-Gutiérrez A. 2005. Evaluation of

the Antioxidant Capacity of Individual Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. *J. Agri. Food Chem*; **5** : 8918–8925.

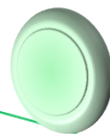
- 83.** Castiglione C, Une vie d'olivier Digne-les-Bains. 1993. Haute Provence Edition. 190p.
- 84.** Catania P, Febo P, Vallone M. De Pasquale C. Influence of extra virgin olive oil fatty acids composition during malaxation. *Chemical Engineering Transactions*. 2015 ; **58** : 439-444.
- 85.** Chauv C. Rapports de la station expérimentale de Sidi-Aich (Algérie) et du conseil de l'expérimentation et des recherches agronomiques Alger. 2015.
- 86.** Cecchi T, De Marco C, Passamonti Pet Pucciarelli F. Analytical definition of the quality of extra-virgin olive oil stored in polyethylene terephthalate bottles. *Journal of Food Lipid*. 2006; **13**: 251-258.
- 87.** Chénéveau (1917). Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. *Trends in Food Science & Technology*. 2020; **105**: 483-493.
- 88.** Chimi H. Transfert de technologie en agriculture : Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. *Bulletin mensuel d'information de la liaison du PNTTA. IAV Hassan II, Rabat, Royaume du Maroc*. 2006 ; **141** : 1.
- 89.** Christopoulou E, Lazaraki M, Komaitis M, .Kaselimis K Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oil with vegetable oils. *Food Chem*. 2004; **84**: 463 – 474.
- 90.** Christophoridou S. Authentication of Olive Oil Based on Minor Components. *Olives and Olive Oil as Functional Foods*. 2017: 555–567.
- 91.** C.E Commission européenne . on the characteristics of olive oil and olive residue oil and on the relevant method of analysis No. 640/2008 of 4 July 2008 amending Regulation (EEC) No.2568/91.
- 92.** (CEE) N o 2568/91 ► C1 relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes ◀1991.2018 (JO L 248 du 5.9.1991, p. 1).
- 93.** Cerretani L, Bendini A, Del Caro A, Piga A, Vacca V, Caboni M F, Toschi TG. Preliminary characterization of virgin olive oils obtained from different cultivars in Sardinia. *Eur. Food Res. Technol*. 2006 ; **222**, 354–361.



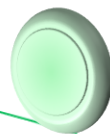
94. Cicerale S, Lucas L et Russell K. Biological Activities of Phenolic Compounds Present in Virgin Olive Oil. *International Journal of Molecular Sciences*. 2010; **11**: 458-479.
95. Cicerale S, Lucas LJ, Keast RSJ. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2012; **23**: 129–135.
96. Ciafardini G, Cioccia G, Zullo BA. Survival of *Candida parapsilosis* yeast in olive oil. *Annals of Microbiology* .2013; **63**: 1645–1648.
97. Ciafardini G, Zullo BA. Improvement of Commercial Olive Oil Quality through an Evaluation of the Polyphenol Content of the Oily Fraction of the Olive Fruit during its Period of Maturation. *Journal of Food Processing and Technology*. 2014; **5** (12): 2–8
98. Cimato A. Effect of agronomic factors virgin olive oil quality. *Olivae*. 1990; **31**: 21-28.
99. Cinelli G, Cofelice M, Venditti F. colloids and interfaces Review Veiled Extra Virgin Olive Oils: Role of Emulsion, Water and Antioxidants Colloids Interfaces. 2020; **4**: 0038.
100. Clodoveo ML, Durante V, La Notte D. Working towards the development of innovative ultrasound equipment for the extraction of virgin olive oil. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013 a ; **20**: 1261-1270.
101. Clodoveo ML. New advances in the development of innovative virgin olive oil extraction plants: Looking back to see the future. *Food Research International*. 2013 b; **54**: 726-729.
102. Clodoveo ML, Camposeo S, Amirante R. Research and Innovative Approaches to Obtain Virgin Olive Oils with a Higher Level of Bioactive Constituents. 2015; AOCS Press.
103. Condelli N, Caruso MC, Galgano F, Russo D, Favati F, Milella L. Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. (2015). *Food Chemistry*, **177** : 233–239.
104. Codex STAN 33. Standard for olive oils and olive pomace oils codex stan 33-1981 ; adopted in 1981. revision: 1989, 2003, 2015. amendment: 2009, 2013.
105. Codex alimentarius. Norme révisée pour les huiles d'olive, CL 1993/ 15-FAO.
106. Codex Alimentarius. Norme pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive CXSo.2017 ; 33-1981.
107. Conseil Oléicole International. Guide de gestion de la qualité de l'industrie de l'huile d'olive : les moulins. 2006 ; T.33/Doc. N°2-4, p : 20.



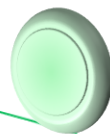
- 108.** Conseil Oléicole International. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. 2010 ; COI/T.15/NC. n° 3/Rév. 5.
- 109.** Conseil Oléicole International. Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux l'huiles de grignons d'olive. 2011 ; T. 15/NC N° 3/Rév. 6.
- 110.** Conseil Oléicole International. Normes Internationales applicables aux huiles d'olive de Codex alimentarius (1993). Norme révisée pour les huiles d'olive.2013 ; CL 1993/ 15-FAO.
- 111.** Conseil Oléicole International. /T.20/Doc.n°15/Rév.8 . Analyse sensorielle de l'huile d'olive ; méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge.2015.  
<http://www.internationaloliveoil.org/>
- 112.** Conseil Oléicole International. World trade in olive oil and table olives. Market Newsletter. 2016a; **147**, 2-5.
- 113.** Conseil Oléicole International. 2019 .COI/T.15/NC N° 3/Rév.
- 114.** Conseil Oléicole International Marché international . Newsletter du conseil oleicole international .2020 a ; **115** :5-18.
- 115.** Conseil Oléicole International 2020 b. Agenda du COI . Newsletter du conseil oleicole international , 2020b ; **116**.
- 116.** Conte L, The Chemistry of Olive Oil: an endless story. OCL. 2020; **27** : 28 ; 15
- 117.** Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents.Clin.Microbiol. 1999; 12:130. Biochemical Society Transactions. 1996 ; **24** : 790-794.
- 118.** Criado MN, Morello JR, Motilva MJ, Romero MP. Effect of growing area on pigment and phenolic fractions of virgin olive oils of the Arbequina variety in Spain. Journal of American Oil Chemists' Society. 2004; **81** : 633-640.
- 119.** Cruz F, Julca I, Gómez-Garrido J, Loska D, Marcet-Houben M, Cano E. Genome sequence of the olive tree, *Olea europaea*. *Gigascience*. 2016; **27**: 5-29.
- 120.** Cuellar LR. Amélioration de la qualité de l'huile d'olive. Collection: Manuel pratique Conseil Oléicole International. 1990.
- 121.** Dabbou S, Rjiba I, Echbili A, Gazzah N, Mechri B, Hammami M. Effect of Controlled Crossing on the Triglyceride and Fatty Acid Composition of Virgin Olive Oils. *Chemistry and Biodiversity*. 2010; **7** : 7, 1801-1813.
- 122.** Dabbou S, Gharbi I, Dabbou S, Brahmi F, Nakbi A. Impact of packaging material and storage time on olive oil quality. *African Journal of Biotechnology*. 2011; **10**: 16937–16947.



- 123.** Dağdelen A. Identifying Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Phenolic Extracts and Mineral Contents of Virgin Olive Oils (*Olea europaea* L. cv. Edincik Su) from Different Regions in Turkey. *Journal of Chemistry*. 2016; **11**.
- 124.** De Alzaa F, Guillaume C et Ravetti L. Evaluation of Chemical and Physical Changes in different Commercial Oils during Heating .*Acta Scientific Nutritional Health*. 2018; **2**: 6.
- 125.** Del Carlo M, Sacchetti G, DI Mattia C et Compagnone D. Contribution of the phenolic fraction to the antioxidant activity and oxidative stability of olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004; **52** (13): 4072-4079.
- 126.** De Pablos RM, Espinosa-Oliva AM, Hornedo-Ortega R, Cano M, Arguelles S. Hydroxytyrosol protects from aging process via AMPK and autophagy; a review of its effects on cancer, metabolic syndrome, osteoporosis, immune-mediated and neurodegenerative diseases. *Pharm. Res.* 2019; **143**: 58–72.
- 127.** Di Bella G, Maisano R, La Pera L, Lo Turco V, Salvo F, et Dugo G. Statistical characterization of Sicilian Olive oils from the peloritana and maghrebian zones according to the fatty acid profile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007; **55** (16): 6568-6574.
- 128.** Djeridane A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocher, P., & Vidal, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. 2006. *Food Chemistry*; **97**: 654 -660.
- 129.** Dominguez-Garcia MC, Laib M, Rosa R, Belaj A. Characterisation and identification of olive cultivars from North-eastern Algeria using molecular markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 2012; **87** (2); 95–100.
- 130.** Dozane M, Tamendjari A. Phenolic compounds in mono-cultivar extra virgin olive oils from Algeria. *Grasas y Aceites*. 2013; **64** (3):285-294.
- 131.** Durand, A., and Terral, J.-F. Regarder autrement le charbon de bois archéologique :l'exemple de l'irrigation des plantations d'oliviers en France méridionale et en Catalogne (IXe-XVe siècle). *Archéologie du Midi médiéval*. .2005; **23**: 75–92.
- 132.** EEC Regulation (2568/91), equivalent to ISO 3960 (1995) and IUPAC Method N°: 2.501 and to ISO 3657 and ISO 3961, ISO 3657 and ISO 3961,
- 133.** EEC. European Union Commission Regulation EEC/2568/91 on the characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. *Official Journal European Community*. 1991: L 248, 1-82

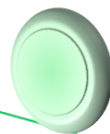


- 134.** El Antari A, El Moudni A, Ajana H. Evolution comparative de la qualité et de la composition acide de l'huile d'olive chez quelques variétés méditerranéennes cultivées au Maroc. *Olivae*. 2003; **95**: 26-31.
- 135.** El Bouzidi S, Ouahidi A. Approche historique de l'oléiculture dans le Maroc antique : l'apport des textes agronomiques et de l'archéologie. L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques. Montpellier :CIHEAM. (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens 2016 ; **118** : 29-44.
- 136.** El-Gharbi S, Tekaya M, Bendini A, Valli E, Palagano R, Hammami M, Gallina Toschi T, Beligh M. Effects of Geographical Location on Chemical Properties of Zarazi Virgin Olive Oil Produced in the South of Tunisia. *American Journal of Food Science and Technology*. 2018; **6** (6): 228-236.
- 137.** El Hajjouji H. Evolution des caractéristiques physico-chimiques, spectroscopiques et éco toxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique, thèse de doctorat, institut polytechnique de Toulouse (France). 2007.
- 138.** El Qarnifa S, El Antari A et Hafidi A. Effect of Maturity and Environmental Conditions on Chemical Composition of Olive Oils of Introduced Cultivars in Morocco. *Hindawi Journal of Food Quality* . 2019: **14** .
- 139.** El Sohaimy AAS, El-Sheikh HM, Refaay MT, Zaytoun AME. Effect of harvesting in different ripening stages on olive (*Olea europaea*) oil quality. *Am. J. Food Technol.* 2016 ; **11** : 1–11.
- 140.** Essid F, Sifi S, Beltrán G. Sensory and Volatile Profiles of Monovarietal North Tunisian Extra Virgin Olive Oils from 'Chétoui' Cultivar. 2016 ; *Journal of Oleo Science*; **65** (7): 533-542.
- 141.** Faghim J, Guasmi F, Ben Mohamed M, Ben Ali S, Triki T, Guesmi A, Zammouri T, Lahzein M, Nagaz K. Comparaison de la composition physicochimique d'huile d'olive chez la variété Chemlai sous l'effet d'irrigation. 2016.
- 142.** Fancello F, Multineddu C, Santona M, Deiana P, Zara G, Mannazzu I, Budroni M, Dettori S et Zara S. Bacterial Biodiversity of Extra Virgin Olive Oils and Their Potential Biotechnological Exploitation. *Microorganisms* 2020 : **8** (1), 97.
- 143.** FAOSTAT. Agricol statistics, Olives. 2017. <http://www.fao.org/faostat/fr/#data>.

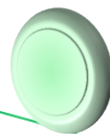


- 144.** FAO/STAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Viale delle Terme di Caracalla. 2020; 00153 Rome, Italy.
- 145.** Fares I, Kairouan N, Karoui Jabri S. Physical chemical and sensory characterization of olive oil of the region of Abderrabba. *Journal of Materials and Environmental Science*. 2016. **7** (6): 2148-2154.
- 146.** Farràs M, Martínez-Gili L, Portune K, Arranz S, Frost G, Tondo M, Blanco-Vaca F. Modulation of the Gut Microbiota by Olive Oil Phenolic Compounds: Implications for Lipid Metabolism, Immune System, and Obesity. *Nutrients* 2020; **12**: 2200.
- 147.** Fernandes J, Fialho M, Santos R, Peixoto-Plácido C, Madeira T, Sousa-Santos N, Virgolino A, Santos O, Vaz Carneiro A. Is olive oil good for you? A systematic review and meta-analysis on anti-inflammatory benefits from regular dietary intake. *Nutrition* 2020; **69** : 110- 559.
- 148.** Fraihat S, Lopez PG, Diaz AM, Sabouni I. physicochemical characterization of olive oil from Eljouf area of Saudi Arabia. *International Journal of ChemTech Research*. 2017; **10** : **9**; 1004-1010.
- 149.** Franco Ribeiro E, Carregari Polachini T, Reis Carvalho G, Telis Romero J, Ferreira Cabral RA. Thermophysical properties of different olive oils: Evaluating density and rheology through a fluid dynamic approach. *European journal of lipid science and technology*. 2018.
- 150.** Foin J, Claude S. *Le guide des huiles d'olive*. 2002. Ed du Rouergue.
- 151.** Gabrić D, Barba F, Roohinejad S, Mohammad S, Gharibzahedi T, Radojčin M. Pulsed electric fields as an alternative to thermal processing for preservation of nutritive and physicochemical properties of beverages: a review. *J Food Process Eng*. 2018; **41**.
- 152.** Galvano F, Faiu LL, Graziana G, Ferracane R, Masella R, Giacomo C, Galvano G. Phenolic compounds and antioxidant activity of Italian extra virgin olive oil Monti Iblei. *Journal of Medicinal Foods*. 2007 ; **10**: 650–656.
- 153.** Gambacorta GM, Faccia MA, Previtali S, Pati E, La Notte, Baiano A. Effects of olive maturation and stoning on quality indices and antioxidant content of extra virgin oils (cv. Coratina) during Storage. *Food Chem*. 2015; **75**: C229-C235.
- 154.** Garcia-Villalba R, Carrasco-Poncorbo A, Oliveras-Ferraro C, Vasquez-Martin A, Menéndez JA, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutiérrez A. Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and*

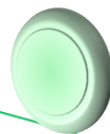
- Biomedical Analysis. 2010 ; **51** (2):416-429.
- 155.** Gavahian M, Mousavi Khaneghah A, Lorenzo JM, Munekata PES, Garcia-Mantrana I, Collado, MC, Meléndez-Martínez AJ, Barba FJ. Health benefits of olive oil and its components: Impacts on gut microbiota antioxidant activities, and prevention of non-communicable diseases. *Trends Food Sci. Technol.* 2019; **88** : 220–227.
- 156.** Georgé S, Brat P, Alter P, Amiot J. Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2005; **53**: 1370–1373.
- 157.** George ES, Marshall S, Mayr HL, Trakman GL, Tatuco-Babet OA, Lassemillante, ACM, Bramley A, et Reddy, AJ. The effect of high-polyphenol extra virgin olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019; **59**: 2772–2795.
- 158.** Gessica S, Angela A, Maria P, Serreli G, Bandino G, Sedda P, Campus M, Carlo IG, Tuberoso MD. Extra virgin olive oil phenolic extracts counteract the pro-oxidant effect of dietary oxidized lipids in human intestinal cells. *Food and Chemical Toxicology.* 2016; **90**: 171-180.
- 159.** Gessica S, Monica D, Jeremy PE, Spencer G. Olive Oil Phenolics Prevent Oxysterol-Induced Proinflammatory Cytokine Secretion and Reactive Oxygen Species Production in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells, Through Modulation of p38 and JNK Pathways. 2017; **61** : 12.
- 160.** Giuffrè AM. Influence of harvest year and cultivar on wax composition of olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2013; **115** (5): 549–555.
- 161.** Giuffrè AM. Biometric evaluation of twelve olive cultivars under rainfed conditions in the region of Calabria, South Italy. *Emirates Journal of Food and Agriculture.* 2017; **29** (9): 696.
- 162.** Giuffrè AM, Caracciolo M, Zappia C, Capocasale M. Effect of heating on chemical parameters of extra virgin olive oil, pomace olive oil, soybean oil and palm oil.. *Italian Journal of Food Science.* 2018; **30**(4): 715
- 163.** Giuliani A, Cerretani L, Cichelli A. Chlorophylls in olive and in olive oil: Chemistry and occurrences. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2011; **51**: 678–690.
- 164.** Goldschmidt EE. The Evolution of Tree Production: A Review. 2013; *Econ. Bot.* **67**: 51-62.



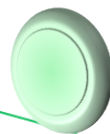
- 165.** González-Casado S, Martín-Belloso O, Elez-Martínez P, Soliva-Fortuny R. Application of pulsed electric fields to tomato fruit for enhancing the bioaccessibility of carotenoids in derived products. *Food Funct.* 2018; **9**: 2282-2289.
- 166.** Gorzynik-Debicka M, PrzychodzenP, Cappello F, Kuban-Jankowska A, Marino Gammazza A, Knap N, Wozniak M, Gorska-Ponikowska M. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; **19**: 686.
- 167.** Gouvinhas I, Machado N, Sobreira C, Dominguez R, Gomes S, Rosa E, Barros A. Critical review on the significance of olive phytochemicals in plant physiology and human health. *Molecules* 2017; **22**: 1986.
- 168.** Grati Kamoun N. Etude de la diversité génétique de l'olivier en Tunisie – Approche pomologique, chimique et moléculaire. Thèse de doctorat en sciences biologique Institut de l'olivier. Faculté des sciences de Sfax / Université de Sfax. 2007 ; 68-70.
- 169.** Gucci R, Caruso G, Gennai C, Esposito S, Urbani, S, Servili M. (2019). Fruit growth, yield and oil quality changes induced by deficit irrigation at different stages of olive fruit development. *Agricultural Water Management.* 2019 ; **212** : 88–98.
- 170.** Guerhazi Z, Gharsallaoui M, Perri E, Gabsi S, Benincasa C. Characterization of extra virgin olive oil obtained from whole and destoned fruits and optimization of oil extraction with a physical coadjuvant (talc) using surface methodology. 2015. *J Anal Bioanal Tech.* 2015 ; **6**: 278.
- 171.** Guissous M, Le Dréau Y, Boukhroune H, Madani T, Artaud J. Chemometric Characterization of Eight Monovarietal Algerian Virgin Olive Oils. *J Am Oil Chem Soc.* 2018; **95**: 267–281.
- 172.** Guiraud JP, (2003). *Microbiologie alimentaire.* Dunod, Paris.
- 173.** Gurdeniz G, Ozen B, Tokatli F. Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy. *European Food Research & Technology.* 2008; **227** : 1275-1281.
- 174.** Gutierrez F, Jimenez B, Ruiz A, Albi MA. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1999; **47** : 121-127.
- 175.** Gutiérrez F, Perdiguero S, Garcia JM et Castellano JM. Quality of oils from olives stored under controlled atmosphere. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1999; **69** : 1215-1218.



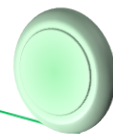
- 176.** Guo L, Sun Q, Gong S, Jiang W, Xue, Fei P. Antimicrobial Activity and Action Approach of the Olive Oil Polyphenol Extract Against *Listeria monocytogenes*. *Front. Microbiol.* 2019; **10** : 1586.
- 177.** Haddada FM, Manai H, Oueslati I, Daoud D, Sanchez J, Osorio E, Zarrouk M. Fatty acid, triacylglycerol, and phytosterol composition in six Tunisian olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2007; **55** : 10941-10946.
- 178.** Haddada FM, Krichène D, Manai H, Oueslati I, Daoud et Zarrouk M. Analytical evaluation of six monovarietal virgin olive oils from Northern Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2008; **110**: 905-913.
- 179.** Haddam M, Chimi H, El-Antari A, Zahouily M, Mouhibi R, Zaz A, Ibrahimi M. Caractérisation physico-chimique et stabilité oxydative des huiles d'olive des variétés Picholine marocaine, Haouzia, Koroneiki et Arbéquine de la région oléicole centrale du Maroc (Chaouia-Ouardigha). *OLIVÆ* . 2014 ; **119** : 23-35.
- 180.** Hammadi C. Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité, Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. 2006 ; 141 Maroc.
- 181.** Hernáez Á, Remaley AT, Farràs M, Fernández-Castillejo S, Subirana I, Schröder H, Fernández-Mampel M, Muñoz-Aguayo D, Sampson M, Solà R. Olive oil polyphenols decrease LDL concentrations and LDL atherogenicity in men in a randomized controlled trial. *J. Nutr.* 2015; **145**: 1692.
- 182.** Hillali M, Charrouf Z, Soulhi A, Hachimi L, Guillaume D. Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition. *J. Agric. Food Chem.* 2005 ; **53** :2081-2087.
- 183.** Hill T, Lewicki P. *Statistics: Methods and Applications* 1st Edition.2005. StatSoft, Inc.; 1st edition. 800p.
- 184.** Huang S, Wang, Q, Wang Y, Ying R, Fan, G, Huang M, Agyemang M. Physicochemical characterization and antioxidant activities of Chongqing virgin olive oil: effects of variety and ripening stage. *Journal of Food Measurement and Characterization.* 2020.
- 185.** Hohmann CD, Cramer H, Michalsen A, Kessler C, Steckhan N, Choi K, Dobos G. Effects of high E phenolic olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Phytomedicine.*2015; **22**: 631–640.
- 186.** Ilyasoglu H, Beraat O, Vera Van H, Roland V. Characterization of Aegean Olive Oils by Their Minor Compounds. *Journal of American Oil Chemists' Society.* 2010; **87**:



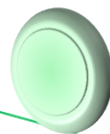
- 627-636.
- 187.** Inglese P. (1994). L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*, **54** : 42-44.
- 188.** Issaoui M, Flamini G, Brahmi F, Dabbou S, Ben Hassine K, Taamali A, Chehab H., Ellouz M, Zarrouk M, Hammamia M. Effect of the growing area conditions on differentiation between Chemlali and Chétoui olive oils. *Food Chemistry*. 2010 ; **119** : 220–225.
- 189.** ISO 4832. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes — Méthode par comptage des colonies. 2006. 90.60 ; ISO/TC 34/SC 9
- 190.** ISO 6883(1987) ISO 6883 Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la masse volumique conventionnelle (poids du litre dans l'air) : 2017.
- 191.** ISO 6320. specifies a method for the determination of the refractive index of animal and vegetable fats and oils. *Animal and vegetable fats and oils — Determination of refractive index*. 2017. *Animal and vegetable fats and oils*. Edition 5 :6p.
- 192.** ISO 660. Corps gras d'origines animale et végétale: Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité. 1996 révisée 2009 ; 3<sup>eme</sup> ed, 3p.
- 193.** ISO 662. Corps gras d'origines animale et végétale: Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles. 1980.
- 194.** ISO 3657., Corps gras d'origines animale et végétale: Détermination de l'indice de saponification. 1977.
- 195.** ISO 3960. Corps gras d'origines animale et végétale: Détermination de l'indice de peroxyde. 1977 révisée en 2017 ; 5<sup>eme</sup> ed. p10
- 196.** ISO 4833-1: Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes — Partie 1: Comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en profondeur. 2013. ; 90.93 ; SO/TC 34/SC 9.
- 197.** ISO 4833-2:2013/COR 1: Microbiologie de la chaîne alimentaire — méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes — partie 2: comptage des colonies a 30 °c par la technique d'ensemencement en surface — rectificatif technique 1. 2014 ; 60.60iso/tc 34/sc 9.
- 198.** ISO 6579-1:2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire — méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le serotypage des salmonella — partie 1: recherche des salmonella spp. 2017 ; 60.60ISO/TC 34/SC 9.



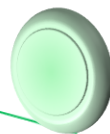
- 199.** ITAFV. Institut Technique d'arboriculture Fruitière et de la vigne (ITAFV). La culture de l'olivier. 2014 ; Site Web: [www.itafv.dz](http://www.itafv.dz)
- 200.** ITAFV. Institut Technique d'arboriculture Fruitière et de la vigne (ITAFV), 2016.
- 201.** IUPAC 1979. International Union of Pure and Applied Chemistry. Méthodes d'analyses des matières grasses et dérivés. 6ème édition. Edition ETIG. Paris.
- 202.** Jacotot B, L'huile d'olive de la gastronomie à la santé Paris. 1993. Artulen: 280.
- 203.** Jean-Marci A , Mireille H, qualité des huiles et acides gras de palme et des mélanges d'huile. cinquièmes journées de la recherche avicole,
- 204.** Jiménez-Carvelo AM, Cruz CM , Olivieri AC , González-Casado A, Cuadros-Rodríguez L. Classification of olive oils according to their cultivars based on second-order data using LC-DAD. 2019. **195** : 69-76.
- 205.** Joana S, A, Mafra I, Beatriz M, Oliveira PP. Characterization of Three Portuguese Varietal Olive Oils Based on Fatty Acids, Triacylglycerols, Phytosterols and Vitamin E Profiles: Application of Chemometrics. In: Victor R. Preedy and Ronald Ross Watson, editors, Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. Oxford: Academic Press, 2010: 581-589.
- 206.** Joaquin V, Carmen D. Oxydative stability of virgin olive oil. Eur.J. Lipidsc Technol.2002; **104** : 661-676.
- 207.** Kailis SG. Olives. In Encyclopedia of Applied Plant Sciences. 2017. Elsevier; 236– 245.
- 208.** Kalogeropoulos, N, Tsimidou M. (2014). Antioxidants in Greek Virgin Olive Oils. Antioxidants.2014; **3**(2): 387–413.
- 209.** Kalogeropoulos N et Kaliora AC. Effect of Fruit Maturity on Olive Oil Phenolic composition and Antioxidant Capacity. AOCS Press: Urbana, IL, USA, 2015.
- 210.** Karaosmanoglu H, Soyer F. Antimicrobial and antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2010; **58** (14): 8238–8245.
- 211.** Karleskind A. Manuel des Corps Gras .1992 ; edition : Tech. et Doc. Lavoisier ; (I-II) : 768-1571.
- 212.** Katerinopoulou K, Kontogeorgos A, Salmas CE, Patakas A, Ladavos A. Geographical Origin Authentication of Agri-Food Products: A Review. Foods. 2020 .13; **9**: 4-489.
- 213.** Kayel H, Mtiba H, Khelif M, Cossentini M. Light catalytic effect on olive oil oxidation. Summary in the proceeding of Technical Meeting of Working Groups 1 and 4, Plant Material and Oil Technology and Quality. Cordoba (Spain), 1994: 14-16.



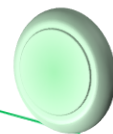
- 214.** Keceli T, Gordon MH. The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *J. Sci. Food Agric.* 2001; **81**: 1391–1396.
- 215.** Khallouki F, Younos C, Soulimani R, Charrouf Z. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 2003; **12** :67–75.
- 216.** Kiritsakis AK. Composition of olive oil. In *Olive Oil from the tree to the table*. Second Edition. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut. 1998; 006611, USA: 113-154.
- 217.** Kiritsakis AK. Flavor of olive oil- a review. *Journal of the American Oil Chemists Society.* 1998; **75** (6): 673-681.
- 218.** Korukluoglu M, Sahan YA. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea europaea* l. leaf extracts. *Journal of Food Processing and Preservation.* 2010 ; **34** (3): 383–396.
- 219.** Köseoglu O, Sevim D, Kadiroglu, P. Quality characteristics and antioxidant properties of Turkish monovarietal olive oils regarding stages of olive ripening. *Food Chemistry.* 2016; **212**: 628–634
- 220.** Kumari B, Tiwari BK, Hossain MB, Brunton NP, Rai DK. Recent advances on application of ultrasound and pulsed electric field technologies in the extraction of bioactives from agro-industrial by-products. *Food Bioprocess Technol.* 2018; **11**: 223–241.
- 221.** Lachibi M, Chehat F, Belhouadjeb FA. Oils seeds and fats, *Crops and Lipids* . 2019; **26**: 12.
- 222.** Laïb M. La 3<sup>ème</sup> édition du Concours National de la Meilleure Huile d'Olive Vierge Extra Algérienne. prix à la qualité Campagne 2019-2020.
- 223.** Laïb M. Production record de plus de 19,6 millions de litres d'huile d'olive. *Reporters, quotidien national de l'information* 2020.
- 224.** Laincer F, Laribi R, Tamendjari A, Arrar L, Rovellin P, Venturin S. Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. 2014. *Grasas y Aceites*; **65** (1).
- 225.** Lama A, Pirozzi C, Pia Mollica M, Trinchese G, Di Guida F, Cavaliere G, Calignano A, Mattace Raso M, Berni Canani R, Meli R. Polyphenol-rich virgin olive oil reduces insulin resistance and liver inflammation and improves mitochondrial dysfunction in high-fat diet fed rats *Molecular Nutrition & Food Research.* 2017; **61**:3.



- 226.** Lamani O, Ilbert H. Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie): pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. In: Ater M, Essalouh L, Ilbert H, Moukhli A, Khadari B, eds. L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques. Montpellier : CIHEAM. 2016a ; Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens n° 118 : 149–159.
- 227.** Lamani O, Ilbert H.(2018). Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie) : pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole. CIHEAM-IAMM, UMR.
- 228.** Lanza B, Ninfali P.O Antioxidants in Extra Virgin Olive Oil and Table Olives: Connections between Agriculture and Processing for Health Choices. Antioxidants 2020; **9** (1): 41.
- 229.** Laroussi-Mezghani S, Vanloot P, Molinet J, Dupuy N, Hammami M, Grati-Kamoun N, Artaud J. Authentication of Tunisian virgin olive oils by chemometric analysis of fatty acid compositions and NIR spectra.Comparison with Maghrebian and French virgin olive oils. Food Chemistry, Elsevier. 2015; **173**: 122-132.
- 230.** Lavelli L.Comparison of the antioxidant activities of extra virgin olive oils J. Agri. Food Chem.2002; **50** : 7704–7708.
- 231.** Lazzerini C, Cifelli M, Domenici V. Pigments in extra-virgin olive oil: Authenticity and quality. In Products from Olive Tree; Books on Demand: McFarland, WI, USA, 2016.
- 232.** Lazzerini C et Valentina D. Pigments in Extra-Virgin Olive Oils Produced in Tuscany (Italy) in Different Years . Foods. 2017; **6**: 25.
- 233.** Lee OH, Lee BY. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in Olea europaea leaf extract. Bioresource Technology. 2010; **101** (10): 3751–3754.
- 234.** Lee HC, Jenner AM, Low CS, Lee, YK. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. Res. Microbiol. 2006; **157** : 876–884.
- 235.** Leonardis A. et Macciola V. Catalytic effet of the Cu (II) and (III) cyclohexane butyrates on olive oil oxidation measured by rancimat. European Journal of Lipids and Science and technology. 2002: 156-160.
- 236.** Leporini MS , Loizzo MR, Concetta M, Falco T , Sicari V , Teresa M, Tundis P. Calabrian extra-virgin olive oil from Frantoio cultivar: chemical composition and health properties Emirates Journal of Food and Agriculture. 2018; **30** (7): 631-637



- 237.** Lin S, Wang Z, Lam KL, Zeng, S, Tan BK, Hu J. Role of intestinal microecology in the regulation of energy metabolism by dietary polyphenols and their metabolites. *Food Nutr. Res.* 2019; **63**: 1518.
- 238.** Limketkai BN, Wolf A, Parian AM. Nutritional Interventions in the patient with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2018; **47**: 155–177.
- 239.** López-Biedma A, Sánchez-Quesada C, Delgado-Rodríguez M, Gaforio JJ. The biological activities of natural lignans from olives and virgin olive oils: A review. *J. Funct. Foods* . 2016.
- 240.** López-Yerena A, Lozano-Castellón J, Olmo-Cunillera A, Tresserra-Rimbau A, Quifer-Rada P, Jiménez B, Vallverdú-Queralt A. Effects of Organic and Conventional Growing Systems on the Phenolic Profile of Extra-Virgin Olive Oil. *Molecules.* 2019; **24**(10): 1986.
- 241.** Malvis A, Simon P, Dubaj T, Sladkova A, Haz A, Jablonsky M, Surina I et Burcova Z. Determination of the Thermal Oxidation Stability and the Kinetic Parameters of Commercial Extra Virgin Olive Oils from Different Varieties. *Journal of Chemistry.* 2019; 1-8.
- 242.** Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jimé'nez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2004; **79** (5):727-47.
- 243.** Mansouri F, Ben moumen A, Belhaj K, Richard G, Fauconnier ML, Sindic M, Serghini Caid H, Elamran A. Effect of crop season on the quality and composition of extra virgin olive oils from Greek and Spanish varieties grown in the Oriental region of Morocco. *Emirates Journal of Food and Agriculture.* 2018; **30** (7): 549-562
- 244.** Marco DR, Gomes da Silva AM, Costa Freitas MJ? Cabrita B, Garcia R. in *Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions book* . 2012 Edited by Dimitrios Boskou; 17-46.
- 245.** Mariani C, Bellan G. On the possible increase of alkyl esters in extra virgin olive oil. Note 2. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse.* 2013; **90** : 211–217.
- 246.** Martín-Peláe S, Castañer O, Konstantinidou V, Subirana I, Muñoz Aguayo D, Blanchart G, Gaixas S, Torre R, Farré M, Sáez G, Nyssönen K, Zunft HJ, Covas MI. Effect of olive oil phenolic compounds on the expression of blood pressure-related genes in healthy individuals. *European Journal of Nutrition.* 2017; **56** (2): 663–670.
- 247.** Martín-Peláez S, Mosele JI, Pizarro N, Farràs M, De la Torre R, Subirana I, Pérez-Cano FJ, Castañer O, Solà R. Effect of virgin olive oil and thyme phenolic compounds on

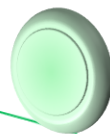


- blood lipid profile: Implications of human gut microbiota. *Eur. J. Nutr.* 2017; **56**, 119–131.
- 248.** Mchugh T. The olive tree is native to the Mediterranean basin. Institute of Food Technologists .2015.
- 249.** Mendil M, Sebai A. Catalogue Algérien des variétés d'olivier, l'olivier en Algérie : aperçu sur le patrimoine génétique autochtone. 2002; 104.
- 250.** Medina E, De Castro A, Romero C. Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2006; **54** : 4954–4961.
- 251.** Medina ER et Brenes C. Antimicrobial activity of olive oil, vinegar, and various beverages against foodborne pathogens. *Journal of food protection.* 2007; **70** (5): 1194-119.
- 252.** Mendoza MF, Concepción DM, Gordillo JM, Expósito JS, Casas ,Martínez M. Cano D, Vertedor M, Franco B. *Food Chemistry.* 2013; **141** (3): 2575-2581.
- 253.** Mikrou, T, Pantelidou E, Parasyri N, Papaioannou A, Kapsokefalou M, Gardeli C, Mallouchos A. Varietal and Geographical Discrimination of Greek Monovarietal Extra Virgin Olive Oils Based on Squalene, Tocopherol, and Fatty Acid Composition. *Molecules.*2020; **25** (17): 3818.
- 254.** Mokkalá K, Houttu N, Cansev T, Laitinen K. Interactions of dietary fat with the gut microbiota: Evaluation of mechanisms and metabolic consequences. *Clin. Nutr.* 2020 ; **39** : 994–1018.
- 255.** Molina-Garcia L, Santos CSP, Cunha SC, Casal S et Fernandes JO. Comparative fingerprint changes of toxic volatiles in low PUFA vegetable oils under deep-frying. *JAOCS J. Am. Oil Chem. Soc.* 2017; **94** : 271–284.
- 256.** Moorthy M, Chaiyakunapruk N, Jacob SA, Palanisamy UD. Prebiotic potential of polyphenols, its effect on gut microbiota and anthropometric/clinical markers: A systematic review of randomised controlled trials. *Trends Food Sci. Technol.* 2020, **99** : 634–649.
- 257.** Morelló JR, Vuorela S, Romero MP, Motilva MJ et Heinonen M. Antioxidant activity of olive pulp and olive oil phenolic compounds of the arbequina cultivar. *J. Agric. Food Chem.* 2005; **53** : 2002–2008.
- 258.** Mouawad M, Harb W, Daoud R, Medawar S, Ouaini R, Chebib H, Estephan N, Rutledge DN et Ouaini N. Effet de l'altitude, du sol et du pressoir sur la qualité d'huile d'olive.

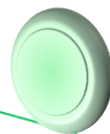
Faculté des Sciences et de Génie informatique, Université Saint-Esprit de Kaslik, Liban. 2017.

- 259.** Muzzalupo I, Perri E. Recovery and characterisation of DNA from virgin olive oil. *Eur Food Res Technol.* 2002; **214**: 528–531.
- 260.** Muzzalupo I, Pellegrino M, Enzo P. *Sensory Analysis of Virgin Olive Oils.* 2012; Edited by Innocenzo Muzzalupo.
- 261.** Muto E, Dell’Agli M, Sangiovanni E, Mitro N, Fumagalli M, Crestani, De Fabiani E et Caruso D. Olive oil phenolic extract regulates interleukin-8 expression by transcriptional and posttranscriptional mechanisms in Caco-2 cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 2015 ; **59** : 1217–1221.
- 262.** Nanda N, Mahmood S, Bhatia A, Mahmood A, Dhawan DK. Chemopreventive role of olive oil in colon carcinogenesis by targeting noncoding RNAs and methylation machinery. *Int. J. Cancer.* 2019 ; **144** : 1180–1194.
- 263.** Nefzaoui A. Valorisation des sous-produits de l’olivier, CIHEAM-Options méditerranéennes. Série séminaires. 1991 ; **16** :61-65.
- 264.** Negro C, Aprile A, Luvisi A, Nicolì F, Nutricati E, Vergine M, Miceli M, Blando F, Sabella E, De Bellis L. Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Italian Monovarietal Extra Virgin Olive Oils Antioxidants.2019; **8**: 161.
- 265.** Nicasio T, Vera Palma GM, Garcia R, Barrocas Dias C, Cabrita MJ. Combination of Stable Isotope Analysis and Chemometrics to Discriminate Geoclimatically and Temporally the Virgin Olive Oils from Three Mediterranean Countries. *Foods.* 2020, **9** (12): 1855.
- 266.** Niaounakis M, Halvadakis CP. *Olive Processing Waste Management (Literature Review and Patent Survey).* 2006; 2<sup>nd</sup> Edition, Elsevier.
- 267.** Nithya R, Subramanian S. Antioxidant properties of sinapic acid: in vitro and in vivo approach. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 2017 ; **10** (6) : 255-262.
- 268.** Observatoire national des filières agricole et agroalimentaire (ONFAA). *Importation et exportation de l’huile d’olive en Algérie.* 2014.
- 269.** Observatoire national des filières agricole et agroalimentaire (ONFAA). *La production nationale des olives et huile.* 2017.
- 270.** Ocakoglu D, Tokatli F, Ozen B, Korel F. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for -two harvest years.

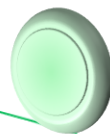
- Food Chemistry. 2009 ; **113**: 401-410.
- 271.** Ollé M. Analyse des corps gras DGCCRF. Laboratoire interrégional de Montpellier France. Techniques de l'ingénieur. 2002 ; 3325.
- 272.** Oueslati I, Anniva C, Daoud D, Tsimidou MZ et Zarrouk M. Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. Food Chemistry. 2009; **112**: 733-741.
- 273.** Ollivier D, Artaud J, Pinatel C, Durbec JP, Guère M. Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003; **51** (19): 5723-5731.
- 274.** Ollivier C, Pinatel V, Ollivier D, Artaud J. Creation of a database of the fatty acid and triacylglycerol composition of virgin olive oils produced from 34 French varieties, eight French designations of origin and two foreign varieties grown in France (Part I). OLIVÆ. 2014: 119.
- 275.** Ouzzani N, Lumaret R, Villemeur P. Apport du polymorphisme alloenzymatique à l'identification variétale de l'olivier (*Olea europaea*L.). Agronomie. 1995 ; **15** :31-37.
- 276.** Owen RW, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalder B, Bartsch H. Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. Clin. Chem; 2000. **46**: 976–988.
- 277.** Ozdal T, Sela DA, Xiao J, Boyacioglu D, Chen F, Capanoglu E. The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. Nutrients. 2016; **8**: 78.
- 278.** Paraskevi K, Tsakiri G, Tzortzi D, Dimopoulou S, Sarikaki G, Stathopoulos P, Veskoukis S, Skaltsounis AL, Kouretas D. The polyphenolic composition of extra Derived from Greek Extra Virgin Olive Oil is correlated with their Antioxydant potency. Oxydative Medicine and Cellular Longevity. 2019; **13**.
- 279.** Pardo JE, Cuesta MA et Alvarruiz A. Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin "Aceite Campo de Montiel"(Ciudad Real, Spain). Food Chemistry. 2007 ; **100**: 977–984.
- 280.** Patumi M, d'Andria R, Marsilio V, Fontanazza G. Olive and olive oil quality after intensive monocone olive growing (*Olea europaea* L., cv. Kalamata) in different irrigation regimes. Food Chemistry. 2001; **77**(1): 27-34. 2002
- 281.** Paz Aguilera M, Gabriel Beltrán, Domingo Ortega, Antonia Fernández, Antonio Jiménez, Marino Uceda. Characterization of virgin olive oil of Italian olive



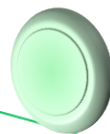
- cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia; *Food Chemistry*. 2005; **89** (3): 387-391.
- 282.** Piroddi M, Albini A, Fabiani R, Giovannelli L, Luceri C, Natella F, Rosignoli P, Rossi T, Taticchi A, Servili M. Nutrigenomics of extra-virgin olive oil: A review. *BioFactors* 2017; **43**: 17-41.
- 283.** Portarena S, Baldacchini C, Brugnoli E. Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis. *Food Chem*. 2017 ; **215** :1-6.
- 284.** Puértolas E, Luengo E, Álvarez I, Raso J. Improving mass transfer to soften tissues by pulsed electric fields: fundamentals and applications. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2012; **3**: 263.
- 285.** Rabiei Z, Tahmasebi S. Traceability of Origin and Authenticity of Olive Oil. In *Olive Oil Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. 2012. ed. InTech
- 286.** Rahmani M. Mise au point sur le rôle des pigments chlorophylliens dans la photo-oxydation de l'huile d'olive vierge. *Olivae*. 1989; **26**: 30-32.
- 287.** Ranalli, A. et Angerosa, F. (1996). Integral centrifuges for olive oil extraction. The qualitative characteristics of products. *Society, Journal of the American Oil Chemist's*. **73**: 417-422.
- 288.** Ranalli A, De Mattia G, Ferrante ML, Giansante L. Incidence of olive cultivation area on the analytical characteristics of the oil. Note 1. *Riv. Ital. Sostanze .Grasse*. 1997. **74**: 501-508.
- 289.** Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice- Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS.+ radical cation decolorization assay. *Free Radic.Biol. Med*. 1999. **26**: 1231-1237.
- 290.** Reboredo-Rodriguez P, Varela-Lopez A, Forbes-Hernandez TY, Gasparrini M, Afrin S, Cianciosi D, Zhang J, Manna PP, Bompadre S et Quiles JL. Phenolic Compounds Isolated from Olive Oil as Nutraceutical Tools for the Prevention and Management of Cancer and Cardiovascular Diseases. *Int. J. Mol. Sci*. 2018. **6;19** (8): 2305.
- 291.** Renaud S. Cretan Mediterranean on diet for the prevention of coronary heart disease *Am.J.Clin.Nutr* . 1995; **61** (3): 1360-13675.
- 292.** Ricci A, Parpinello GP, Versari A. Recent advances and applications of Pulsed Electric Fields (PEF) to improve polyphenol extraction and color release during red winemaking. *Beverages*. 2018; **4**:18.



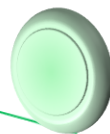
- 293.** Rivas A, Sanchez-Ortiz A, Jimenez B. Phenolic acid content and sensory properties of two Spanish monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 1998; **115**: 621-630.
- 294.** Rodrigues N, Casal S, Peres AM, Baptista P, Bento A, Martín H, Asensio S Manzanera, MC et Pereira JA. Effect of olive trees density on the quality and composition of olive oil from cv. Arbequina. *E Sci. Hortic*. 2018; **238**: 222–233.
- 295.** Rohman A, Riyanta AB, Lukitaningsih E, Riyanto S. Olive (*Olea europea*) oil: physico-chemical characterization and antioxidant activities in vitro and in vivo. *Food Research*. 2019: 1-8.
- 296.** Romani A, Ieri F, Urciuoli S, Noce A, Marrone G, Nediani C, Bernini R. Health Effects of Phenolic Compounds Found in Extra-Virgin Olive Oil, By-Products, and Leaf of *Olea europaea* L. *Nutrients*. 2019, 1; **11**(8):1776.
- 297.** Rosignoli P, Fuccelli R, Fabiani R, Servili M, Morozzi GE. effect of olive oil phenols on the production of inflammatory mediators in freshly isolated human monocytes. *J. Nutr. Biochem*. 2013; **24**: 1513–1519.
- 298.** Rosillo MA, Sánchez-Hidalg M, Sánchez-Fidalgo S, Aparicio Soto M, Villegas I, Alarcón-de-la-Lastra C. Dietary extra-virgin olive oil prevents inflammatory response and cartilage matrix degradation in murine collagen-induced arthritis. *Eur. J. Nutr*. 2016; **55**: 315–325.
- 299.** Ryan D, Robardas K et Lavee S. Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*. 1998; **72** : 26-38.
- 300.** Ryan D, Antonovitch M, Prenzel P et Lavee S. Biotransformation of phenolic compounds in *Olea europea* L. *Scientia Horticulturae*. 2002 ; **92**: 147-176.
- 301.** Sadkaoui A, Jiménez A, Aguilera MP, Pacheco R, Beltrán G. Virgin olive oil yield as affected by physicochemical talc properties and dosage. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2017; **119** (1): 1600112.
- 302** Salvador MD, Aranda F, Gómez-Alonso S et Fregapane G. Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. *Food Chemistry*. 2003; **80**: 359-366.
- 303.** Sanchez Casas JJ, De Miguel Gordillo C et Marin Exposito J. La qualité de l'huile d'olive provenant de variétés cultivées en Estrémadure en fonction de la composition et de la maturation de l'olive. *Olivae*. 1999 ; **75**: 31-36.
- 304.** Sánchez J et Harwood JL. Biosynthesis of triacylglycerols and volatiles in olives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 2002 ; **104** : 564–573.



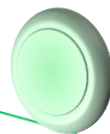
- 305.** Santangelo C, Vari R, Scazzocchio B, De Sanctis P, Giovannini C, D'Archivio M, Masella R. Anti-inflammatory Activity of Extra Virgin Olive Oil Polyphenols: Which Role in the Prevention and Treatment of Immune-Mediated Inflammatory Diseases? *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*. 2018 ; **18** (1): 36-50.
- 306.** Santana M, Sanna ML, Multineddu C, Fancello F, de la Fuente SA, Dettori S, Zara, S. Microbial biodiversity of Sardinian oleic ecosystems. *Food Microbiol*. 2018 ; **70** :65–75.
- 307.** Schwingshackl L, Homann G. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease: Synopsis of the evidence available from systematic reviews and meta-analyses. *Nutrients*. 2012 ; **4** :1989.
- 308.** Schwingshackl L, Christoph M, Homann G. Effects of olive oil on markers of inflammation and endothelial function—A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2015 ; **7** : 5356.
- 309.** Sekour B. Phytoprotection de l'huile d'olive vierge (HOV) par ajout des plantes végétales (Thym, ail, romarin). Magister en Génie Alimentaire, Université de Boumerdes. 2012 ; 127.
- 310.** Servili M, Montedoro JF. Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*; (2002). **104**: 602–613.
- 311.** Servili M, Esposto S, Fabiani R, Urbani S, Taticchi A, Mariucci F, Selvaggini R, Montedoro GF. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*. 2009; **17** (2): 76-84.
- 312.** Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM . Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants By means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*. 1999; **299**: 152-178.
- 313.** Spanova M, Daum G. Squalene: Biochemistry, Molecular Biology, Process Biotechnology and Applications. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2011; **113** : 1299-1320.
- 314.** Slim S, Rodrigues N, Veloso ACA, Dias LG , Cruz R , Casal S, Oueslati S, Pereira JA , Peres AM. Characterization of commercial Tunisian monovarietal olive oils produced from autochthonous olive cultivars *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2018; **30** (7): 581-591



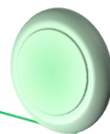
- 315.** Sordini B, Sonia E, Stefania U, Gianluca V, Ilona DM, Selvaggini R et Taticchi A. Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants (Basel)*. 2013 ; **20**;**3** (1): 1-23.
- 316.** Souayah F, Rodrigues N, Veloso ACD, Dias L, Pereira JA, Oueslati S, Peres A. Discrimination of Olive Oil by Cultivar, Geographical Origin and Quality Using Potentiometric Electronic Tongue Fingerprints. *J Am Oil Chem Soc* 2017 ; **94**: 1417–1429.
- 317.** Starec M, Calabretti A, Berti F, Forzato C. Oleocanthal Quantification Using H NMR Spectroscopy and Polyphenols HPLC Analysis of Olive Oil from the Bianchera/Belica Cultivar. *Molecules*. 2021; **5**; **26**(1): 242.
- 318.** Storniolo CE, Casillas R, Bulló M, Castañer O, Ros E, Sáez GT, Toledo E, Estruch R, Ruiz-Gutiérrez V, Fitó MM, Martínez-González A, Salas-Salvadó J, Mitjavila MT et Moreno JJ. A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women. *European Journal of Nutrition*. 2017; **56** (1): 89–97.
- 319.** Sun Y, Neelakantan N, Wu Y, Lote-oke R, Pan A, Dam RM. Van palm oil consumption increases LDL cholesterol compared with vegetable oils low in saturated fat in a meta-analysis of clinical. *J. Nutr. Nutr. Epidemiol*. 2015; **145**: 1549–1558.
- 320.** Tafesh A, Najami N et Jadoun J. Synergistic Antibacterial Effects of Polyphenolic Compounds from Olive Mill Wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011; **9**.
- 321.** Tagliafierro L, Officioso A, Sorbo S, Basile A, Manna C. The protective role of olive oil hydroxytyrosol against oxidative alterations induced by mercury in human erythrocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 2015; **82** : 59-63.
- 322.** Tanouti K, Elamrani A, Serghini-Caid H, Khalid A, Bahetta Y, Benali A. Caractérisation d'huiles d'olive produits dans des coopératives pilotes (Lakarma et Kenine) au niveau du Maroc oriental, *Les technologies de laboratoire*. 2010 ; **5** (18) :18-26.
- 323.** Tanouti K, Serghini-Cald H et Chaleb E. Amélioration qualitative d'huile d'olive produites dans le maroc oriental. *Les technologies de Laboratoire*. 2011 ; **6** :22.
- 324.** Taleb H, Maddocks SE, Morris RK, Kanekanian AD. The antibacterial activity of date syrup polyphenols against *S. aureus* and *E. coli*. *Frontiers in Microbiology*. 2016; **7** (198).
- 325.** Talhaoui N, Gómez-Caravaca MA, León L. From Olive Fruits to Olive Oil: Phenolic Compound Transfer in Six Different Olive Cultivars Grown under the Same



- Agronomical Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016 ; **17** (337).
- 326.** Tena N, Wang SC, Aparicio-Ruiz R, García-González DL, Aparicio R. In-depth assessment of analytical methods for olive oil purity, safety, and quality characterization. *J. Agric. Food Chem.* 2015; **63**: 4509–4526.
- 327.** Terral JF, Durand A, Newton C et Ivorra S. Archéo-biologie de la domestication de l'olivier en Méditerranée occidentale: de la remise en cause d'une histoire dogmatique à la révélation de son irrigation médiévale. 2007 ; **21**.
- 328.** Terral A, Newton C, Ivorra S. Archéo-biologie de la domestication de l'olivier en Méditerranée occidentale: de la remise en cause d'une histoire dogmatique à la révélation de son irrigation médiévale. *Études héraultaises, Montpellier : Association Etudes sur l'Hérault*, 2009 ; **233** :13-25.
- 329.** Titouh K, Mazari A et Aït Meziane AZ. Contribution to improvement of the traditional extraction of olive oil by pressure from whole and stoned olives by addition of a co-adjuvant (talc). *Oils eeds and fats, Crops and Lipids*. 2020; **27** (23):7.
- 330.** Tovar MJ, Motilva MJ, Romero MPC. hanges in the phenolic composition of virgin olive oil from young trees (*Olea europaea* L Cv Arbequina) grown under linear irrigation strategies, *J. Agric. Food. Chem*; **49**, 5502-5508.
- 331.** Tovar MJ, Romero MP, Alegre S, Girona J, Moltiva MJ. Composition and organoleptic characteristics of oil from Aebequina olive (*Olea Europaea* L) trees under deficit irrigation , *J Sci Food Agri*. 2002; **82** (1): 1755-1763.
- 332.** Trichopoulou A, Lagiou P, Kuper H, Trichopoulos D. Cancer and Mediterranean dietary traditions. Department of Hygiene and Epidemiology, University of Athens Medical School, Greece. *Cancer Epidemiol Biomarkers*. 2000; **9**: 869-873.
- 333.** Tripoli E, Giammanco M, Tabacchi G, Di Majo D, Giammanco S, La Guardia M. The phenolic compounds of olive oil: Structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutr. Res. Rev.* 2005; **18**: 98–112.
- 334.** Tunçel G, Nergiz C. Antimicrobial effect of some olive. Phenols in a laboratory medium. *Lett. Appl Microbiol.* 1993. **17**: 300–302.
- 335.** Tura D, Failla O, Bassi D, Pedo S, Serraiocco A. Cultivar influence on virgin olive (*Olea europea* L.) oil flavor based on aromatic compounds and sensorial profile. *Sci Hortic*. 2008; **118** (2): 139-148.



- 336.** Turkmen N, Velioglu YS, Sari F, Polatc G. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea molecules. 2007; **12**: 484-496.
- 337.** Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010; **2** :1231-1246.
- 338.** UIPA 2.101 and 2.102 (7<sup>th</sup> edition) .Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives 1st Supplement to the 7th Edition.
- 339.** Veillet S. (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive: Entre Tradition et Innovation. these de doctorat en Sciences de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse Academie d'aix-marseille. 151.
- 340.** Veneziani G, Sordini B, Taticchi A, Esposito S, Selvaggini R, Urbani S, Di Maio I, Servili M. Improvement of Olive Oil Mechanical Extraction: New Technologies, Process Efficiency, and Extra Virgin Olive Oil Quality. *Products from Olive Tree Dimitrios Boskou and Maria Lisa Clodoveo*. IntechOpen. 2016.
- 341.** Veneziani G, Esposito S, Taticchi A. Characterization of phenolic and volatile composition of extra virgin olive oil extracted from six Italian cultivars using a cooling treatment of olive paste. *Food Science and Technology*. 2018 ; **87**: 523-528.
- 342.** Veneziani G, Esposito S, Agnese T, Roberto S, Beatrice S, Antonietta L, Luigi D, Mauro Pagano Tomasone R, et Servili M. . Extra-Virgin Olive Oil Extracted Using Pulsed Electric Field Technology: Cultivar Impact on Oil Yield and Quality. *Frontier in Nutrition* 2019; **6**: 134.
- 343.** Vera DN, Jiménez-Carvelo AM, Cuadros-Rodríguez L, Ruisánchez I. Authentication of the geographical origin of extra-virgin olive oil of the Arbequina cultivar by chromatographic fingerprinting and chemometrics. *MP.Talanta*. 2019; **1** (203):194-202.
- 344.** Vichi S, Pizzale L et Conte LS. Volatile phenols in virgin olive oil: Influence of olive variety on their formation during fruits storage. *Food Chemistry*. 2009 ; **116** (3):651-656.
- 345.** Vidal AM, Alcalá S, De Torres A, Moya M, Espínola F. Use of talc in oil mills: Influence on the quality and content of minor compounds in olive oils. *LWT-Food Sci Technol*. 2018; **98**: 31–38.
- 346.** Viola P. (1997). L'olivier, l'huile d'olive Conseil Oléicole International. 115.
- 347.** Violino S, Ortenzi L, Antonucci F, Pallottino F, Benincasa C, Figorilli S, Corrado C. An Artificial Intelligence Approach for Italian EVOO Origin Traceability through an Open Source IoT Spectrometer. *Foods*. 2020; **9**: 834.



- 348.** Vuletin Selak G, Raboteg M, Dubost A, Abrouk D, Žanić K, Normand P, Pujić P. Whole-Genome Sequence of a *Pantoea* sp. Strain Isolated from an Olive (*Olea europaea* L.) Knot. *Microbiol. Resour. Announc.* 2019; **8** : e00978-19.
- 349.** Wolff JP . Manuel d'analyses des corps gras. 1968. *Ed.* Azoulay, Paris.
- 350.** Xiang C, Xu Z Liu J, Li T, Yang Z, Ding C. Quality, composition, and antioxidant activity of virgin olive oil from introduced varieties at Liangshan. *LWT-Food Science and Technology.* 2017; **78**: 226-234.
- 351.** Yang DP, Kong DX, Zhang HY. Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry.* 2007. **104** (3): 1269-1271.
- 352.** Yanik DK. Alternative to traditional olive pomace oil extraction systems: Microwave-assisted solvent extraction of oil from wet olive pomace. *LWT- Food Science and Technology.* 2017; **77**:45-51
- 353.** Yousfi KM, Cert R, Garcia J M. Changes in phenolic compounds of virgin Olive oils during objectively described fruit maturation. *European Food Research Technology.* 2006 ; **223**: 117-124.
- 354.** Yubero-Serrano EM, Lopez-Moreno J, Gomez-Delgado F Lopez-Miranda J. Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2019; **72**:8-17.
- 355.** Yunus M. Refractive Index and Fourier Transform Infrared Spectra of Virgin Coconut Oil and Virgin Olive Oil W. *American Journal of Applied Sciences.*2009; **6** (2): 328-331.
- 356.** Zarrouk M, Marzouk B, Ben Milled D, Cherif A. Accumulation de la matière grasse de l'olive et effet du sel sur sa composition. *Olivae.* 1996; **61** : 41-46.
- 357.** Zarrouk W, Haddada FM, Baccouri B, Oueslati I, Taamalli W, Fernandez Z, Lizzani-Cuvelier L, Daoud D et Zarrouk M. Characterization of virgin olive oil from Southern Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2008 ; **110**: 81-88.
- 358.** Zullo BA, Maiuro L, Ciafardini G. Survival of Coliform Bacteria in Virgin Olive Oil. *Biomed Research International .* 2018: 8490614.

# Activités antibactériennes des constituants de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive

## Antibacterial Activities of the Components of the Unsaponifiable Fraction of Olive Oil

S. Metlef · A. Dilmi-Bouras · A. Zidane · M. Benali

© Lavoisier SAS 2021

**Résumé** Le présent travail vise à déterminer les teneurs de quelques constituants de la fraction insaponifiable de treize échantillons d'huile d'olive provenant de plusieurs régions d'Algérie, tout en évaluant leurs activités antibactériennes à l'égard de huit souches ATCC potentiellement pathogènes. La teneur en polyphénols totaux dans les échantillons a varié significativement ( $p < 0,05$ ) d'un extrait à un autre, et les valeurs les plus importantes ont été enregistrées dans les extraits de Skikda et Tissemsilt ( $207,97 \pm 1,75$  mg d'acide gallique/kg et  $202,97 \pm 2,67$  mg d'acide gallique/kg respectivement). La teneur en flavonoïdes totaux dans les différents extraits était variable. Les teneurs les plus élevées ont été enregistrées dans les extraits d'Ain-Defla et Blida, alors que l'extrait de Jijel a été le plus riche en flavonols, avec une valeur de  $258,22 \pm 13,00$  mg/kg. Aucune corrélation n'a été établie entre la teneur en polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux. Les souches bactériennes ont montré un comportement variable entre la sensibilité, l'extrême sensibilité et la résistance vis-à-vis des extraits phénoliques avec une corrélation négative entre la teneur en polyphénols

totaux et l'activité antibactérienne, tandis que les concentrations minimales inhibitrices les plus faibles ont été enregistrées avec les extraits qui ont donné les diamètres des zones d'inhibition les plus élevées.

**Mots clés** Activité antibactérienne · Fraction insaponifiable · Huile d'olive · Extrait phénolique · Souche bactérienne

**Abstract** The purpose of this work is to determine the contents of some constituents of the unsaponifiable fraction of thirteen samples of olive oil from several areas of Algeria, all by assessing their antioxidant and antibacterial activities against eight potentially pathogenic ATCC strains. The total polyphenol content in the samples varied significantly ( $P < 0.05$ ) from one extract to another and the most important values were recorded to the extracts of Skikda and Tissemsilt ( $207.97 \pm 1.75$  mg gallic acid/kg and  $202.97 \pm 2.67$  mg gallic acid/kg, respectively). The total flavonoid content in the various extracts was variable. The highest levels were recorded in the extracts of Ain-Defla and Blida. While Jijel extract was the richest in flavonoids with a value of  $258.22 \pm 13.00$  mg/kg, no correlation was found between total polyphenols and total flavonoids. Bacterial strains showed variable behavior between sensitivity, extreme sensitivity and resistance to phenolic extracts with a negative correlation between total polyphenol content and antibacterial activity while the lowest MICs were recorded with the extracts that gave the diameters of the highest inhibition zones.

**Keywords** Antibacterial activity · Unsaponifiable fraction · Olive oil · Polyphenols · Bacterial strain

## Introduction

L'olive et son huile ont toujours été les composants clés du régime méditerranéen pendant des décennies, en raison de leur haute qualité nutritionnelle et de leurs effets positifs

S. Metlef (✉)

Laboratoire de bioressources naturelles, département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Djillali-Liabès, Sidi-Bel-Abbès 022002, Algérie  
e-mail : saranimamgs@yahoo.fr

A. Dilmi-Bouras

Laboratoire de bioressources naturelles, département des sciences alimentaires et nutrition humaine, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Hassiba-Benbouali, Chlef 02000, Algérie

A. Zidane

Laboratoire de bioressources naturelles, département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Hassiba-Benbouali, Chlef 02000, Algérie

M. Benali

Laboratoire de biotoxicologie, département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Djillali-Liabès, Sidi-Bel-Abbès 022002, Algérie

sur la santé [1,2]. Les huiles d'olive vierges sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques qui n'entraînent pas l'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. Elles sont composées d'une fraction saponifiable (constituant 95 à 99 % de l'huile d'olive) et d'une fraction insaponifiable (constituant 0,1 à 5 %) représentées principalement par des composés phénoliques [3].

Les effets bénéfiques sur la santé de l'huile d'olive extra-vierge ont été attribués, en plus de la teneur en graisses mono-insaturées, à la présence de composés phénoliques qui ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et immunomodulatrices [4]. Ces composés sont des antioxydants puissants et des piègeurs de radicaux libres [5].

Les composés de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive tels que l'hydroxytyrosol, le tyrosol et l'oleuropéine ont de puissantes propriétés antimicrobiennes. Ces composés agiraient sur certaines bactéries responsables de maladies infectieuses, intestinales et respiratoires chez l'homme en empêchant ou en retardant leur croissance [6,7].

Cicerale et al. et Yildiz et Uylaser [8,9] ont mis l'accent sur les activités antibactériennes des extraits phénoliques de trois échantillons d'huile d'olive d'origine turque contre *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia sp.*, *Salmonella enterica*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella sonnei* et *Candida albicans*.

A contrario, peu de travaux ont traité l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de l'huile d'olive d'origine algérienne, d'où l'intérêt de mener cette étude qui vise à évaluer dans un premier volet les teneurs de certains constituants de la fraction insaponifiable présents dans quelques échantillons d'huile d'olive vierge et extra vierge provenant de l'Est, de l'Ouest et du Centre de l'Algérie, puis de déterminer leurs activités antibactériennes à l'égard d'une gamme importante de souches bactériennes potentiellement pathogènes.

## Matériel et méthodes

### Échantillonnage et zones d'étude

Cette étude a concerné 13 échantillons d'huile d'olive récupérés de plusieurs unités de trituration, réparties sur différentes régions de l'Algérie (Fig. 1), et collectés durant la campagne oléicole 2016–2017.

Les unités choisies font l'extraction sous pression à froid et sont équipées d'un système de trituration à deux phases. Les échantillons d'huile d'olive obtenus ont été ensuite immédiatement préservés dans des bouteilles d'un volume de 250 ml propres, sèches et conçues en verre de couleur foncée, puis réfrigérées afin d'éviter tout phénomène d'altération ou d'auto-oxydation.

### Indices de qualité

La qualité des échantillons d'huile d'olive a été évaluée par la détermination de l'acidité, l'indice de peroxyde, l'indice d'iode et l'absorbance des huiles à 232 et 270 nm ( $K_{230}$ ,  $K_{270}$ ) selon les méthodes standard [10,11].

### Extraction et dosage des polyphénols totaux

Les extraits phénoliques ont été obtenus par l'ajout d'un solvant méthanol/eau (80:20 v/v) à l'huile d'olive ; après centrifugation, le surnageant est récupéré, cette opération est répétée trois fois, et le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, le résidu est lavé avec 5 ml d'hexane et 5 ml d'acétonitrile, la solution résultante d'acétonitrile a été évaporée, et le résidu est dissous dans 1 ml de méthanol [12]. Tandis que leur teneur a été déterminée par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu avec lecture de l'absorbance à 765 nm, en utilisant l'acide gallique comme étalon [13,14].

### Dosage des flavonoïdes totaux, flavones et flavonols

La teneur en flavonoïdes totaux des échantillons d'huile a été estimée par l'ajout d'une solution méthanolique de chlorure

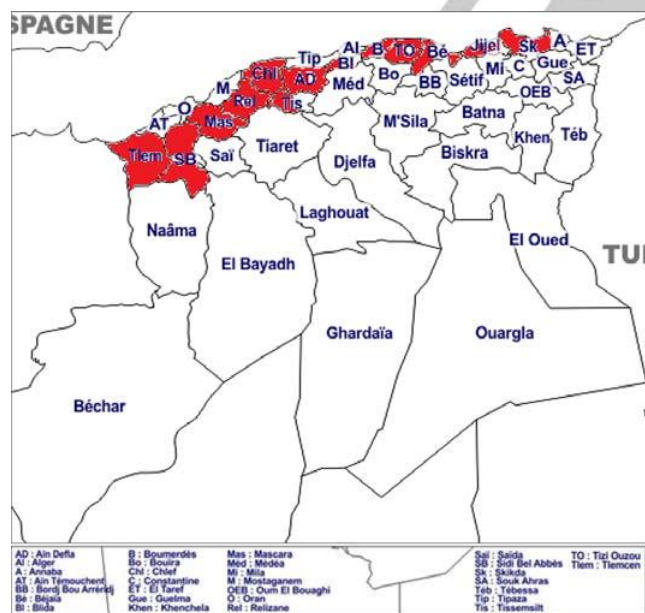


Fig. 1 Zone d'étude

d'aluminium à 2 % à l'extrait méthanolique et après une incubation de 15 minutes à température ambiante, les absorbances sont lues à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible [15,16], alors que le dosage des flavones et flavonols a été effectué grâce à la méthode de Kosalec avec comme standard la quercétine [17,18].

#### Détermination de l'activité antibactérienne

##### Revivification des souches bactériennes

Huit souches bactériennes potentiellement pathogènes ont été utilisées, dont trois à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 2420, *Enterococcus faecalis* ATCC 1255 et *Bacillus cereus* ATCC 6633) et cinq à Gram négatif (*Escherichia coli* O157, *Enterobacter cloacae* ATCC 25922, *Salmonella arizonae* ATCC 2654, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1547 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27854). Après revivification des souches à 37 °C dans des bouillons de croissance et des milieux de culture appropriés, la charge bactérienne de chaque souche a été standardisée à 10<sup>8</sup> UFC/ml [19,20].

##### Test qualitatif de l'activité antibactérienne

Les activités antibactériennes des extraits phénoliques ont été évaluées par la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en papier Whatman® de 6 mm de diamètre, l'effet antibactérien de l'extrait sur la cible est apprécié par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition qui apparaît tout autour du disque [21,22].

##### Détermination de la CMI : test quantitatif

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents extraits ont également été étudiées pour les huit souches bactériennes à l'aide de la technique de dilution en gélose [19,21]. Des quantités appropriées de chaque extrait ont été ajoutées de manière aseptique au Muller-Hinton, surfusionnées et refroidies pour donner des concentrations finales de 0,3–0,4–0,5–0,6–0,7–0,8–0,9–1–1,2–1,4–1,6–1,8 et 2 mg/ml. Environ 10<sup>8</sup> UFC/ml de chaque culture ont étéensemencés sous forme de taches sur Muller-Hinton contenant l'extrait souhaité en utilisant une boucle calibrée de 1 ml, et les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 48 heures. La concentration minimale sans croissance bactérienne a été déterminée comme étant la CMI.

##### Analyse statistique

L'analyse de la variance (Anova) des données collectées, suivie du test de Newman-Keuls, a été réalisée à l'aide du

logiciel Statistica 5.5 (Édition Stat Soft 97). La signification a été définie à p inférieur à 0,05.

## Résultats et discussion

### Indices de qualité

Les indices de qualité ont permis de classer les huiles d'olive obtenues en deux classes : extra vierge, les échantillons de Tissemsilt et Bejaïa avec une acidité inférieure à 0,8, et vierge, les échantillons de Skikda, Blida, Mascara, Sidi-Bel-Abbès, Boumerdès, Relizane, Tlemcen, Aïn-Defla, Chlef, Jijel et Tizi-Ouzou avec une acidité variant de 0,9 à 1,98. Ces résultats concordent avec les normes rapportées par Arslan [23] et dans la Newsletter du marché oléicole de septembre 2017 [24]. En effet, l'analyse de la variance a montré une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les indices de qualité des différentes huiles.

### Teneur en polyphénols totaux dans les 13 échantillons d'huile d'olive

Les teneurs en polyphénols totaux étaient variables. Les plus élevées ont été enregistrées dans les huiles de Skikda, Tissemsilt, Sidi-Bel-Abbès, Blida, Aïn-Defla, Boumerdès, Chlef et Mascara ( $p < 0,05$ ). Contrairement aux huiles de Tlemcen et Tizi-Ouzou qui ont montré des taux plus faibles (Fig. 2).

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Abouzar et al. [25], Dozane et al. [14], Rivas et al. [26] et Veneziani et al. [27]. En effet, cette différence est due aux mélanges de variétés d'olives utilisées lors de l'extraction de l'huile dans chaque échantillon, à la zone d'origine, mais aussi aux conditions de conservation des olives ainsi qu'à leur degré de maturation qui joue un rôle primordial dans la richesse de l'huile d'olive en composés phénoliques (Stefanoudaki et al. [28], Fares et al. [29], Talhaoui et al. [30]).

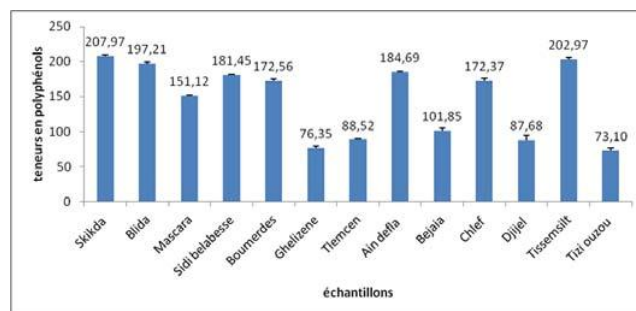


Fig. 2 Teneurs en polyphénols totaux des échantillons d'huile d'olive

## Flavonoïdes totaux, flavones et flavonols

Nos échantillons d'huile ont aussi enregistré des teneurs variables en flavonoïdes totaux (Fig. 3). Une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les huiles de Chlef, Skikda, Blida, Maskara et Ain-Defla a été constatée. Par contre, aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les teneurs en flavones et flavonols des huiles de Skikda, Sidi-Bel-Abbès, Boumerdès, Relizane et Ain-Defla n'a été notée (Fig. 4). Les mêmes constatations ont été rapportées par Vichi et al. [31].

## Activités antibactériennes

### Test qualitatif de l'activité antibactérienne

L'effet des extraits phénoliques sur les souches bactériennes utilisées a été variable, dans la mesure où la différence entre les diamètres des zones d'inhibition a été significative ( $p < 0,05$ ). Au moment où *Escherichia coli* a montré une sensibilité très élevée à tous les extraits testés pouvant atteindre des diamètres d'inhibition dépassant  $30 \pm 4,04$  mm, surtout avec les huiles de Tlemcen, Chlef et Tissemsilt, *Enterococcus faecalis* a développé une résistance aux extraits de Blida, Mascara, Sidi-Bel-Abbès, Boumerdès et Relizane. Alors que *Bacillus cereus* a été sensible à tous les extraits testés avec des diamètres d'inhibition variant de  $10 \pm 0,00$  mm à  $37,33 \pm 1,15$  mm (Figs 5, 6).

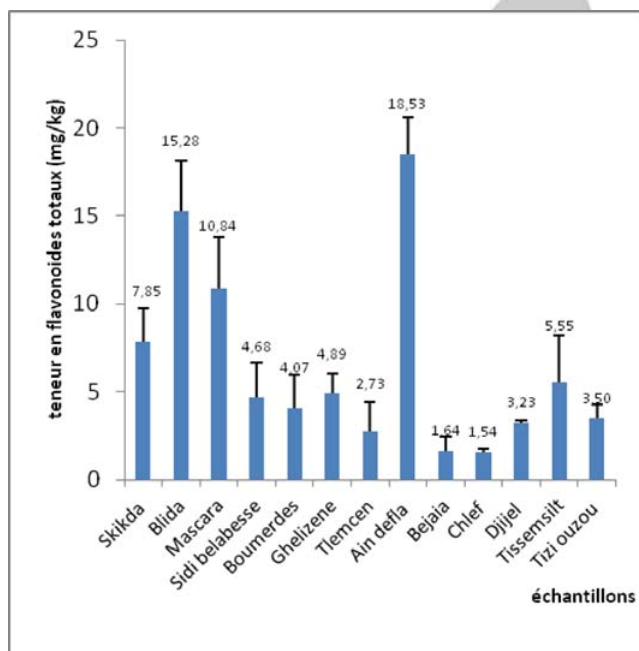


Fig. 3 Teneurs en flavonoïdes totaux des échantillons d'huile d'olive

Nos résultats corroborent ceux de Dağdelen [32] qui a prouvé que les extraits phénoliques de trois échantillons d'huile d'olive obtenus à partir de plusieurs régions de la Turquie ont montré un effet antimicrobien contre une large gamme de micro-organismes, dont les plus importants sont *Clostridium perfringens* ATCC 13124 et *Campylobacter jejuni* ATCC 33291.

Selon Cicerale et al. [33] et Laincer et al. [19], l'activité inhibitrice des extraits de l'huile d'olive est en relation étroite avec la nature des polyphénols et leurs effets synergiques.

Dans le même sens, d'autres études (Karaosmanoglu et al. [34], Korukluoglu et al. [35]) affirment que la nature des composés phénoliques influe sélectivement sur les micro-organismes ; Lee et Lee [36] ont prouvé que l'acide caféique en tant que composé phénolique est un agent antimicrobien contre *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*.

Karaosmanoglu et al. [34] ont élucidé une activité antimicrobienne contre les virus, les bactéries, les levures et les champignons de l'oleuropéine, tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'acide caféique, l'acide gallique, syringique, l'acide p-coumarique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide protocatéchique, la quercétine et la lutéoline.

Des activités antibactériennes aussi importantes de l'huile d'olive vierge et extravierge ont été rapportées par Bisignano et al. [37], Medina et al. [38] et Medina et Brenes [39].

La zone d'origine de l'huile d'olive joue un rôle crucial sur l'effet antimicrobien de ces composés phénoliques tel qu'il a été rapporté par Dağdelen [32] et Caporaso [40].

### Détermination des CMI

Les valeurs quantitatives de CMI indiquées dans le tableau 1 renforcent les résultats qualitatifs de diffusion sur gélose. Elles ont été variables, et une corrélation positive a été élucidée entre le diamètre des zones d'inhibition et les CMI. Nous avons remarqué également les CMI les plus faibles avec les extraits qui ont donné les diamètres des zones d'inhibition les plus élevées. À titre d'exemple, la CMI la plus faible (0,3 mg/ml) a été enregistrée avec l'extrait de Tissemsilt à l'égard d'*Escherichia coli* où le diamètre de la zone d'inhibition été de l'ordre de 41,67 mm.

En plus, la croissance des souches bactériennes qui ont résisté aux extraits n'a pas été inhibée même avec des concentrations supérieures à 2 mg/ml.

Les valeurs de CMI enregistrées sont plus faibles que celles rapportées par Laincer et al. [19] qui ont testé des extraits phénoliques des huiles d'olive monovariétale, cela peut être expliqué par la nature de nos huiles qui sont obtenues à partir de plusieurs variétés. Néanmoins, elles sont conformes aux études de Tafesh et al. [41] qui ont prouvé une nette augmentation de l'action inhibitrice des composés phénoliques de l'huile d'olive en combinaison.

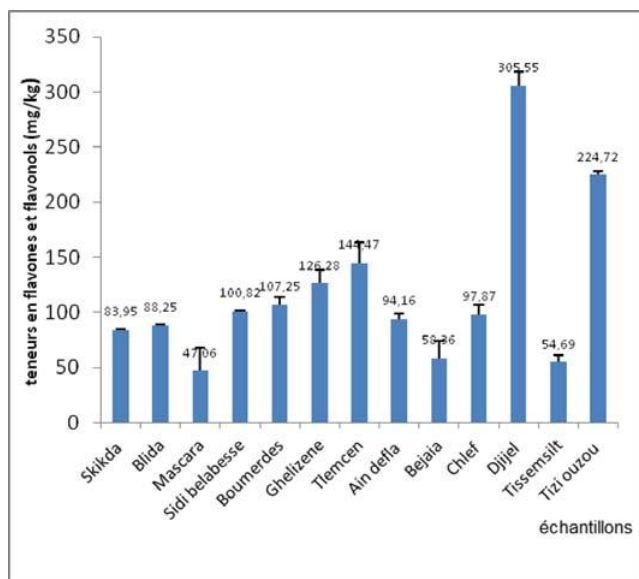


Fig. 4 Teneur en flavones et flavonols des échantillons d'huile d'olive

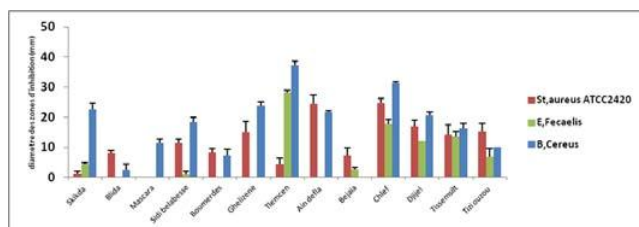


Fig. 5 Diamètres des zones d'inhibition des bactéries à Gram positif

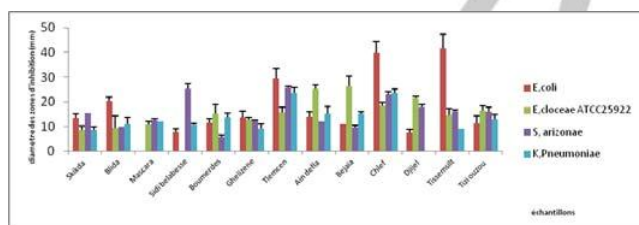


Fig. 6 Diamètres des zones d'inhibition des bactéries à Gram négatif

Dağdelen [32] annonça que l'activité antibactérienne des composés phénoliques de l'huile d'olive est due à la présence du système orthodiphénolique. Par conséquent, la position et le nombre de groupes hydroxyles sur le groupe phénols sont liés à leur toxicité relative vis-à-vis des micro-organismes avec des preuves que l'augmentation de l'hydroxylation entraîne une augmentation de l'activité antibactérienne.

## Conclusion

D'après ces résultats, on constate que les 13 échantillons de l'huile d'olive testée ont des teneurs élevées en composés phénoliques (variant de  $73,10 \pm 2,89$  mg d'acide gallique/kg jusqu'à  $207,97 \pm 1,57$  mg d'acide gallique/kg), en flavonoïdes totaux, flavones et flavonols.

Les extraits phénoliques des différentes huiles d'olive ont exercé une activité antibactérienne très importante à l'égard d'une gamme de souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif. Une corrélation positive a été élucidée entre la CMI et les diamètres des zones d'inhibition.

Les résultats de cette investigation ont mis en évidence l'importance de l'huile d'olive en termes de richesse en constituants mineurs de la fraction insaponifiable (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, flavones et flavonols) dotés de pouvoir antibactérien non négligeable. Ce qui fait de cette huile une substance nutritionnelle et thérapeutique indispensable à la santé humaine.

## Références

- Muto E, Dell'Agli M, Sangiovanni E, et al (2015) Olive oil phenolic extract regulates interleukin-8 expression by transcriptional and post transcriptional mechanisms in Caco-2 cells. *Mol Nutr Food Res* 59:1217–21
- Storniolo CE, Casillas R, Bulló M, et al (2017) A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women. *Eur J Nut* 56:89–97
- Lama A, Pirozzi C, Pia Mollica M, et al (2017) Polyphenol-rich virgin olive oil reduces insulin resistance and liver inflammation and improves mitochondrial dysfunction in high-fat diet fed rats. *Mol Nutr Food Res* 61:3
- Gessica S, Angela A, Maria P (2016) Extra virgin olive oil phenolic extracts counteract the pro-oxidant effect of dietary oxidized lipids in human intestinal cells. *Food Chem Toxicol* 90:171–80
- Bassani B, Rossi T, De Stefano D, et al (2016) Potential chemopreventive activities of a polyphenol rich purified extract from olive mill wastewater on colon cancer cells. *Journal of Functional Foods* 27: 236–248
- Gessica S, Monica D, Jeremy PE, et al (2017) Olive oil phenolic prevent oxysterol-induced proinflammatory cytokine secretion and reactive oxygen species production in human peripheral blood mononuclear cells, through modulation of p38 and JNK pathways. *Mol Nutr Food Res* 61:1700283
- Santangelo C, Vari R, Scaccocchio B, et al (2018) Anti-inflammatory activity of extra virgin olive oil polyphenols: which role in the prevention and treatment of immune-mediated inflammatory diseases? *Endocr Metab Immune Dis-Drug Targets* 18:36–50

Tableau 1 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des différents extraits phénoliques à l'égard des espèces bactériennes

	Escheri- chia coli	Enterobac- ter cloceae	Staphylococ- cus aureus	Salmon ella arezonea	Kleb- siella pneu- moneae	Enterococcus feacalis	Pseudomo- nas aerugi- nosa	Bacillus cer- eus
Ski- kda	1,2	0,4	/	1,8	/	/	2	0,8
Bli- da	0,8	0,6	2	1,8	1,9	/	2	/
Ma- sca- ra	/	0,8	/	1,6	1,9	/	/	1,8
Sid- i- Bel- Ab- bès	2	/	1,8	0,9	1,9	/	2	1,4
Bo- um- erd- ès	1,8	1	/	/	1,9	/	2	/
Gh- eli- zene	1,8	0,9	1,4	1,4	2	/	1,9	0,8
Tle- mc- en	0,7	0,9	/	0,8	0,9	0,7	1,8	0,2
Ain- Def- la	1,4	0,6	0,9	1,4	1,6	/	1,2	0,7
Be- djiai	2	0,6	2	2	1,6	/	2	/
Chl- ef	0,5	0,7	0,8	0,7	0,9	2	2	0,7
Dji- jel	2	0,4	1,6	1,8	/	2	2	1,4
Tis- se- msi- lt	0,3	0,2	1,2	1,8	/	2	1,4	2
Tiz- i- Ou- zou	0,9	1,4	1,8	1,8	2	/	1,6	2

/ : non déterminée

8. Cicerale S, Lucas LJ, Keast RS (2012) Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Curr Opin Biotechnol* 23:129–35
9. Yildiz G, Uylaser V (2011) Dogal bir antimikrobiyel: oleuropein. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 25:131–42

10. UICPA (Union internationale de chimie pure appliquée) (1979) *Méthodes d'analyse des matières grasses et dérivés*. ETIG Paris. 6<sup>e</sup> éd.
11. COI (2019) COI/T.15/NC N° 3/Rév. 14 :1-16.

12. Brenes M, Garcia A, Garcia P (1999) Phenolic compounds in Spanish olive oils. *J Agricult Food Chem* 47:3535–40
13. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299:152–78
14. Dozane M, Tamendjari A, Kazem A, et al (2013) Phenolic compounds in mono-cultivar extra virgin olive oils from Algeria. *Grasas Aceites* 64:285–94
15. Bahorun T, Gressier B, Trotin F, et al (1999) Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei Forschung* 46:1086–9
16. Djeridane A, Yous M, Nadjemi B, et al (2006) Antioxidant activity of some Algerian medical plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem* 97:654–60
17. Kosalec I, Bakmaz M, Pepeljnjak S, et al (2004) Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from Northern Croatia. *Acta Pharma* 54:65–72
18. Keceli T, Gordon MH (2001) The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *J Sci Food Agricult* 81:1391–6
19. Laincer F, Laribi R, Tamendjari A, et al (2014) Olive oils from Algeria: phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas Aceites* 65:1–10
20. Barros L, Ricardo C, Calhella LM (2007) Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Eur Food Res Technol* 225:151–6
21. Tunçel G, Nergiz C (1993) Antimicrobial effect of some olive phenols in a laboratory medium. *Lett Appl Microbiol* 17:300–2
22. Bijman J, Iliopoulos CKJ, Gijssels C, et al (2012) A support to farmers' cooperatives: final report. Wageningen UR, Wageningen, Netherlands
23. Arslan D (2012) Physico-chemical characteristics of olive fruits of Turkish varieties from the province of Hatay. *Grasas Aceites* 63:158–66
24. COI (2017) *Marché oléicole*. Newsletter n° 119
25. Abouzar H, Reza FG, Davood B, et al (2010) Fatty acids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europaea* L.) in five cultivars grown in Iran. *Austr J Crop Sci* 4:258–63
26. Rivas A, Sanchez-Ortiz A, Jimenez B, et al (2007) Phenolic acid content and sensory properties of two Spanish monovarietal virgin olive oils. *Eur J Lipid Sci Technol* 115:621–30
27. Veneziani G, Esposto S, Taticchi A, et al (2018) Characterization of phenolic and volatile composition of extra virgin olive oil extracted from six Italian cultivars using a cooling treatment of olive paste. *Food Sci Technol* 87:523–8
28. Stefanoudaki E, Williamas M, Chartzoulakis K, et al (2009) Effect of irrigation on quality attributes of olive oil. *J Agricult Food Chem* 57:7048–55
29. Fares I, Kairouan N, Karoui Jabri S, et al (2016) Physical chemical and sensory characterization of olive oil of the region of Abderrabba. *J Mat Environ Sci* 7:2148–54
30. Talhaoui N, María Gómez-Caravaca A, León L, et al (2016) From olive fruits to olive oil: phenolic compound transfer in six different olive cultivars grown under the same agronomical conditions. *Intern J Mol Sci* 17:337
31. Vichi S, Pizzale L, Conte LS, et al (2009) Volatile phenols in virgin olive oil: influence of olive variety on their formation during fruits storage. *Food Chem* 116:651–6
32. Dağdelen A (2016) Identifying antioxidant and antimicrobial activities of the phenolic extracts and mineral contents of virgin olive oils (*Olea europaea* L. cv. Edincik Su) from different regions in Turkey. *J Chem* 2016:11
33. Cicerale S, Lucas L, Russell K (2010) Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. *Intern J Mol Sci* 11:458–79
34. Karaosmanoglu H, Soyer F, Ozen B, et al (2010) Antimicrobial and antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. *J Agricult Food Chem* 58:8238–45
35. Korukluoglu M, Sahan YA, Yigit A et al (2010) Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea europaea* L. leaf extracts. *J Food Process Preserv* 34:383–96
36. Lee OH, Lee BY (2010) Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Biores Technol* 101:3751–4
37. Bisignano G, Tomaino A, Cascio RL, et al (1999) On the in vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol* 51:971–4
38. Medina E, De Castro A, Romero C, et al (2006) Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *J Agricult Food Chem* 54:4954–61
39. Medina ER, Brenes C (2007) Antimicrobial activity of olive oil, vinegar, and various beverages against foodborne pathogens. *J Food Prot* 70:1194–9
40. Caporaso N (2016) Virgin olive oils: environmental conditions, agronomical factors and processing technology affecting the chemistry of flavor profile. *J Food Chem Nanotech* 2:21–31
41. Tafesh A, Najami N, Jadoun J, et al (2011) Synergistic antibacterial effects of polyphenolic compounds from olive mill wastewater. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011:431021. doi: org/10.1155/2011/431021

## Communications internationales

**Metlef S.** Dilmi Bouras A. Zidane A. et Benali M. **Caractérisation chimique de quelques échantillons d'huile d'olive d'origine Algérienne.** 1<sup>ères</sup> Rencontres Scientifiques Internationales de l'ESSAIA. L'école supérieure des sciences de l'aliment et des industries agroalimentaire. El Harrache. Alger. 2016.

**Metlef S.** Dilmi Bouras A. Zidane A. et Benali M. **Evaluation of antioxydant activity of some Algerian olive oil samples.** International society for engineers and researchers : international conference on Science, Health and Medicine.Rabat.Morocco.2016

**Metlef S.** Dilmi Bouras A. Zidane A. et Benali M. **Evaluation of antimicrobial activity of some Algerian olive oil samples.** The 2nd Japan – Turkey International Symposium on Pharmaceuticals and Biomedical Sciences.Trabzon.Turkey.2017

**Metlef S.** Dilmi Bouras A. Zidane A. et Benali M. **Etude comparative entre les caractéristiques de quelques échantillons d'huile d'olive d'origine Algérienne.** 3<sup>ème</sup> congrès international de la SAN. Université frères Mentouri. Constantine.2017

**Metlef S.** Dilmi Bouras A. Zidane A. et Benali M. **Biological activities of some Algerian olive oil samples.** 29<sup>ème</sup> congrès international des Sciences Biologiques et de la Biotechnologie de l'ATBS. Sousse. Tunisie .2018

**Metlef S.** Dilmi Bouras A. Zidane A. Hadri Z. Benali M. **Antibacterial, Anti inflammatory and antispasmodic activities of thirteen samples of Algerian olive oil.**The 1st international Symposium 'Environment and Sustainable Development'.Relizane.2020

## Communications nationales

**Metlef S.** Dilmi Bouras A. Zidane A. et Benali M. **Antioxidant and antibacterial activity of olive oil from the center and the west of Algeria.** 1<sup>er</sup> séminaire national sur l'environnement et le développement durable centre universitaire Ahmed Zabana. Relizane. 2018.

**Metlef S.** Dilmi bouras A. Zidane A. Hadri Z. Benali M. **Evaluation, *in vivo*, des activités biologiques de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive .** 3<sup>ème</sup> seminaire national biologie et sante .Sidi Bel Abbes.2019.





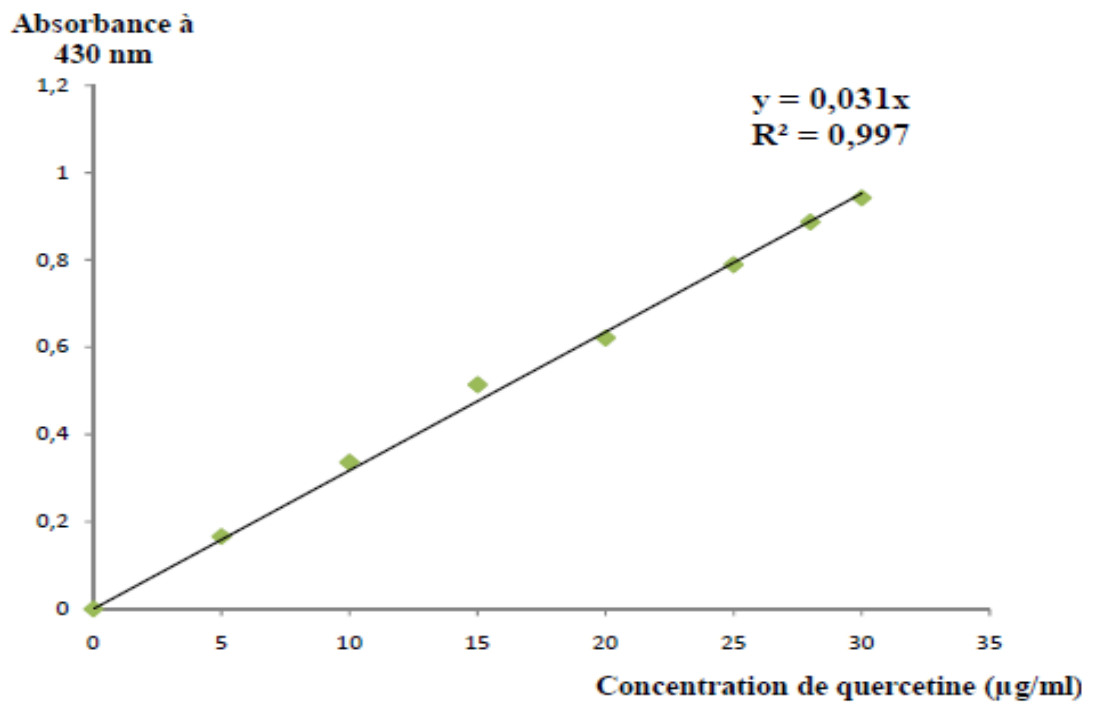


**Annexe III : matrice de corrélation entre la teneurs des composés phénolique dans les échantillons d'huile d'olive et les activités antibactériennes**

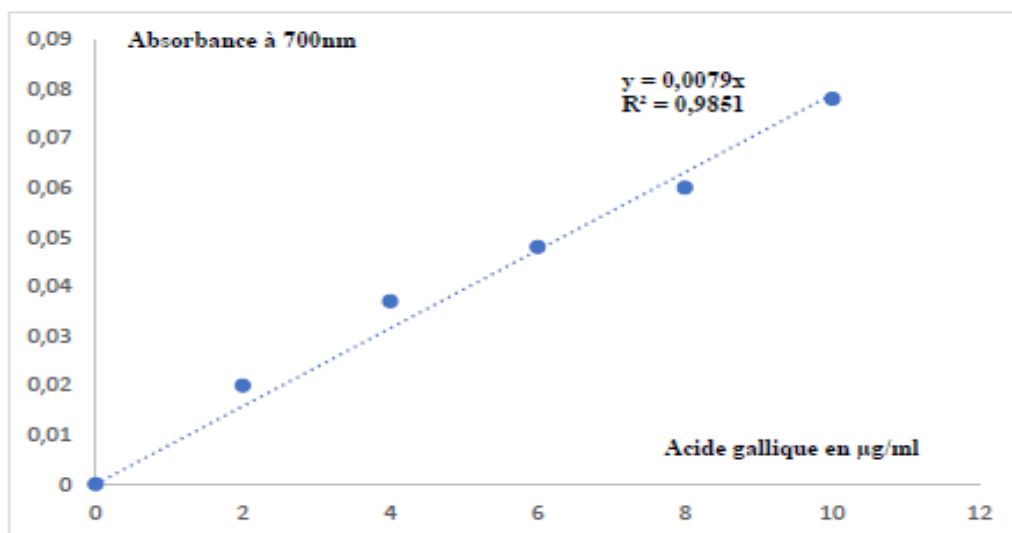
	polyphénols totux	flavonoïdes totaux	flavons et flavonols	o diphénols	E.Coli	E.cloceae	St.aureus	S.arizoneae	k.pneumoniae	E.fecaelis	P.aeruginosa	Bacillus cereus
polyphénols totux	<b>1</b>	0.4998	-0.6426	0.9348	0.2610	-0.3613	-0.0420	-0.0982	0.0044	-0.2541	-0.1451	-0.1041
flavonoïdes totaux	0.4998	<b>1</b>	-0.3210	0.4574	-0.1943	-0.0490	0.0285	-0.3807	-0.1294	-0.4875	0.0787	-0.1960
flavons et flavonols	-0.6426	-0.3210	<b>1</b>	-0.7630	-0.1908	0.1939	0.3115	0.2476	-0.2996	0.2932	0.1315	0.2134
o diphénols	0.9348	0.4574	-0.7630	<b>1</b>	0.2365	-0.1278	-0.0661	-0.2987	0.1151	-0.3179	-0.1988	-0.2720
E.Coli	0.2610	-0.1943	-0.1908	0.2365	<b>1</b>	0.1253	0.3514	0.3646	0.4711	0.6664	0.4207	0.4288
E.cloceae	-0.3613	-0.0490	0.1939	-0.1278	0.1253	<b>1</b>	0.4383	-0.2834	0.1717	0.2010	0.4292	-0.0320
St.aureus	-0.0420	0.0285	0.3115	-0.0661	0.3514	0.4383	<b>1</b>	0.1650	0.0787	0.1080	0.6004	0.2739
S.arizoneae	-0.0982	-0.3807	0.2476	-0.2987	0.3646	-0.2834	0.1650	<b>1</b>	0.2851	0.6932	0.2647	0.7334
k.pneumoniae	0.0044	-0.1294	-0.2996	0.1151	0.4711	0.1717	0.0787	0.2851	<b>1</b>	0.4418	0.3356	0.3376
E.fecaelis	-0.2541	-0.4875	0.2932	-0.3179	0.6664	0.2010	0.1080	0.6932	0.4418	<b>1</b>	0.3812	0.6795
P.aeruginosa	-0.1451	0.0787	0.1315	-0.1988	0.4207	0.4292	0.6004	0.2647	0.3356	0.3812	<b>1</b>	0.5827
Bacillus cereus	-0.1041	-0.1960	0.2134	-0.2720	0.4288	-0.0320	0.2739	0.7334	0.3376	0.6795	0.5827	<b>1</b>



## Annexe II : courbes d'étalonnage



**Figure :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoides totaux.



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

Annexe

