

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA -
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Mlle. ADJAOUTE Djedjiga
Mlle. YAHIAOUI Sofia

Thème

**Cinétique d'enrichissement de l'huile d'olive par la tomate
lors de la conservation**

Soutenu le : 30/ 06 / 2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M.DAHMOUNE Farid</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. REMINI Hocine</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. KADRI Nabile</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire: 2017/2018

DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail premièrement à mes
Parents, Pour votre amour, votre affection Votre soutien constant,
Et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici.
Recevez ici ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices.*

A mon cher frère

*Et à mes chères sœurs, pour votre amour, votre joie de vivre, Vos
conseilles si précieux, Votre soutien et votre confiance, Je vous
remercie de tout cœur*

A mon binôme Sofia

A toute ma famille

*A mes amies Zina, Cerina , Soraya , Sihem , Rania ,kahina et
Chahrazed pour votre fidèle amitié et les bons moments passés
ensemble tout au long de mes études et en dehors.*

Djedjiga

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail premièrement à :

Mes chères parents, qui sans leur soutien, leurs conseils et leur orientation je ne serais arrivé ici.

Mon cher frère

Mes chères sœurs: Sarah, Naila, Imene et Anya

Mes copines adorées : Naziha, Tiziri et Hadjer

Mon fiancé qui a toujours été là pour moi

SOFIA

Remerciement

Tout d'abord nous remerciant ALLAH tous puissant, qui nous a guidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous souhaitons adresser nos sincères remerciement à notre promoteur docteur REMINI Hocine pour son orientation et ses conseils, pour sa compréhension et sa patience. Sa confiance et son soutien nous ont motivé à ouvrir les portes de la recherche. Nous profitons de l'occasion pour remercier vivement les membres de jury pour avoir accepté de jugé notre travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement Mme. Rouane et Mme. Dahmani pour leur soutien et leur disposition tout au long de notre travail.

Enfin, nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Plan de travail:

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Partie bibliographique

I. Généralités sur l'huile d'olive

I.1. Définition de l'huile d'olive.....03

I.2. La classification de l'huile d'olive.....03

I.3. Technologie d'extraction de l'huile d'olive.....04

I.4. La composition de l'huile d'olive.....06

I.4.1. La fraction saponifiable.....06

I. 4.1.1. Les acides gras.....06

I.4.1.2. Les triglycérides.....08

I.4.2. La fraction insaponifiable.....09

I. 4.2.1. Les hydrocarbures.....09

I. 4.2.2. Les stérols.....09

I.4.2.3. Les composés phénoliques.....09

I.4.2.4. Les pigments.....10

a. La chlorophylle.....10

b. Les caroténoïdes.....11

I. 4.2.5. Les tocophérols.....11

I.5. Les caractéristiques organoleptique de l'huile d'olive vierge.....12

I.6. Les différentes procédures d'enrichissement.....	13
6.1. Enrichissement par infusion.....	13
6.2. Enrichissement par les extraits végétaux.....	13
6.3. Enrichissement par Co traitement	13
6.4. Enrichissement par ultrasons	13
6.4. Enrichissement par micro-onde	13
I.7. Les bienfaits de l'enrichissement de l'huile d'olive vierge.....	15

II. Généralités sur la tomate

II.1. Description botanique de la tomate	16
II.2. Classification de la tomate	16
II.3. La composition de la tomate.....	17
II.3.1. La composition nutritionnelle.....	17
II.3.2. La composition en métabolites secondaires.....	18
3.2.1. Les composés phénoliques	18
3.2.2. Les caroténoïdes	18
3.2.3. Les composés aromatiques	19
II.4. Les effets bénéfiques de la tomate.....	19

Partie expérimentale

III. Matériel et méthode

III.1. Produits et réactifs chimiques	20
III.2. Appareillage.....	20
III.3. Matériel végétal.....	21
III.4. L'enrichissement.....	21

III.5. Extraction des polyphénols totaux des huiles d'olives témoins et enrichie.....	22
III.6. Dosage des polyphénols des huiles d'olives témoins et enrichies	23
III.7. Test d'activité antioxydante.....	24
III.8. Caractérisation physicochimique et organoleptique de l'huile d'olive vierge.....	25
8.1. Test sensoriel.....	25
8.2. Caractérisation physico -chimique de l'huile d'olive vierge.....	25
8.2.1. Acidité libre.....	25
8.2.2. Indice de peroxyde.....	26
8.2.3. L'absorbance dans l'UV.....	27
III.9. Caractérisation physico-chimique et organoleptique de la tomate.....	28
9.1. Test sensoriel.....	28
9.2. Mesure de pH.....	29
9.3. Extraction des polyphénols totaux de la tomate.....	29
9.4. Dosage des polyphénols totaux de la tomate.....	30
9.5. Dosage des flavonoïdes.....	31
9.6. Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH°.....	32

IV. Résultats et discussion

IV.1. Dosage des polyphénols totaux (avant et après l'enrichissement).....	34
IV.2. Mesure d'activité anti oxydante de l'huile d'olive vierge (avant et après enrichissement).....	35
IV.3. Caractérisation physicochimique et organoleptique de l'huile d'olive vierge.....	36
IV.4. Caractérisation physico-chimique et organoleptique de la tomate.....	38
Conclusion.....	42

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations :

AC: Acide oléique

AG: Acide Gras

AGMI: Acide Gras Mono insaturé

AGPI: Acide Gras Poly insaturé

CARPP: Centre d'Activité Régionale pour la Production Propore

CNUCD 2005: Conférences des Nations Unies sur le Commerce et le Développement

C.O.I: *Conseil Oléicole International*

DPPH: 2,2-diphényl-1-pecrylhydrazyle

E: Extinction spécifique

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

H: Hydrogène

HE: Huile enrichie

HT: Huile témoin

IP: Indice de Peroxyde

M: Masse molaire

Meq: Mill équivalent

Min: Minutes

MPa: Mégapascal

N: Normalité

nm: Nanomètre

OOO : Trioléine

POL: Palmitooléolinoléine

POO: Dioléopalmitine

TG: TriGlycéride

Tr: Traces

tr: Tours

TP : Polyphénols Totaux

SOO: Acide stéarique

UV: Ultra Violet

V: Volume

W: Watt

Liste des figures

Figure 01. Image d'un olivier.....	03
Figure 02. Schéma général des différentes techniques d'extraction de l'huile d'olive.....	05
Figure 03. Structure chimique d'acides gras dans l'huile d'olive.....	06
Figure 04. Structure chimique des triglycérides dans l'huile d'olive.....	08
Figure 05. Structure chimique d'hydroxytyrosol.....	10
Figure 06. Structure chimique de chlorophylle a et b.....	10
Figure 07. Les différentes structures de tocophérol.....	12
Figure 08. Photographie d'un plant et fruit de tomate.....	16
Figure 09. Structure moléculaire du lycopéne.....	19
Figure 10. Photographie des flacons contenant l'huile d'olive vierge témoin (a) et enrichie (b)	21
Figure 11. Evolution de la teneur en polyphénols totaux des huiles d'olives vierge témoins et enrichies au cours d'enrichissement par la tomate.....	34
Figure 12. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH° des différents extraits de huile .témoins et enrichies.....	35

Lite des tableaux

Tableau 01. Les différents types de l'huile d'olive.....	04
Tableau 02. Les différents composants d'acide gras de l'huile d'olive.....	07
Tableau 03. Composition de l'huile d'olive vierge en triglycéride.....	08
Tableau 04. Résumé des travaux récents sur l'effet d'enrichissement de l'huile d'olive par des matières végétales.....	14
Tableau 05. Composition du fruit de tomate. Les données sont en grammes pour 100 g de matière fraîche consommable.....	17
Tableau 06. Les résultats de la caractérisation physicochimique de l'huile d'olive vierge.....	36
Tableau 07. Les résultats de la caractérisation physicochimique de la tomate.....	39

L'huile d'olive vierge est l'ingrédient le plus important du régime méditerranéen (**Šarolić et al., 2014**), C'est l'une des huiles végétales les plus anciennes issue du fruit de l'olivier (*Olea europaea L.*) obtenue uniquement par des méthodes mécaniques qui conservent ses propriétés nutritionnelles et organoleptiques. Elle est largement produite et a été utilisée depuis des temps anciens dans la région méditerranéenne, où elle est appréciée pour ses propriétés nutritionnelles, son goût et son arôme en raison de sa teneur en composés volatils et non volatils essentiels (**Peñalvo et al., 2016**).

Ces dernières années il y a eu une augmentation significative de la consommation globale de l'huile d'olive, même dans les pays où elle n'est pas produite, comme le Canada et le Japon (**Milis, 2006**). Cela est dû en grande partie à ses effets nutritionnels et bénéfiques sur la santé qui ont été liés à l'équilibre optimal entre les acides gras saturés (AGS), mono insaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI), ainsi qu'à la présence de composants mineurs tels que les caroténoïdes, les polyphénols et les tocophérols (**Lazzez et al., 2008**). Cette consommation a été associée à une réduction des maladies cardiovasculaires, des désordres neurologiques et à certains types de maladies cancéreuses (**Servili, 2014, Manna et al., 2002**). Plusieurs études ont démontré la capacité antioxydante des polyphénols de l'huile d'olive (**Servili et al., 2009**). En plus de l'inhibition de la peroxydation des lipides, les composés phénoliques piègent les radicaux libres et par conséquent protègent le corps humain (**Cicerale et al., 2009**).

La qualité de l'huile d'olive dépend de plusieurs facteurs tels que la maturation, la méthode d'extraction, le type de sol, les conditions climatiques, les variétés et les conditions de stockage (**Gharbi et al., 2015**). L'évaluation de la qualité de l'huile d'olive est liée à une série importante de paramètres physico-chimiques comprenant l'acidité, l'indice de peroxyde et l'évaluation sensorielle (**Gharbi et al., 2015**). Ces dernières années, différents procédés ont été proposés pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive, entre autres l'enrichissement endogène en améliorant les conditions du procédé lui-même, et il y a aussi l'enrichissement exogène par l'incorporation de matières végétales. (**Sawadogo et al., 2015**).

Les fruits de tomate sont actuellement promus comme étant une source riche de composés phénoliques, composés d'intérêt grâce à de leur activité antioxydante et leurs effets bénéfiques pour la santé humaine, comme la réduction du risque de cancer, de maladies cardiovasculaires et d'autres pathologies...etc (**Sawadogo et al., 2015**). Les composés

bioactifs alimentaires ont attiré l'attention des consommateurs pour leurs propriétés anti oxydantes connues (**Gharby et al., 2014**).

L'objectif de notre étude consiste à une évaluation et un suivie phyto chimique d'une huile d'olive enrichie par la tomate durant le stockage. Afin de mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit ce travail, une synthèse bibliographique est présentée sur l'huile d'olive et la tomate. La partie expérimentale de ce travail est consacré au suivi de la teneur en composés phénoliques, et au suivi de l'activité antioxydante de l'huile d'olive vierge témoins et enrichies par les la tomate.

I.1. Définition de l'huile d'olive

L'huile d'olive est l'ingrédient le plus important du régime méditerranéen (Covas et al., 2009; Šarolić et al., 2014), provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L) (figure 01), obtenue par moyen physique à l'exclusion des huiles issues par solvants ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (Tripoli et al., 2005).



Figure 01. Photo d'un olivier.

I.2. La classification de l'huile d'olive

Plusieurs catégories d'huile d'olive (CNUCD, 2005) sont établies selon différents paramètres à savoir l'acidité, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV et les caractéristiques organoleptiques (Kalua et al., 2005), le Conseil Oléicole International (COI, 2015) a classé l'huile d'olive en catégories reportés dans le tableau 01.

Tableau 01. Les différents types de l'huile d'olive classés par le Codex Alimentarius (**Codex, 1981**)

Type d'huile	Acidité (% acide oléique)	Indice peroxyde (meq O ₂ /kg d'huile d'olive)	Coefficient d'extinction spécifique 270 nm E% 1 cm	Coefficient d'extinction spécifique 232 nm E% 1 cm	ΔK
Huile d'olive vierge extra	< 1	< 20	< 0,25	2,50	≤0,01
Huile d'olive vierge	< 2	< 20	< 0,3	2,60	≤0,01
Huile d'olive vierge ordinaire	< 3,3	< 20	< 0,3	-	≤0,16
Huile d'olive	< 1,5	< 15	< 0,9	-	≤0,15
Huile de grignon d'olive raffinée	< 1,5	< 5	< 2,0	-	≤0,20
Huile de grignon d'olive	< 1,5	< 15	< 1,7	-	≤0,18

I.3. Technologie d'extraction de l'huile d'olive

Selon (CAR/PP, 2000), ils sont réparties essentiellement en trois types représentés dans la figure 02.

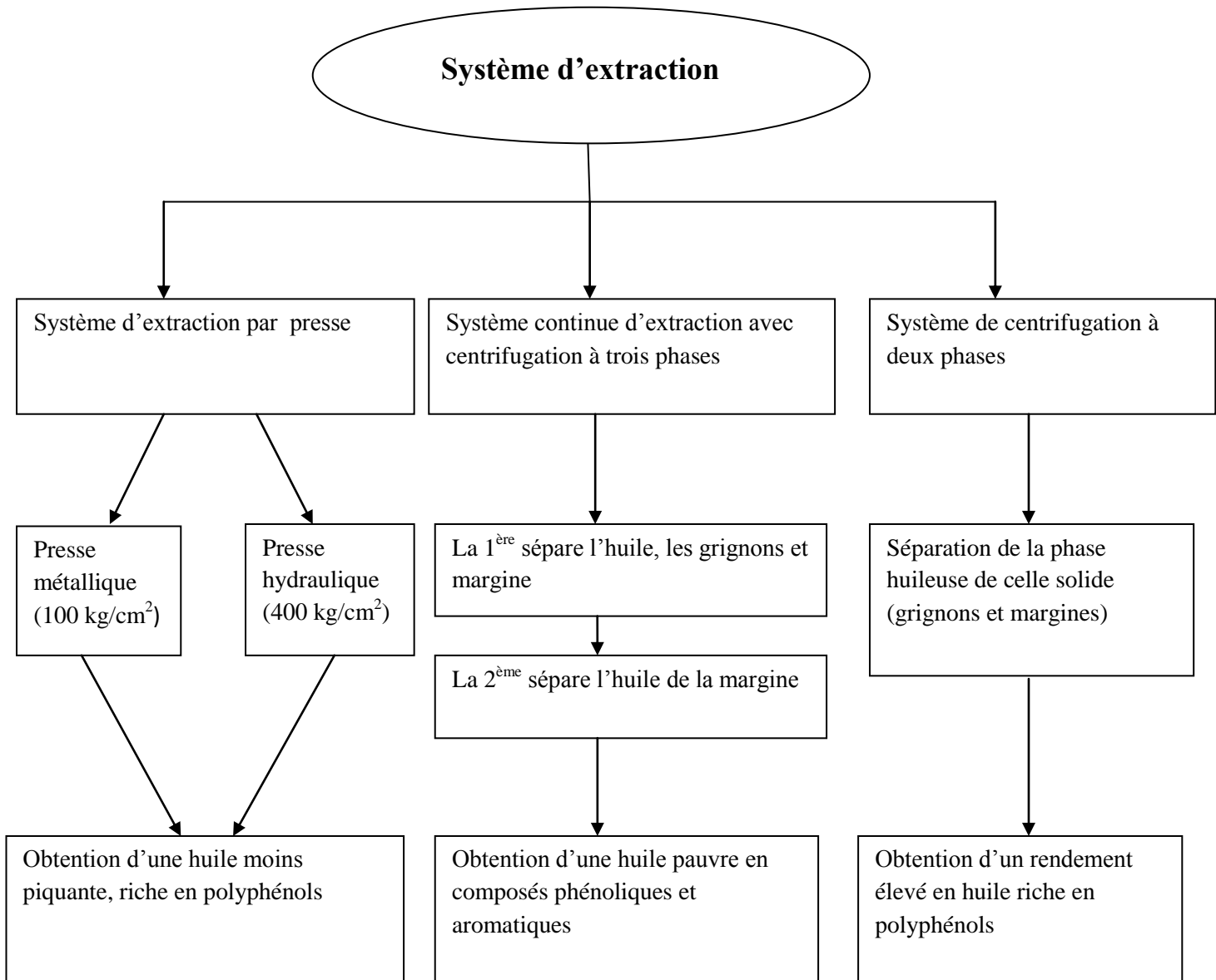


Figure 02. Schéma général des différentes techniques d'extraction de l'huile d'olive (CAR/PP, 2000)

I.4. La composition chimique de l'huile

L'huile d'olive se compose d'une fraction saponifiable qui représente 98% (v/v) de son poids total sous forme de lipides qui sont constitués de glycérides et d'acides gras tels que l'acide palmitique, linoléique et oléique, et d'une deuxième fraction insaponifiable comprend environ 2% (v/v) du poids total qui est composée de polyphénols, pigments, arômes et saveurs. (Vossen, 2005).

I.4.1. La fraction saponifiable (composés majeurs)

Elle est composée essentiellement de triglycérides, esters du glycérol et d'acides gras (Ran, 2014).

I.4.1.1. Les acides gras (AG)

Les AG peuvent être libres à l'état naturel. Ce sont des composés organiques à base de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ils sont formés d'une chaîne hydrocarbonée (figure 03) plus ou moins longue et d'un groupe carboxyle (Damirchi, 2007).

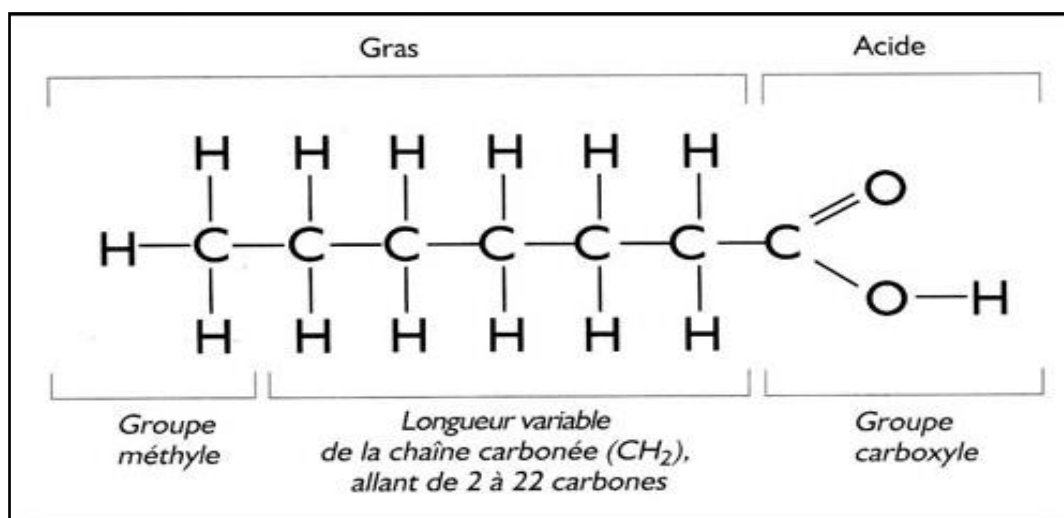


Figure 03. Structure chimique d'acides gras dans l'huile d'olive (Genot and Michalski, 2010)

La composition en acide gras dans l'huile d'olive dépend de la zone de production, l'altitude, le climat, la variété et le stade de maturation du fruit (Boskou *et al.*, 2006), les différents composés sont représentés dans le tableau 02.

Tableau 02. Les différents composants d'acide gras de l'huile d'olive vierge de France (Denis *et al.*, 2003)

Nature	Formule brute	Teneur en pourcentage (%)
Acide myristique	C ₁₄ : 0	Tr
Acide palmitique	C ₁₆ : 0	7,5 - 15,6
Acide sapiénique	C ₁₆ : 1n-9	0,1 - 0,2
Acide palmitoléique	C ₁₆ : 1n-7	0,3 - 1,9
Acide margarique	C ₁₇ : 0	< 0,3
Acide margaroléique	C ₁₇ : 1n-8	< 0,5
Acide stéarique	C ₁₈ : 0	1,4 - 3,4
Acide oléique	C ₁₈ : 1n-9	60,9 - 82,1
Acide vaccénique	C ₁₈ : 1n-7	0,7 - 3,6
Acide linoléique	C ₁₈ : 2n-6	4,5 - 16,1
Acide α -linoléinique	C ₁₈ : 3n-3	0,4 - 1,2
Acide arachidonique	C ₂₀ : 0	0,3 - 0,5
Acide gadoléique	C ₂₀ : 1n-9	0,2 - 0,5
Acide béhénique	C ₂₂ : 0	< 0,2
Acide lignocérique	C ₂₄ : 0	< 0,1

C_x:y_n-z où x est le nombre de carbones, y le nombre de double liaisons, z la position de la double liaison en partant du méthyle terminal. tr = traces.

I.4.1.2. Les triglycérides (TG)

Les TG (figure 04) sont des triesters résultant de la combinaison de 3 molécules d'AG par leur fonction carboxyle avec les fonctions alcooliques du glycérol (**Henry, 2003**).

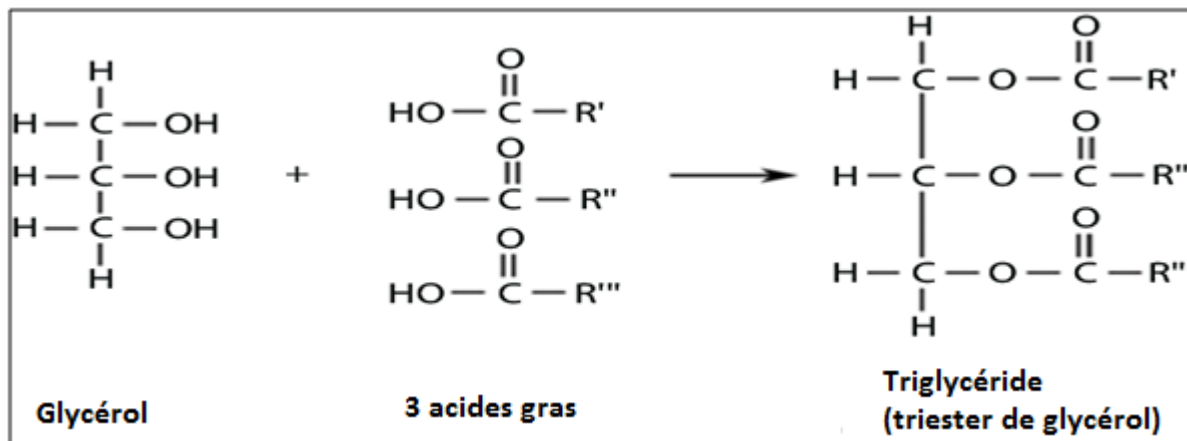


Figure 04. Structure chimique des triglycérides dans l'huile d'olive (**Damirchi, 2007**)

Ils sont hétérogènes car ils sont estérifiés par des AG différents qui caractérisent le type spécifique de graisse alimentaire (**Henry, 2003**). Le triglycéride majoritaire d'huile d'olive est la trioléine avec un pourcentage présenté dans le tableau 03 allant de 40 à 59% (**Abaza et al., 2002**).

Tableau 03. Composition de l'huile d'olive vierge en triglycéride (**Damirchi, 2007**)

Nature	Composition en glycérides en pourcentage (%)
O : Acide oléique (OOO)	40 - 59
P : Acide palmitique (POO)	12 - 20
L : Acide linoléique (OOL)	12,5 - 20
S : Acide stéarique (SOO)	3 - 7

I.4.2. La fraction insaponifiable

Elle 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, cette fraction contient des constituants dits « mineurs » par leur faible proportion dans la composition chimique de l'huile d'olive, mais qui lui apportent une valeur biologique d'une grande richesse (**Henry, 2003**). Elle est constituée de: hydrocarbures, stérols, composés phénoliques, pigments et tocophérols.

I.4.2.1. Les hydrocarbures

Le principal hydrocarbure de l'huile d'olive est le squalène qui représente entre 30 à 50% de la fraction insaponifiable, celui-ci apparaît dans la voie de la biosynthèse du cholestérol et d'autres stérols (**Samaniego-Sanchez et al., 2010**), il présente un effet protecteur à des faibles températures et à l'obscurité (**Joaquín and Carmen, 2002**).

I.4.2.2. Les stérols

Ils sont des lipides importants liés à l'huile et sa qualité représente 15% (v/v) de la fraction insaponifiable (**Gutierrez et al., 1999**). Tous les stérols ont en commun le noyau et ils diffèrent par leurs chaîne latérale, leur teneur dans l'huile d'olive est de 200 mg/100 g d'huile (**Joaquín and Carmen, 2002**). Parmi les facteurs qui influencent sur cette teneur, figurent la variété des olives et leur degré de maturité. Le principal stérol, est le β -sitostérol (**Boskou et al., 2006**).

I.4.2.3. Composés phénoliques

L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes, présents en grande quantité (20 à 500 mg pour 100 g d'huile), ils exercent une activité antioxydante importante, en particulier l'hydroxytyrosol dérivé de l'eupéine, c'est le principal responsable de l'action antioxydante des polyphénols (**Simopoulos, 2001**). C'est, en partie, grâce à lui que l'huile d'olive montre une aussi grande stabilité face à l'oxydation. Il est, en effet, bien connu pour la protection anti peroxyde qu'il confère à l'huile d'olive (**Tripoli et al., 2005**).

La composition en polyphénols de l'huile d'olive dépend de la variété et de la maturité des olives mais aussi des procédés technologiques utilisés pour séparer la phase aqueuse (margines) de la phase huileuse (**Henry, 2003**).

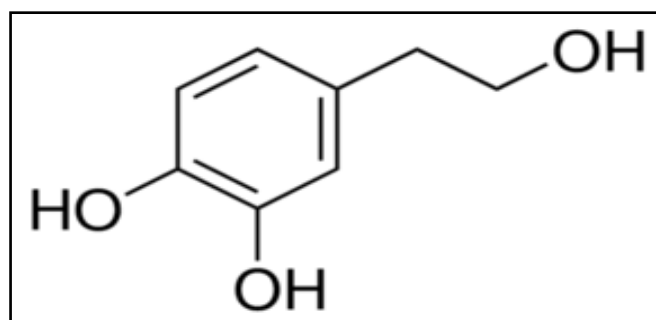


Figure 05. Structure chimique d'hydroxytyrosol (Tripoli et al., 2005)

I.4.2.4. Les pigments

a. La chlorophylle

Responsable de la couleur verdâtre de l'huile d'olive, sa quantité peut varier en fonction de nombreux facteurs. Ce pigment vert naturel stimule dans l'organisme la croissance cellulaire, l'hématopoïèse et accélère les processus de cicatrisation. Sa teneur est de l'ordre de 0,1 à 1 mg pour 100 g d'huile. L'huile d'olive contient majoritairement la chlorophylle a et b (figure 06) qui attribuent la couleur verte pour les drupes d'olive (Ran, 2014).

En présence de la lumière, la chlorophylle oxyde l'huile, alors qu'à l'obscurité, elle possède une activité antioxydante. C'est l'une des raisons pour les quelles l'huile d'olive est conservée à l'abri de la lumière (Henry, 2003).

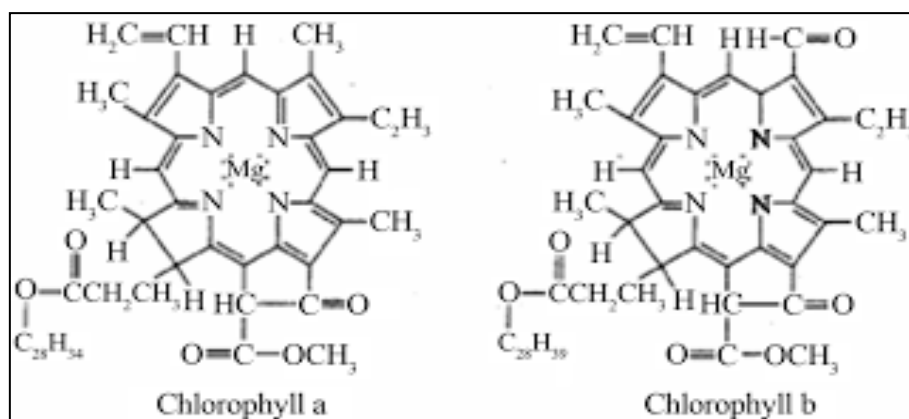


Figure 06. Structure chimique de chlorophylle a et b (Ran, 2014)

b. Les caroténoïdes

Ce sont également des pigments naturels à structure d'hydrocarbure. Jouent un rôle d'antioxydant, parmi eux : la β -carotène et la lutéine qui sont les principaux caroténoïdes

présents dans l'huile d'olive. Il y a de très petites quantités de xanthophyle comme la violaxanthine (Ran, 2014); et le α -carotène (provitamine A) à des concentrations variables (0,3 à 3,7 mg pour 1 kg d'huile), ce dernier est fournit par clivage de la vitamine A, l'huile d'olive est d'ailleurs la seule huile végétale à en posséder (Henry, 2003). Les caroténoïdes totaux peuvent varier entre 1 et 20 mg/kg d'huile (Ran, 2014), ils se décomposent également au cours du stockage de l'huile, si elle est exposée à la lumière. Dans ces conditions, l'huile d'olive peut devenir totalement incolore après 4 ou 5 ans (Henry, 2003).

I.4.2.5. Les tocophérols

Ils sont reconnus pour leur double action bénéfique, tout d'abord l'atout d'être une vitamine liposoluble (vitamine E) et ils ont également une forte activité antioxydante, la teneur totale en tocophérols dans l'huiles d'olives est très variable (Haddam et al., 2013).

Il existe 4 types de tocophérols selon (Blekas et al., 1994, Rayan et al., 2002):

- les α -tocophérols ou vitamine E qui représente 90% des formes de tocophérols, la plus active avec sa forte activité vitaminique.
- les β -tocophérols, les γ -tocophérols et les δ -tocophérols (figure 07).

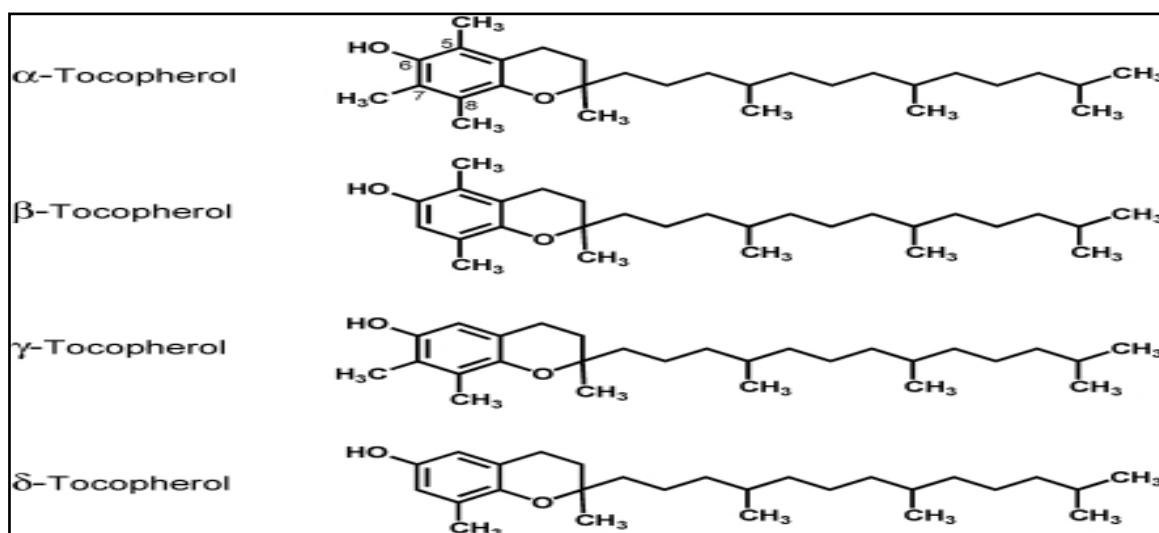


Figure 07. Les différentes structures de tocophérol (Djenontin et al., 2006)

I.5. Les caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive vierge

Les attributs sensoriels de l'huile d'olive sont classés selon **COI (2007)**

a. L'amertume

C'est le goût élémentaire caractéristique de l'huile obtenue d'olives vertes ou au stade de la véraison.

b. Le fruité

Ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits sains et frais, perçues par voie directe ou rétro nasale.

c. Le piquant

Sensation tactile de picotement, caractéristique des huiles produites au début de la campagne, principalement à partir d'olives vertes. Toutes autre caractéristiques que ces trois attributs sera perçue comme un défaut de l'huile d'olive (**Veillet, 2010**).

I.6. Les différentes procédures d'enrichissement

Un grand nombre de substances biologiques peuvent être potentiellement utilisées pour enrichir l'huile d'olive principalement des feuilles ou des grignons d'olive (**Rodreguez et al., 2017**) ainsi que par des plantes et des légumes, l'enrichissement est assuré par différents procédés:

a. Enrichissement par infusion

Une méthode de macération traditionnelle pour enrichir l'huile d'olive et qui consiste à dissoudre des matériaux naturels contenant des antioxydants et des composés aromatiques tels que les herbes, les épices et les fruits (**Baiano et al., 2010**), dans la phase huileuse, requérant une durée de temps prolongée et une température ambiante (**Caponio et al., 2005**).

b. Enrichissement par des extraits végétaux

Implique l'extraction des composés cibles à partir de leurs matières premières comme la margine, les épices et les herbes (**Gharby et al., 2014**) et les incorporer pour être dissous dans l'huile d'olive (**Adamez et al., 2014**) (Tableau 04)

c. Enrichissement par Co-traitement

Une méthode moins utilisée repose sur l'ajout des herbes ou d'autres matières végétales à la pâte des olives broyées avant l'étape de malaxation ou pendant le broyage lors de l'extraction de l'huile d'olive, des exemples sont cités dans le tableau 04.

d. Enrichissement par ultrasons

La méthode a été développée par **Japon-Lujan et al., (2008)**. Les ultrasons ont été appliqués pour améliorer l'extraction des produits naturels à partir du matériel végétal, principalement à travers le phénomène de la cavitation. L'effet mécanique des ultrasons est censé accélérer la libération des composants bioactifs dus à la perturbation de la paroi cellulaire (**Achat et al., 2012**).

e. Enrichissement par microonde

Une méthode qui accélère le processus de transfert des composés bioactifs par les énergies auxiliaires de microonde dans l'huile d'olive, permet d'augmenter le rendement, diminue la quantité de solvant nécessaire et réduit le temps de traitement (**Malheiro et al., 2012**).

Tableau 04. Résumé des travaux récents sur l'effet d'enrichissement de l'huile d'olive par des matières végétales (Rodreguez et al., 2017)

La source	Méthode et condition d'extraction	Effet fonctionnel observé dans l'huile d'olive enrichie
Feuilles d'olive	Extraction solide-liquide directement dans l'huile (sans solvant organique), chambre d'extraction dynamique extraction assistée par ultrasons (25 °C, 20 min)	Stabilité oxydative accrue
	Extraction solide-liquide et liquide-liquide avec éthanol, extraction assistée par microonde (8 - 10 min, 200 - 400 W)	Stabilité oxydative accrue
Poivron rouge	Infusion 10 - 20% jusqu'à 30 jours extraction par liquide super critique à 40 °C et 15 - 23 MPa	Stabilité oxydative réduite
Ail, citron, origan, piment et romarin	Co-traitement (pressage, broyage et malaxation) 3 - 20% en olives	Stabilité réduite à l'exception de l'ail : activité antioxydante plus élevée (romarin)
Tomate	Avec la pulpe de la tomate et l'huile d'olive vierge à haute agitation mécanique, co-broyage de la graine de tomate ou de la peau et des olives	Amélioration de l'activité antioxydante
Fruits (pomme, citron et orange), épices (romarin, thym, basilic et origan)	0,5 - 5% par co-traitement (mouture et / ou malaxation)	Différences significatives dans les tests sensoriels, à l'exception des pommes

I.7. Les bienfaits d'enrichissement de l'huile d'olive vierge

L'enrichissement de l'huile d'olive par des composés phénoliques, l'européine et ces métabolites (tyrosol et hydroxytyrosol), qui sont des inhibiteurs puissants des radicaux générés lors de l'oxydation (**Lkrik et al., 2005**) ainsi que l'enrichissement par les flavonoïdes, les chlorophylles et les composés aromatiques qui possèdent souvent des activités antioxydantes non négligeables assurent la stabilité antioxydante et améliorent la qualité de l'huile d'olive (**Gharby et al., 2014**).

Le développement de ces huiles d'olive fonctionnelles peut aider à prévenir les maladies chroniques et améliorer la qualité de vie, sa richesse en antioxydants, comme les polyphénols, en particulier, et d'autres constituants permettent de prévenir et de traiter les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neuro-dégénératives, l'inflammation et le vieillissement, l'obésité (**Wahrburga et al., 2002**). Ils sont doté d'une activité antimicrobienne et jouent aussi un rôle important dans le renforcement du système immunitaire et la protection de certains tissus et organes contre les dommages oxydatifs: cerveau, foie, globules sanguins, etc..... (**Benmlih et al., 2016**).

II.1. Description botanique de la tomate

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) (figure 08) est une plante annuelle, buissonnante, poilue, vivace et herbacée appartient à la famille des *Solanaceae*, à tige grimpante qui peut atteindre une hauteur de plus de deux mètres (Naïka et al., 2005). Ses feuilles sont alternes, simples, et sans stipules, son fruit est sous forme d'une baie plus ou moins grosse, de forme variable, et de couleurs variées selon les variétés (Bouzaata, 2016).



Figure 08. Photographie d'un plant et fruit de tomate (Bouzaata, 2016)

II.2. Classification de la tomate (Bouzaata, 2016)

Règne.....Plantae.
 Sous règne.....Trachenobionta.
 Division.....Magnoliophyta.
 Classe.....Magnoliopsida
 Sous classe.....Asteridae.
 Ordre.....Solonales.
 FamilleSolanaceae.
 Genre*Solanum ou Lycopersicon*
 Espèce*Lycopersicon esculentum* Mill

II.3. Composition de la tomate

II.3.1. La composition nutritionnelle

La tomate comme la plupart des fruits, présente une bonne densité nutritionnelle (tableau 05).

Tableau 05. Composition du fruit de tomate. Les données sont en grammes pour 100 g de matière fraîche consommable (Davies *et al.*, 2009)

Nutriments	Valeur par 100 g
Eau	93,4 - 94,2 g
Protides	0,9 - 1,1 g
lipides	0,3 g
Glucides	2,8 - 4,7 g
Fibres	0,6 - 1,5 g
Minéraux	0,6 mg
Calcium (Ca)	9,7- 15 mg
Potassium(K)	202 – 300 mg
Sodium (Na)	3 – 11 mg
Phosphore (P)	20 – 27 mg
Fer (Fe)	0,2 - 0,6 mg
Magnésium (Mg)	3 – 11 mg
Provitamine A	0,5 - 0.8 mg
Vitamine B1	0,04 - 0,06 mg
Vitamine B2	0,02 - 0,05 mg
Vitamine B6	0,08 - 0,1 mg
Vitamine C	15 – 23 mg
Vitamine E	0,04 - 1,2 mg

L'intérêt nutritionnel de la tomate réside également dans le fait qu'elle contient de nombreux métabolites secondaires et des antioxydants (Bouzaata, 2016).

II.3.2. La composition en métabolites secondaires

II.3.2.1. Les composés phénoliques

Une grande diversité de composés phénoliques a été identifiée dans la tomate. Elle est composée principalement des acides hydroxycinnamiques, des flavonols et des flavanones, presque tous sous forme glycosylée, elle contient également des alcaloïdes dont le plus connu est la tomatine (tomatidine 3-*O*- β -lycotetraoside) (**Chanforan, 2010**).

a. Les acides phénoliques

Principalement l'acide gallique, caféoylquinique, chlorogénique, ferulique, caféique et l'acide *p*-coumarique (**Vallverdu et al., 2010**).

b. Les flavonoïdes

Sont des métabolites secondaires des plantes, ils présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆). Les principaux flavonoïdes identifiés dans la tomate sont: catéchine, quercétine, kaempferol, nargénine, perunidine et la rutine (**Chanforan, 2010**).

c. Les anthocyanes

Sont un groupe de dérivés des flavonoïdes et des pigments hydrosolubles responsables des couleurs de certaines parties végétales (fleurs, fruits, feuilles) les plus présents dans la tomate sont : Delphinidine-3-*O*-rutinoside-5-*O*-glucoside, Pétunidine -3-*O*-rutinoside-5-*O*-glucoside et Malvidine-3-*O*-rutinoside-5-*O*-glucoside (**Chanforan, 2010**).

3.2.2. Les caroténoïdes

Ce sont des pigments lipophiles d'origine végétale, ils confèrent aux plantes leur couleur, les caroténoïdes présents dans les tomates sont: l' α carotène, les xanthophylles tels que le β -cryptoxanthine, la zéaxanthine, la lutéine (**Lecerf, 2006**).

a. Le lycopène

Le lycopène (figure 09) est le pigment principalement responsable de la couleur rouge foncé caractéristique de la tomate mûre. Il possède des propriétés biologiques et physicochimiques, ce qui concerne ses effets comme antioxydant naturel (**Montesano et al., 2008**).

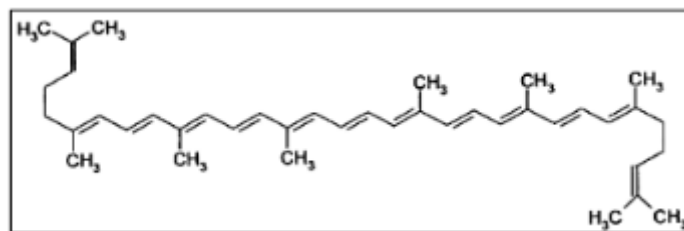


Figure 09. Structure moléculaire du lycopène (Montesano et al., 2008)

3.2.3. Les composés aromatiques

Quelques composés aromatiques importants ont été isolés des fruits de *Lycopersicon esculum Mill* à savoir l'Eugénol, Décaadiène-trans-2,trans-4 a,1, Linalol, lactone de l'acide triméthyl-2,6,6-hydroxy-2-cyclohexylidène, Geranylacétone (Viani et al., 1969).

II.4. Les effets bénéfiques de la tomate

La tomate est considérée comme un produit agricole riche en éléments nutritifs notamment en composés bioactifs (acides phénoliques, vitamines, flavonoïdes, caroténoïdes). Ces composés, individuelles ou combinés permettent la prévention de certaines maladies chroniques tels que le cancer d'estomac, du rectum, du sein, de la prostate ainsi que les risques de maladies cardiovasculaire (Sawadogo et al., 2015).

III.1. Produits et réactifs chimiques

- Eau distillée
- Hexane C_6H_{14}
- Ethanol C_2H_6O
- Solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 20% et à 7,5%
- Solution de réactif de Folin Ciocalteu (dilué à 1/10)
- Phénophtaléine $C_{20}H_{14}O_4$
- Acide gallique $C_7H_6O_5$
- Nitrite de sodium $NaNO_2$ à 0,01 N
- Trichlorure d'aluminium $AlCl_3$
- Cyclohexane C_6H_{12}
- Hydroxyde de potassium KOH à 0,1N
- Acide acétique CH_3COOH
- Chloroforme $CHCl_3$
- Solution d'iodure de potassium saturée KI
- Solution d'empois d'amidon
- Solution de thiosulfate de sodium $Na_2S_2O_3$
- Solution de DPPH°
- Sulfate de magnésium anhydre $MgSO_4$

III.2. Appareillage

- Spectrophotomètre UV-Visible : Optizen -322OUV
- Balance électronique de précision 0,001g : OHAUS
- Centrifugeuse EZ Swing -3K.
- Agitateur magnétique : Hot plate stirrer.
- pH-mètre :METTLER TOLEDO -Five Easy F20
- Etuve réglable : Venticell.

III.3. Matériel végétal

La matrice végétale utilisée dans notre étude est la tomate. Cette dernière a été incorporée dans la matrice huileuse qui est l'huile d'olive vierge (matrice d'enrichissement).

Les fruits de tomate sont récoltés à Biskra durant le mois d'avril 2018, présentant une couleur rouge en pleine maturité. Ce choix se justifie par sa richesse en antioxydants.

L'huile d'olive est de variété CHEMLLAL, il s'agit d'une huile d'olive vierge récoltée en mois de janvier à l'est de Bouira, Aghbalou, la région de Bahalil dont l'extraction est faite par l'extraction à trois phases.

Le but de notre étude est de suivre l'enrichissement de l'huile d'olive par la tomate en suivant l'évaluation des substances bioactives dans l'huile d'olive après relargage des ces derniers de puis la tomate durant une période d'un mois.

III.4. L'enrichissement

L'imprégnation de la tomate dans l'huile d'olive vierge a été réalisée selon la méthode traditionnelle. Les tomates ont été coupées en petit morceaux et ont été misent dans des flacons en verre de 70 mL. L'huile est ensuite ajoutée aux morceaux de fruits jusqu'à immersion avec un apport (11 g de tomate/59 mL d'huile vierge).

Les flacons ont été stockés à l'obscurité et à température ambiante avec d'autres flacons de l'huile d'olive témoin sans enrichissement (figure 10, a et b).



Figure 10. Photographie des flacons contenant l'huile d'olive vierge témoin (a) et enrichie (b)

III.5. Extraction des polyphénols à partir de l'huile d'olive vierge (enrichie et témoin):

5.1. Principe

Elle consiste à dissoudre et à mélanger l'huile d'olive vierge dans un solvant organique pour la récupération des composés phénoliques. Les solvants dans ce cas agissent selon des mécanismes proches de ceux qui interviennent dans les réactions de synthèse organique, il s'agit d'une interaction moléculaire entre le solvant et le soluté (**Vercauteren et al., 1996**).

5.2. Protocole expérimental

Pour l'extraction des polyphénols d'huile vierge, la méthode de **Didierb et al. (2015)** a été suivie avec certaines modifications: un échantillon d'huile d'olive vierge (4 g) a été dissout dans 4 mL d'hexane, puis 4 mL du mélange éthanol/ eau (60/40, v/v) a été ajouté, le mélange a été agité par un vortex pendant 2 minutes, la phase éthanolique a été récupérée après centrifugation pendant 5 minutes à 3000 tours/minute (diamètre 14 cm). Un deuxième lavage, a été réalisé auquel 5 mL d'hexane ont été ajoutés. Une centrifugation à 3000 tours/minute pendant 5 minutes a été réalisée, la phase éthanolique a été récupérée pour être évaporée dans une étuve à 60 °C (figure 11).

III.6. Dosage des polyphénols

6.1. Analyse de l'extrait

6.1.1. Principe

Le dosage des polyphénols totaux repose sur la méthode de Folin-Ciocalteu, qui est un réactif composé d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique qui se réduisent dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène par les composés phénoliques. L'intensité de la coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait (**Ollivier et al., 2004**).

6.1.2. Protocole expérimental

La méthode de dosage des polyphénols utilisée est celle décrite par **Negi et al. (2003)**. Un volume de 0,4 mL d'extrait a été additionné avec 2 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 1/10). Après 5 min, un volume (1,6 mL) d'une solution de carbonate de sodium à 20% (m/v) a été ajoutée. Ce mélange réactionnel a été laissé à l'obscurité pendant 20 min à température ambiante. L'absorbance de la coloration bleue développée a été mesurée à 760 nm (figure 12). La teneur en polyphénols a été déterminée en référence à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (annexe 1). Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG)

III.7. Tests d'activité antioxydante

Test DPPH° (2, 2diphényl-1- picrylhydrazyl)

7.1. Principe

Le composé chimique 2, 2diphényl-1- picrylhydrazyl (α , α - diphényl- β -picrylhydrazyle) possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, les molécules du radical ne forment pas des dimères il reste donc sous sa forme monomère relativement stable à température ambiante. C'est cette délocalisation qui provoque la coloration violacée bien caractéristique de la solution de DPPH°. Le suivi de la diminution de la coloration de DPPH° permet de mesurer l'efficacité d'un antioxydant, due à une recombinaison des radicaux DPPH° qui possède une absorbance maximale à 515 nm (**Rolland, 2004**).

Concernant les composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par transfert de l'atome H sur le DPPH° alors transformé en une molécule stable DPPH°. Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou en pourcentage d'inhibition des radicaux libres en utilisant la formule est exprimée dans l'équation 1 (**Boudries et al., 2012**):

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = (\text{abs témoin} - \text{Abs d'échantillon}) / \text{Abs témoin} \times 100$$

...Equation1

7.2 Protocol expérimental

Le test DPPH° a été réalisé selon la méthode décrite par **Dudonné et al. (2009)**. Un volume d'extrait (100 µL) à différentes concentrations a été mélangé avec 3 mL de la solution de DPPH° (60 µM, m/v). Après 20 minutes d'incubation à 37 °C, l'absorbance a été mesurée à 515 nm (figure 13). Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition, et une courbe d'inhibition en fonction de la concentration a été tracée: % d'inhibition = f (concentrations).

III.8. Caractérisation physicochimique et organoleptique de l'huile d'olive vierge

8.1. Test organoleptique

La qualité est définie comme étant l'ensemble des caractéristiques chimiques, physiques et sensorielles, permettant de classer l'huile d'olive en différentes catégories (**Tanouti et al., 2010**). Pour la caractérisation organoleptique de notre échantillon, trois critères sont pris en considération: la couleur, l'odeur et la saveur.

Le test organoleptique s'est déroulé au niveau de laboratoire d'analyse dans la faculté SNV en présence des étudiants (12 personnes; 8 filles et 2 garçons dont l'âge était entre 21 ans à 24 ans). Au moment de la dégustation, chaque membre avait en face de lui un volume de l'huile d'olive vierge (environ 2 mL). Après la dégustation, chacun de ces étudiants a répondu à un questionnaire concernant les trois critères cités auparavant (annexe 2)

8.2. Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive vierge

8.2.1. Acidité libre

C'est un facteur important pour évaluer la qualité d'une huile, elle est largement utilisée à la fois comme un critère classique de classification commerciale des huiles vierges, aussi un facteur qui renseigne sur l'altération de l'huile par hydrolyse. En effet, dans les huiles végétales, les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides 98-99% (**Gharby et al., 2014**).

a) Principe

L'acidité de l'huile d'olive est due à la présence des acides gras libres qui cèdent leurs protons H⁺ dans le milieu. Elle correspond à la quantité de potasse nécessaire pour neutraliser l'acidité de 1g de matière grasse (**Gharby et al., 2014**).

b) Protocol expérimentale:

L'acidité libre, exprimée en pourcentage d'acide oléique, a été déterminée sur une prise d'essai de 1g d'huile d'olive dissoute dans 50 mL d'éthanol. Le mélange a été titré par une solution d'hydroxyde de potassium à 0,1 N en présence de phénolphaléine (**Boulfane et al., 2015**).

L'acidité exprimée en pourcentage d'acide oléique, est calculée selon la formule (équation 2) (**Rehouma, 2008**):

$$A\% (\text{acide oléique}) = (V - V_0) * (N * M/10 * m)$$

...Equation 2

V et V₀ : volume en millilitre de KOH nécessaire à la neutralisation de l'échantillon et le blanc, respectivement

N : normalité de la solution de KOH (0,1N)

M : masse molaire de l'acide oléique qui est égale à 282 g/mL

m: masse en gramme de la prise d'essai

8.2.2. Indice de peroxyde**a) Principe**

Le principe de cette méthode repose sur le titrage par une solution de thiosulfate de sodium des molécules d'iode libérées par oxydation des iodures par les hydro peroxydes de l'échantillon solubilisé dans un mélange acide acétique/chloroforme. Les résultats sont exprimés en meq O₂/kg d'huile d'olive (**Lagadere et al., 2004**).

b) Protocol expérimentale

Un volume de 1 mL d'huile d'olive a été dissout dans 12,2 mL du mélange d'acide acétique / chloroforme (3/2, v/v). Ensuite 15 mL d'une solution d'iodure de potassium saturée ont été additionnés au mélange. Ce dernier a été placé à l'obscurité pendant 5 min. Le mélange a été additionné à 60 mL d'eau distillée et 1 mL d'une solution d'empois d'amidon (une couleur violette apparaît). Le mélange obtenu a été titré par une solution de thiosulfate de sodium à 0,01N (**Boulfane et al., 2015**).

L'indice de peroxyde (IP) se détermine selon l'équation 3 (**Boulfane et al., 2015**) :

$$IP = N (V - V_0) \times 1000 / m \text{ (meq d'O}_2\text{/Kg)}$$

...Equation3

V_0 : volume en millilitre de thiosulfate de sodium nécessaire pour titrer le blanc

V : volume en millilitre de thiosulfate de sodium nécessaire pour titrer l'essai.

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium (0,01N).

m : masse en gramme de la prise d'essai.

8.2.3. L'absorbance dans l'UV

a) Principe

Il permet de dissoudre l'échantillon d'huile dans un solvant approprié (cyclohexane) et de déterminer l'absorbance par spectrophotométrie aux rayonnements ultraviolets dans un domaine spécifique de longueur d'onde (232 nm et 270 nm) (**Abdelaziz and Djamila, 2016**).

b) Protocol expérimentale

Après avoir filtré les échantillons d'huiles via le sulfate de magnésium anhydre, 0,1 g de l'échantillon a été dissout dans 10 mL du cyclohexane. Après homogénéisation, la lecture a été faite dans des cuves en quartz de parcours optique de 1 centimètre aux longueurs d'onde de 232 et 270 nm. En employant comme blanc le solvant utilisé (**Boulfane et al., 2015**).

Les extinctions spécifiques rapportées aux différentes longueurs d'onde ont été calculées selon l'équation 4:

$$E = A_{\lambda} / C \times l$$

...Equation4

E : extinction spécifique a la longueur d'onde λ .

A_{λ} : absorbance mesurée a la longueur d'onde λ .

C : concentration de la solution en gramme par 100 millilitres.

l : épaisseur de la cuve en centimètre (1 cm).

III.9. Caractérisation physico-chimique et organoleptique de la tomate

La tomate utilisée dans notre étude est récoltée à pleine maturité, lavée, nettoyée et vidée de son contenu de graines et découpées et broyées par un mixeur domestique.

9.1. Test organoleptique

La qualité de fruit de tomate est l'association de plusieurs paramètres : son aspect (couleur), sa texture (fermeté), son goût (saveur, arôme) (**Bénard, 2009**).

Pour la caractérisation sensorielle de la tomate trois critères sont pris en considération: la couleur, l'odeur et la saveur.

Le test de dégustation s'est déroulé au niveau du laboratoire d'analyse dans la faculté SNV en présence des étudiants (12 personnes;8 filles et 2 garçons dont l'âge était entre 21ans à 24 ans), chacun de ces derniers à goûté notre échantillon (une tranche de tomate d'environ 11 g). A la fin, chacun d'eux a répondu à un petit questionnaire concernant la couleur, l'odeur et la saveur de notre échantillon

9.2. Mesure de pH

La mesure a été faite en plongeant l'électrode dans la purée de tomate et la lecture se fait directement sur le pH mètre (en prenant soins que l'électrode soit complètement immergée dans la solution) (Merck, 2016).

9.3. Extraction des polyphénols à partir de la tomate

9.3.1. Protocol expérimental

L'extraction des polyphénols à partir de la tomate a été réalisée selon Ower *et al.*,(2006) avec des modifications, l'échantillon de la tomate (100 g) a été macérée dans 100 mL d'un mélange hydro-alcoolique (éthanol/eau) (80/20, v/v) pendant 2 heures à température ambiante.

Le mélange a été filtré à l'aide d'un papier wattman (60 mm), le résidu obtenu a été repris pour une deuxième fois avec un volume de 50 mL du même mélange hydro alcoolique pendant 2 heures à température ambiante. L'extrait hydro alcoolique brut a été placé dans une étuve à 40 °C à fin d'éliminer le solvant (figure 14).

9.4. Dosage des polyphénols de la tomate

9.4.1. Protocol expérimental

Le dosage a été réalisée selon la méthode décrite par Recuenco *et al.* (2016), un volume d'extrait (0,2 mL) (préparé dans l'eau distillée avec les dilutions convenables) a été ajouté à

1 mL du réactif de Folin-Cicalteu fraîchement préparé (dilué à 1/10), après 5 minute, un volume (0,8 mL) de la solution de Na₂CO₃ (7,5%) a été additionné. L'ensemble a été incubé à température ambiante pendant deux heures, la lecture a été effectuée contre un blanc sans extrait à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm.

9.4.2. Expression des résultats

Le taux de polyphénols totaux dans les extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a_x + b$) établie avec des concentrations précises d'acides gallique (comme standard de référence), dans les mêmes conditions que l'échantillon.

9.5. Dosage des flavonoïdes

9.5.1. Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 510 nm (**Shivraj and Khobragade, 2010**).

9.5.2. Protocol expérimental

Un volume (500 µL) de l'extrait brut a été mélangé avec 2 mL d'eau distillée suivis de 150 µL de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5%. Après 5 min, un volume (100 µL) de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% (m/v) a été rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 1 mL de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5% a été additionné immédiatement. Le mélange a été agité afin d'homogénéiser le contenu (**Recuenco et al., 2016**).

L'absorbance de la solution qui est de couleur rosâtre a été déterminée à 510 nm contre un blanc (figure 15).

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de plante étudiée a été exprimée en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par 100 mL d'extrait brut.

9.6. Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH°

9.6.1. Mode opératoire

Mélanger 1000 µL d'une solution du DPPH° avec 50 µL de l'extrait. Pour le contrôle négatif, un volume d'éthanol (50 µL) a été mélangé avec 1000 µL de DPPH°, le blanc de l'appareil est le méthanol. Ces solutions ont été incubées pendant 30 minutes à température ambiante, puis la mesure a été faite à 515 nm (**Atoui et al., 2005**).

Le pourcentage de réduction du DPPH° est exprimé dans l'équation 5 (**Yen and Duh, 1994**):

$$\% \text{ PR du DPPH}^\circ = \frac{(\text{Abs contrôle à } t_0) - (\text{Abs échantillon à } t_{30} \text{ min})}{(\text{Abs contrôle à } t_0)} \times 100$$

...Equation5

-% PR du DPPH° : pourcentage d'inhibition du DPPH°.

- Abs contrôle à t_0 : densité optique du DPPH° à t_0 .

- Abs d'échantillon à t_{30} : densité optique à 30 min après avoir ajouté l'extrait.

IV.1. Dosage des polyphénols totaux (avant et après l'enrichissement)

Les composés phénoliques ou polyphénols sont responsables de la bonne stabilité de l'oxydation des huiles d'olives vierges. En plus des propriétés antioxydantes, ces composés possèdent d'intéressantes propriétés nutritionnelles et organoleptiques (**Brenes et al., 2002** **Dimitros, 2006**).

Les concentrations des polyphénols dans les huiles d'olive vierge témoins et enrichies au cours du stockage sont exprimées en mg EAG/100 mL d'extrait brut à partir d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique (annexe 1) et présentées dans la figure 11.

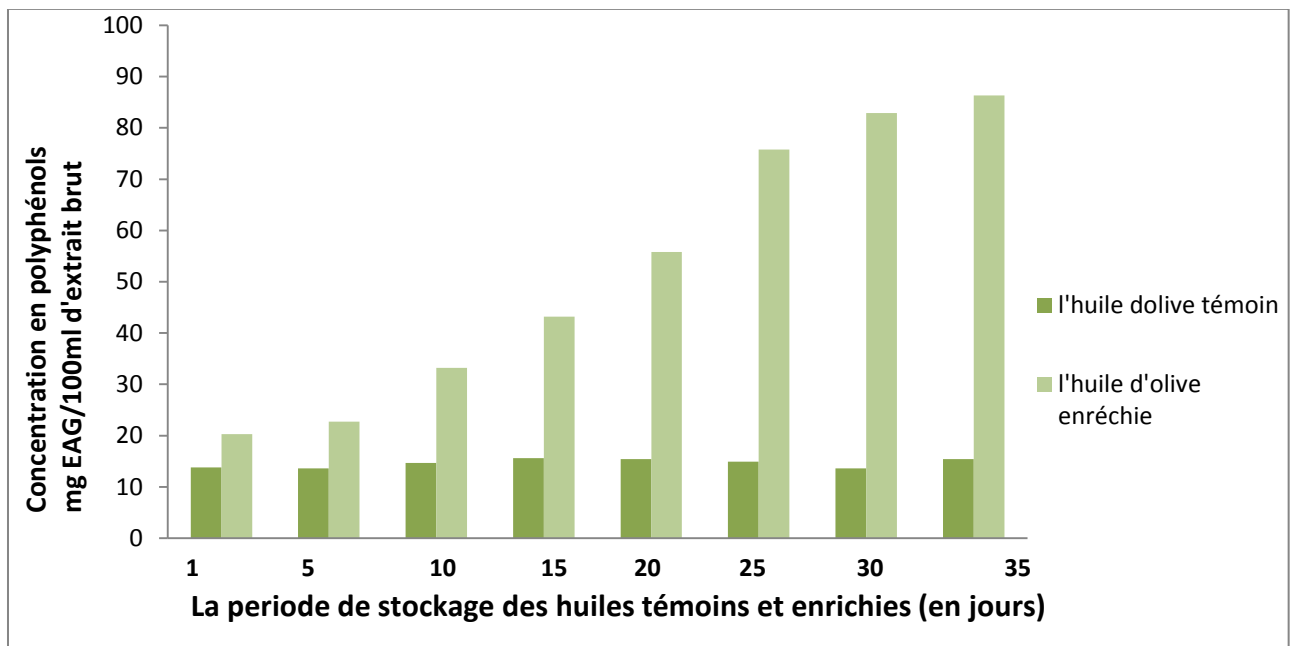


Figure 11. Evolution de la teneur en polyphénols totaux des huiles d'olives vierge témoins et enrichies au cours d'enrichissement par la tomate

Les résultats obtenus pour les échantillons témoins oscillent entre 13,8 à 15,6 mg EAG/100 mL d'extrait brut.

Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Montedero et al. (1992)** qui a trouvé 0,5 mg/g dans une étude réalisée sur l'huile d'olive vierge issue de l'Umbria et Apulia par HPLC. Les teneurs en polyphénols obtenues dans cette étude peuvent être due au degré de maturation des olives avant trituration (récolte précoce des olives), mais dépend également de la variété cultivée, des étages bioclimatiques (**Garcia et al., 2003**) et de la variation saisonnière, le facteur environnemental de l'olivier, la diversité inter variétale de l'olivier et la méthode d'extraction (**Abdelaziz et al., 2004**).

Au cours du stockage de l'huile d'olive témoin; les échantillons ont présentés une stabilité de concentration en polyphénols, cette stabilité s'explique par le fait que les conditions de conservation sont pris en considération (température ambiante, à l'abri de l'air et la lumière) pendant la réalisation du travail.

D'après les résultats obtenus après l'enrichissement (figure 11), des différences de concentrations ont été remarqué entre les échantillons témoins et ceux enrichies. Les teneurs en polyphénols totaux dans l'huile d'olive vierge enrichie augmentent graduellement avec l'augmentation de temps de la macération, et la teneur maximale obtenue est de 86,3 mg EAG/100 mL d'extrait brut après environs 35 jours d'enrichissement dans des conditions stables (température ambiante, à l'abri de la lumière et l'air).

Cette augmentation est probablement du au relargage des composées phénoliques de la tomate vers l'huile d'olive et par la richesse de cette dernière en composés phénoliques, les concentrations en polyphénols augmentent après 15 jours d'enrichissement d'une façon remarquable, cela montre aussi l'influence de la période et des conditions de stockage sur la teneur en polyphénols des huiles d'olives enrichies.

IV.2. Mesure de l'activité antioxydante de l'huile d'olive vierge (avant et après enrichissement)

Les résultats de l'activité scavenger sur le radical DPPH° des extraits éthanoliques des huiles d'olives avant et après enrichissement avec la tomate sont exprimés en pourcentage (%) et représentés sur la figure 12.

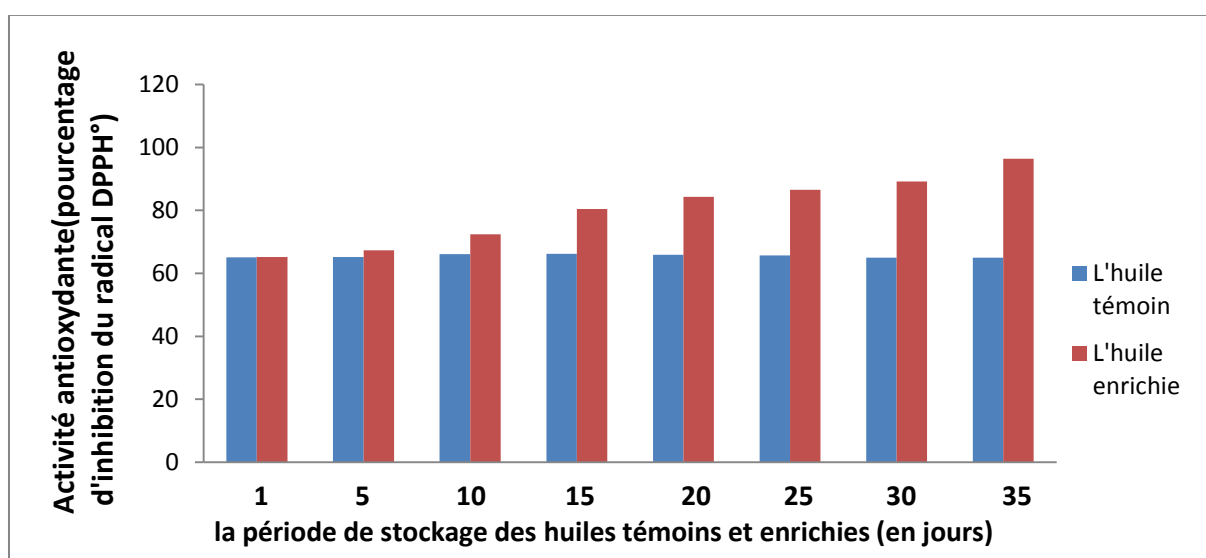


Figure 12. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH° des différents extraits de huile témoins et enrichies.

Les résultats obtenus pour les huiles témoins sont proches aux résultats trouvés par **Laribi (2015)** qui a obtenue des pourcentages de 60,15% pour la variété Aghenfas 61,77% pour le type Bouchouk Soummam et 65,01% pour Bouricha. Cette activité antioxydante est liée à l'évaluation constatée au niveau des polyphénols totaux lors de stockage (**Benlemlih and Ghanam, 2012**)

Une augmentation des pourcentages d'inhibition du radical DPPH° à été constatée par l'huile d'olive vierge enrichie par la tomate durant la période de stockage à partir du 5^{ème} jour et continue à augmenter tout au long du stockage. Cette augmentation s'explique probablement par l'augmentation de la teneur en polyphénols des échantillons d'huiles aromatisées due à leur enrichissement par la tomate qui est un aliment riche en polyphénols. Plusieurs auteurs ont rapporté que l'activité antioxydante est liée à la teneur en composés phénoliques totaux (**Zanoni et al., 2005; Choi et al., 2006; Pourmorad et al., 2006; Bouaziz et al., 2008**).

IV.3. Caractérisation physicochimique et organoleptique de l'huile d'olive vierge

3.1. Test organoleptique

Chaque huile d'olive possède ces propres caractéristiques organoleptiques qui sont principalement la saveur, la couleur et l'odeur;

Les caractéristiques organoleptiques de notre échantillon démontrent en général une intensité de couleur jaune, une saveur acceptable avec une bonne odeur.

Les résultats des différents tests de caractérisations physico-chimiques de l'huile d'olives sont résumés dans le tableau 6 :

Tableau 06. Les résultats de la caractérisation physicochimique de l'huile d'olive vierge.

Les analyses réalisées	Acidité libre (%)	Indice de peroxyde (meq d'o ₂ /kg d'huile d'olive)	Extinction spécifique k ₂₃₂	Extinction spécifique k ₂₇₀
Les valeurs	1,35	6,06	1,06	0,21

3.2. Indice d'acidité

L'acidité libre est un facteur qui renseigne sur l'altération de l'huile par hydrolyse, c'est un facteur de qualité très important et un critère de classification des huiles d'olive (**Benaziza and Semad, 2016**).

L'acidité libre de l'échantillon est présentée dans le tableau 06, est exprimée en pourcentage d'acide oléique.

L'acidité libre de l'huile d'olive est de 1,35% d'acide oléique, sur la base de ce résultat et selon la norme commerciale du *Conseil Oléicole international (COI, 2006)*, l'échantillon analysé est une huile de type vierge. La classe des huiles d'olive vierge dont l'acidité libre est inférieure ou égale à 2%.

Ce résultat est nettement supérieur aux résultats enregistrés par **Issaoui et al. (2010)** chez les variétés du sud de la Tunisie notamment la variété *Chemlali* (1%) et la variété *Chétoui* (0,9%), cette acidité ce traduit par une hydrolyse durant l'extraction et le stockage de l'huile. Elle est une conséquence directe des conditions de la récolte et de l'extraction, ou due au stockage des olives. (**Ajana et al., 1999**).

3.3. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est lié à la récolte, à la conservation et au mode d'extraction. Il reflète le degré d'oxydation des huiles, accéléré par la présence d'oxygène, la température et certains catalyseurs. Ces facteurs agissent sur les doubles liaisons des acides gras insaturés pour former des peroxydes et des hydro peroxydes (**Cimato, 1990**).

Le résultat obtenu pour la teneur en peroxyde est représenté dans le tableau 06. Il est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile (meq O₂ actif/kg d'huile olive).

L'indice de peroxyde (IP) est d'une valeur de 6,06 (meq O₂/kg) pour l'échantillon d'huile d'olive, cette valeur reste inférieure à la limite établie par la norme commerciale du Conseil Oléicole International (**COI, 2003**) pour les huiles d'olives qui est ≤ 20 , ce résultat est proche des résultats rapportés par **Benaziza and Semad (2016)** sur les variétés *Ferkani*, *Frantoio* et *Manzanilla*, plantées au Sud -Est d'Algérie avec des valeurs de 5,09, 5,10 et 6 (meqO₂/kg), respectivement. Cette valeur est relativement faible et indique une faible oxydation de l'huile, cela pourrait être dû aux conditions de transformation des olives (récolte, transport et stockage) et à la présence de substances antioxydantes naturelles (**Boulfane et al., 2015**).

3.4. Détermination de l'absorbance spécifique aux rayonnements ultraviolets

Les extinctions à 232 nm et 270 nm nous renseignent sur l'état d'oxydation de l'huile (Noorali et al., 2014). Plus la valeur d'extinction à 232 nm est forte plus l'huile est peroxydée et plus celle à 270 nm est forte, plus elle est riche en produits secondaires d'oxydation. En effet, les hydro peroxyde sont les composés qui apparaissent les premiers stades de l'oxydation, ils absorbent à 232 nm, alors que les produits d'oxydation secondaires tels que les cétones insaturées dicétones absorbent au voisinage de 270 nm (Boucekif, 1991). Les valeurs des extinctions spécifiques en ultra-violet K_{232} et K_{270} obtenues pour l'échantillon sont représentées dans le tableau 6.

Les valeurs sont respectivement pour la k_{232} : 1,06 et la k_{270} : 0,21, ces dernières indiquent qu'elles sont dans les limites fixées par le Conseil Oléicole International (COI, 2011) pour les huiles d'olives vierges ($k_{232} \leq 2,60$, $k_{270} \leq 0,25$) ces absorbances dans l'UV se rapprochent avec celles obtenues par Benaziza and Semad (2016) pour la variété *Farantoio et Rougette*. Ces auteurs ont enregistré des valeurs qui oscillent entre 1,03 et 0,19 pour K_{232} et K_{270} respectivement, plusieurs facteurs peuvent expliquer ces résultats. Les deux coefficients d'extinction sont significativement influencés par la récolte précoce des olives, le système d'extraction, l'état sanitaire des olives ainsi que leurs stockage, à la protection contre l'exposition des olives et de l'huile extraite à l'oxygène et à la lumière (Tanouti et al., 2010) Il est a noté que c'est la même huile, qui a présenté une valeur d'indice de peroxyde faible (6,06 meq O₂/kg d'huile).

IV.4. Caractérisation physico -chimique et organoleptique de la tomate

4.1. Test organoleptique

La qualité organoleptique d'un fruit réunit l'ensemble des composantes évaluées par trois des cinq sens, la vue, l'odorat et le goût. Notre échantillon de tomate présente une couleur rouge foncé ce qui est un indice de maturité du fruit, et un goût très acide relatif a sa teneurs importante en acides et présente aussi une bonne saveur ce qui signifie sa richesse en composés aromatiques volatils.

Les différents test de caractérisation du fruit de tomate sont exprimés dans le tableau 7

Tableau 07. Les résultats de la caractérisation physicochimique de la tomate.

L'analyse réalisée	Mesure de pH	Dosage des	Dosage des
--------------------	--------------	------------	------------

		polyphénols totaux (mg EAG/100 ml d'extrait brut)	flavonoïdes (mg EC/100 ml d'extrait brut)
Les valeurs	4,43	43,11	27,22

4.2. La mesure de pH

Le potentiel d'hydrogène est une des variables utilisées pour caractériser les propriétés des milieux. Facile à mesurer, le pH est utilisé dans de nombreux domaines comme une variable opératoire, un facteur caractérisant du produit fini ou encore à des fins de contrôle de qualité. De nombreuses études se sont attachées à corrélérer sa valeur à des lois cinétiques de réactions, des qualités organoleptiques de produits ou encore des activités enzymatiques (**Akin, 2008**)

Le résultat obtenu (tableau 06) montrent que la valeur du pH de la purée de tomate est de 4,43 qui est inférieure à celle trouvée par **Sherman et al. (1977)** qui ont noté un pH entre 3,9 et 4,9 pour quelques variétés locales de tomate améliorées rencontrées dans le sud du Bénin : des échantillons en provenance de deux zones de production: Aplahoué (Mono) et Sèmè-Podji (Ouémé). Ce pH attribue à la tomate un goût acide, c'est un indice de maturité du fruit d'après **Fagbohoun and Kik (1999)**, le pH de la tomate mûre s'élève à 4,5.

4.3. Dosage des polyphénols de la tomate

Le dosage des polyphénols totaux, nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus au niveau de l'extrait hydro-alcoolique de la purée de tomate, avant de procéder à la détermination de la teneur en composés phénoliques, une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme composé de référence été établie (annexe 1), la teneur en composés phénoliques de l'échantillon est consignée dans le tableau 07 exprimées en mg équivalent d'acide gallique par 100 mL d'extrait brut.

La teneur en composés phénoliques totaux de l'échantillon est de 43,11 mg EAG/100 mL, cette valeur est supérieure aux résultats de l'étude menée par **Ramandeep and Geoffrey (2005)** qui ont trouvé des concentrations en polyphénols dans les différentes fractions de la tomate respectivement: 29,1 mg EAG/100 mL pour la pelure, 12 mg EAG/100 mL pour la

purée et 22 mg/100 mL pour les graines pour les variétés Excell, Tradiroet Flavourine, selon **Raffo et al. (2006)** cette différence de concentration en polyphénols est due à plusieurs facteurs comme : La variété ou l'espèce: le taux de polyphénols diffère d'une espèce à une autre et d'une variété de fruit à une autre, la période de récolte: c'est aussi aux conditions climatiques et à la période de maturité du fruit où le taux de polyphénols atteint son maximum, le solvant d'extraction: le choix du solvant (méthanol, éthanol..etc) agit sur la quantité de polyphénols extraite.

De ce fait on peut considérer la tomate comme étant une bonne source d'antioxydant naturelle.

4.4. Dosage des flavonoïdes

La quantité de flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage du catéchines (annexe 1), les résultats obtenus exprimés en milligrammes par en équivalent du catéchine dans 100 mL d'extrait (tableau 07).

Selon les résultats de tableau 7, le taux des flavonoïdes du fruit est de 27,22 mg EC/100 mL. La teneur en flavonoïdes est supérieure aux valeurs des flavonoïdes données par **Ramandeep and Geoffrey (2005)** pour les fractions de la tomate de variétés Excell, Tradiro et Flavourine: pelure 20 ,4 mg EC/100 mL, purée 8,2 mg EC/100 mL et les graines 12,8 mg EC/100 mL.

4.5. Activité antioxydant des polyphénols de la tomate

Le test DPPH° permet de mettre en évidence le pouvoir donneur d'hydrogène aux radicaux libres. La figure représente les résultats de mesure des pourcentages d'inhibition du radical DPPH° en fonction de la concentration des extraits testés.

Le résultat obtenu avec ce test révèle que la tomate est une substance anti radicalaire pouvant neutraliser efficacement le radical DPPH° (70% d'inhibition de radical de DPPH°). Cette activité pourrait s'expliquer par la richesse des extraits de la tomate en polyphénols principalement l'acide Chlorogénique, rutine et l'acide gallique. Car selon **Turkmen et al. (2007)** les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH°, en raison de leur chimie structurale idéale.

Ce présent travail montre que l'huile d'olive utilisée est de type vierge d'après les résultats de caractérisation physico-chimiques (Acidité libre: 1,35, Indice de peroxyde : 6,06 meq d'O₂/kg d'huile d'olive, Extinction spécifique k₂₃₂ :1,06 et Extinction spécifique k₂₇₀ : 0,24) et qui sont dans les normes commerciales du *Conseil Oléicole International en 2006*.

Le fruit de tomate utilisée dans cette étude présentait un pH acide et une bonne teneurs en polyphénols et flavonoïdes (pH : 4,43, polyphénols totaux 43,11 mg EAG/100 ml d'extrait brut, flavonoïdes 27,22mg EC/100 ml d'extrait brut)

L'enrichissement de l'huile d'olive vierge par le fruit de tomate, dans des conditions de stockage à température ambiante et à l'abri de la lumière, a permis d'avoir une huile plus riche en composés bioactives qui sont les polyphénols totaux, et une amélioration de l'activité antioxydante par rapport à l'huile témoin.

En effet, sous ces conditions, les polyphénols totaux sont estimés à 86,3 mg EAG/100 mL d'extrait brut, avec un facteur d'augmentation (6) est constatée au bout de 35 jours d'enrichissement.

Ces résultats permettent de conclure que l'incorporation de la tomate dans l'huile d'olive a relativement aidé à améliorer la composition de cette dernière en antioxydants. De plus, l'huile enrichie présente une activité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH° plus importante que l'huile témoin. Par conséquent, cette huile produite peut constituer un potentiel aliment fonctionnel de part sa riche composition. En perspective, il serait très intéressant d'analyser et de caractériser les polyphénols et les caroténoïdes et d'autres composés présents dans l'huile enrichie, et bien sûr d'évaluer également la biodisponibilité aussi bien des composés endogènes et exogènes des substances bioactives de l'huile enrichie. L'utilisation de test d'évaluation d'activité antioxydante *in vivo* également permettrait de mieux appréhender la qualité nutritionnelle de ce produit et aussi étudier les caractéristiques organoleptiques des huiles d'olives enrichies.

Références bibliographiques

A

- **ABAZA, L., MSALLEM, M., DAOUD, D., ZARROUK, M. & . 2002.** Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes .Characterization of the oils from seven Tunisian olive tree varieties. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 2, 174-9, 9, 14.
- **ABDELAZIZ, M., ABEDALLAH, N., HOUSSEYEN, M., KAMEL, N. B. H. & ABEDLKADER, S. 2004.** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle *int. J. Biol. Chem. Sci.* 8(4):1865-1870, août 2014.
- **ACHAT, S., TOMAO, V., MADANI, K., CHIBANE, M., ELMAATAOUI, M., DANGLES, O. & CHEMAT, F. 2012.** Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry* 19 (2012) 777–786, 11.
- **ADAMEZ, J., FRANCO, B. M. N. & DANIEL, M. V. 2014.** Oxydative Stability, Phénolic Compounds and Antioxydant Potential of virgin Olive Oil Enriched with Natural Bioactive. *Journal of Oleo science* 63(1) 55-65, 55.
- **AJANA, H., ANTARI, A. E. & HAFIDI, A. 1999.** Evolution of biometric parameters and chemical composition of olives from Moroccan Picholine variety fruit ripeness. *1999.Grasas y Aceites*, 50(1): 1-16.
- **AKIN, H. 2008.** Evolution du pH pendant la fermentation alcoolique de mouts de raisins :modélisation et interprétation métabolique thèse doctorat génie des procédés et environnement.
- **ALILECHE, K., ZIAN, A. H., MEGATLI, I. & OUALI, A. 2015.** Détermination de l'activité antioxydants des figes sèches seules et imprégnées dans l'huile d'olive. Université M'Hamed Bougara Boumerdès / CRAPC. **BAIANO, A.,**

- **GAMBACORTA, G. & NOTTE, E. L.** 2010. Aromatization of Olive Oil. *Transworld Research Network*, 29.
- **BÉNARD, C.** 2009. *Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate.* doctorat Sciences Agronomiques, UMR 1121 Nancy Université – INRA.
- **BENAZIZA, A. & SEMAD, D.** 2016. Oleiculture : Caracterisation De Six Varietes D'olives Introduites Dans Le Sud – Est Algerien. *European Scientific Journal November 2016 edition vol.12, No.33 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.*
- **BENLEMLIH, M. & GHANAM, J.** 2012. La composition chimique des fruits d'olive polyphénols d'huile d'olive trésors santé. . Belgique
- **BENMLIH, M., GHANAM, J. & JOYEUX, H.** 2016. POLYPHENOLS D'HUILE D'OLIVE, TRESORS SANTE ! *In: PIETTEUR, M. (ed.) Medicatrix ed. france.*
- **BLEKAS, G., TSIMIDOU, M. & BOSKOU, D.** 1994. Contribution of ar-tocopherol to olive oil stability. *Food Chemirtrv 52 (1995) 289-294*
- **BORTOLOMEAZZA, R., SEBASTIANUTTO, N., TONIOLO, R. et PIZZARIELLO, A.** 2007. Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem.* 100: 1481-1489
- **BOSKOU, D., BLEKAS, G. & TSIMIDOU, M.** 2006. Olive Oil Composition. *In: BOSKOU, D. (ed.) chimistry and Technologie.*
- **BOUCHEKIF, M.** 1991. Evolution quantitative et qualitative de l'huile d'olive au cours de la maturation et du stockage. Thèse d'ingénieur d'états en technologie des I.I.A.et nutrition humaine

- **BOUDHIOUA, N., SLIMEN, I. B., BAHLOUL, N. & KECHAOU, N.** 2008. Etude du séchage par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne. *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'Alger* : 111-116.
- **BOULFANE, S., MAATA, N., ANOUR, A. & HILALI, S.** 2015. Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences* 87:8022– 8029.
- **BOUZAATA, C.** 2016. Valorisation des sous produits de quatre variétés de tomate industrielle (*Solanum esculentum* L) dans l'Est algérien. Doctorat Biologie Végétale, Université Badji Mokhtar.
- **BRENES, M., GARCIA, A., RIOS, J. J., GARCIA, P. & GARRIDO, A.** 2002. Use of l'acetoxypinoresinol to authenticapepicual olive oils. . *International journal of food science and technology*, 37 :615-625.
- **Bozin B. Mimica-Dukic N., Simia N., Anackov G., 2006.** Charactezation of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxydant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem*, 54: 1822-1828

C

- **CAPONIO, F., DURANTE, V., VARVA, G., SILLETTI, R., PREVITALI, M. A., VIGGIANI, I., SQUEO, G., CARMINE SUMMO, PASQUALONE, A., GOMES, T., BAIANO, A.** 2005. Effect of infusion of spices into the oil vs combined malaxation of olive paste and spices on quality of naturally flavoured virgin olive oils. *Food Chemistry*, 23.
- **CAR/PP 2000.** Prévention de la Pollution dans la Production de l'Huile d'OlivePlan d'action pour la Méditerranée. Espagne: Centre d'Activité Régionale pour la Production Propore

- **CHANFORAN, C.** 2010. EStabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Doctorat Chimie, Université d'Avignonet des Pays de Vaucaluse.
- **CHIMI, H.** 2006. Technologie d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. *journal Transfert de Technologie en Agriculture*, 4.
- **CICERALE, S., CONLAN, X. A., SINCLAIR, A. J. & ., R. S. K.** 2009. Chemistry and health of olive oil phenolics. . *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 218-236.
- **CIMATO, A.** 1990. La qualité de l'huile d'olive et facteurs agronomiques. *Olivae*, 1990 (31). pp : 20-31.
- **CLODOVEO, M. L., DIPALMO, T., CRUPI, P., DURANTE, V., PESCE, V., MAIELLARO, I., LOVECE, A., MERCURIO, A., LAGHEZZA, A., CORBO, F. & FRANCHINI, C.** 2016. Comparison Between Different Flavored Olive Oil Production Techniques: Healthy Value and Process Efficiency. *Journal of Plant Foods Hum Nutr*, 7.
- **CNUCD 2005.** Accord internationalde 2005 sur l'huile d'olive et les olives de table. *Nation Unies*. Conférences des Nations Unies sur le Commerce et le Développement
- **CODEX 1981.** NORME POUR LES HUILES D'OLIVE ET LES HUILES DE GRIGNONS D'OLIVE. *CODEX STAN 33-1981*. ALIMENTARIUS CODEX.
- **COI 2003.** Dénominations et définitions des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive. Conseil Oléicole International/7-88-IV/2003. Madrid 2003. pp 46-48.
- **COI 2006.** L'oléiculture en Algérie. Conseil Oléicole International. 2006. (32). pp 2-22.

- **COI 2007.** Analyse Sensorielle : Vocabulaire Général de Base. *COI/T.20/Doc. n° 4/Rev. 1.* Conseil Oléicole International.
- **COI 2011.** Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux l'huiles de grignons d'olive. . *T. 15/NC n° 3/Rév. 6.*
- **COI 2015.** Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et aux huiles de grignons d'olives. *COI/T.15/NC n° 3/Rév. 8.* Conseil Oleicole International
- **COVAS, M. A.-I., , KONSTANTINIDOU, V. & FITO', M.** 2009. Olive Oil and Cardiovascular Health. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 54, 54:477–482.

D

- **DAMIRCHI, S.** 2007. *Olive Oil Phytosterols, Tracing of Adulteration with Hazelnut Oil and Chemical Interesterification.* doctorat Agriculture, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences
- **DAVIES, J. N., E.HOBSON, G. & MCGLASSON, W. B.** 2009. The constituents of tomato fruit — the influence of environment, nutrition, and genotype. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*
- **DELFIANIAN, M., KENARI, R. E. & SAHARI, M. A.** 2015. Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.) skin and pulp extracts. *Food Science and Nutrition* 2015; 3(3): 179–187.
- **DENIS, O., JACQUES, A., CHRISTIAN, P., PIERRE, D. J. & MICHEL, G.** 2003. Triacylglycerol and Fatty Acid Compositions of French Virgin Olive Oils. Characterization by Chemometrics. *Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5723–5731 5723.

- **DIDIERB, B. F. H., NAIMAA, G., KHODIRA, M., MARTINC, K., LÉOCADIED, K., CAROLINED, S., MOHAMEDE, C. & PIERRED, D.** 2015. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) H... *Industrial Crops and Products* 74 (2015) 722–730.
- **DIMITROS, B.** 2006. Sources of natural phenolic antioxydants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 505-512.
- **DJENONTIN, S. T., DANGOU, J., WOTTO, D. V., SOHOUNLHOUE, K. C. D., LOZANO, P. & PIOCH, D.** 2006. COMPOSITION EN ACIDES GRAS, STEROLS ET TOCOPHEROLS DE L'HUILE VEGETALE NON CONVENTIONNELLE EXTRAITE DES GRAINES DE JATROPHA CURCAS (EUPHORBIACEAE) DU BENIN *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* (2006) 022 ; 59 - 67
- **FAGBOHOUN, O. & KIK, D. G.** 1999. Aperçu sur les principales variétés de tomate locale cultivées dans le sud du Bénin *Bulletin de la Recherche Agronomique Numéro* 24 - mars 1999

G

- **GARCIA, A., BRENES, M., GARCIA, P., ROMERO, C. & GARRIDO, A.** 2003. Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*. 216 (6) : 520-525.
- **GARGOURI, O., BEINROUINA, Y., BENMANSOUR, A., FLAMINI, G., BENROUINA, B. & BOUAZIZ B.** 2016. Comparative Study of Oil Quality and Aroma Profiles from Tunisian Olive Cultivars Growing in Saharian Oasis Using Chemometric Analysis. *Journal of Oleo Science*. 65, (12) 1033-1044 (2016)
- **GENOT, C. & MICHALSKI, M.-C.** 2010. Impact métabolique des structures et de l'oxydation des lipides dans les aliments. *Innovations Agronomiques* 10 (2010), 43-67

- **GHARBI, I., ISSAOUI, M., S MEHRI, CHERAIEF, I., SIFI, S. & HAMMAMI, M.** .2015. Agronomic and technological factors affecting tunisian olive oil quality. *Agricultural Sciences*, 6(05), 513.
- **GHARBY, S., HARHAR, H., Z. BOUZOUBAA, ROUDANI, A., CHAFCHAOUNI, I., KARTAH, B. & CHARROUF, Z.** 2014. Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol (Effect of Polyphenols extracts from margins on the stability of sunflower oil). *Journal of J. Mater. Environ. Sci*, 7.
- **GÜLÇİN, I., ELIAS, R., GEPDIREMEN, A., BOYER, L. & KÖKSAL, E.** 2007. A comparative study on the antioxydant activity of fringetree (*Chiomanthusvirginicus* L) extracts. *African journal of biotechnology*, 6 (4) : 410-418.
- **GUTIERREZ, F., JIMENEZ, B., A.RUIZ & ALBI, M. A.** 1999. Effect of Olive Ripeness on the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Extracted from the Varieties Picual and Hojiblanca and on the Different Components Involved. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 121–127.

H

- **HADDAM, M., CHIMI, H. & AMINE, A.** 2013. Huile d'olive Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *OCL 2014*, 21(5) D507
- **HENRY, S.** 2003. *L'HUILE D'OLIVE, SON INTERET NUTRITIONNEL, SES UTILISATIONS EN PHARMACIE ET EN COSMETIQUE* doctora pharmacie, UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1.

I

- **ISSAOUI, M., FLAMINI, G. & BRAHMI, F.** 2010. Effect of the growing area conditions on differentiation between Chemlali and Chétoui olive oils. . *Food Chemistry*. 2010. (119). pp 220-225.

J

- **JAPON-LUJAN, R., JANEIRO, P., DOLORES, M. & CASTRO, L. D.** 2008. Solid-Liquid Transfer of Biophenols from Olive Leaves for the Enrichment of Edible Oils by a Dynamic Ultrasound-Assisted Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, 56, 7231–7235 7231, 5.

- **JOAQUÍN, V. & CARMEN, D.** 2002. Oxidative stability of virgin olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104 (2002) 661–676.

K

- **KALUA, C. M., ALLEN, M. S., JR, D. R. B., BISHOP, A. G., PRENZLER, P. D. & ROBARDS, K.** 2005. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*, 100 (1)273-286.
- **KHOUDALI, S., BENMESSAOUD, D., ESSAQI, A., ZERTOUBI, M. & AZZI, M.** 2014. Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. . *J. Mater. Environ. Sci*, 5(3), 887-898.

L

- **LAGADERE, L., LECHAT, H. & LACOSTE, F.** 2004. Détermination de l'acidité et de l'indice de peroxyde dans les huiles d'olive vierges et dans les huiles raffinées par spectrométrie proche infrarouge à transformée de Fourier. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides.*, 11.
- **LAZZEZ, A., PERRI, E., CARAVITA, M. A., KHLIF, M. & COSSENTINI, M.** 2008. Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the chemlalivarety. *J. Agric. Food chem*, 56(3) :982-988.
- **LECERF, J.-M.** 2006. Tomate, lycopenne et prévention cardiovasculaire. *Phytothérapie (2006) Numéro 1: HS34–HS39.*
- **LKRIK, A., SOUIDI, K. & MARTIN, P.** 2005. Effets des polyphénols extraits à partir des tourteaux et feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L) sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive. *ResearchGate.*

M

- **MALHEIRO, R., CASAL, S., LAMAS, H., BENTO, A. & PEREIRA, J. A.** 2012. Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International* 48 (2012) 148-154.
- **MANNA, C., D'ANGELO, S., MIGLIARDI, V., LOFFREDI, E., MAZZONI, O., MORRICA, P. & ZAPPIA, V.** 2002. Protective effect of the phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in human cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(22), 6521- 6526.
- **MILIS 2006.** Olive oil marketing in non-traditional markets: prospects and strategies. *New medit*, 5(1) : 27-37.
- **MOLYNEUX, P.** 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J Sci Technol* 26: 211-219.
- **MONTEDORO, G., SERVILI, M., BALDIOLI, M. & MINIATI, E.** 1992. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9):1571-1576.
- **MONTESANO, D., FALLARINO, F., COSSIGNANI, L., BOSI, A., SIMONETTI, M. S., PUC CETTI, P. & DAMIANI, P.** 2008. Innovative extraction procedure for obtaining high pure lycopene from tomato. *Eur Food Res Technol* (2008) 226:327–335

N

- **NAIKA, S., JEUDE, J. V. L. D., GOFFAU, M. D., HILMI, M. & DAM, B. V.** 2005. La culture de la tomaten. In: DAM, B. V. (ed.) *production, transformation et commercialisatio*. Digigrafi, Wageningen, Pays-Bas.
- **NEGI, P. S., JAYAPRAKASHA, G. K. & JENA, B. S.** 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry* 80 (2003) 393–397.

- **NOORALI, M., MBARZEGAR & SAHARI., M. A.** 2014. Sterol and fatty acid compositions of olive oil as an indicator of cultivar and growing area. *Journal of American Oil and Chemical Society*, 91:1571-1581.

O

- **OLLIVIER, D., BOUBAULT, E., PINATEL, C., SOUILLOL, S., GUÉRÈRE, M. & ARTAUD, J.** 2004. Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, 2ème Semestre 2004-N°965-pp.169-196.*
- **OUERGHEMMI, I., REBEYB, I. E., HARBAOUI, H., HAMMAMI, M., KSOURI, R. & TOUNIS, M. S.** 2017. Phenolic composition and antioxidant activity of Solanum sodomaeum fruit extract during two ripening stages Etude de la composition phénolique et des potentialités antioxydantes des extraits de fruits de Solanum sodomaeum au cours de deux stades de maturation. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 46(3), 2517-2526.
- **OWUOR, P. O., OBANDA, M., NYIRENDA, H. E., I.K, N., MPHANGWE, P, L. & APOSTOLIDES, Z.** 2006. The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (*Camellia sinensis*) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. *Food Chemistry* 97 (2006) 644–653.

P

- **PEÑALVO, G. C., ROBLEDO, V. R., CALLADO, C. S. C., SANTANDER-ORTEGA, M. J., VÁZQUEZ, L. C.-., M V LOZANO & ARROYO-JIMÉNEZ, M. M.** 2016. Improving green enrichment of virgin olive oil by oregano. Effects on antioxidant. *Food chemistry*, 197, 509- 515.
- **PERRIN, J. L.** 1992. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Rev. corps gras*, 1/2, 25-32.
- **POKORNY, J ,YANISHILIEVA,N. & GORDON ,M.**2001. Antioxidants in food. Pratical application Woolhead Publishing Limited . ISBN:185573-463X

R

- **RAFFO, A., MALFA, G. L., FOGLIANO, V., G, M. & G, Q.** 2006. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 11-19.
- **RAMANDEEP, K. T. & GEOFFREY, P. S.** 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes *Food Research International* 38 (2005) 487–494.
- **RAN, J.** 2014. *Comparaison for new Zealand Extra virgin oil.* master Food Technologie, Messey university.
- **RAYAN, D., ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P., ROBARDS, K. & LAVEE, S.** 2002. Biotransformation of phenolic compounds in *Oléa Eupaea L.* *Scientia Horticulture* 92(2002)147-176.
- **RECUENCO, M., LACSAMANA, M., HURTADA, W. & SABULARSE, V.** 2016. Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Selected Fruits in the Philippines. *Philippine Journal of Science* 145 (3): 275-281, September 2016.
- **RODREGUEZ, P., GONZÁLEZ, M., BARREIRO, C., GÁNDARA, J., SALVADOR, M., GRANDE, B. & FREGAPANE, G.** 2017. State of the Art on Functional Virgin Olive Oils Enriched with Bioactive Compounds and Their Properties *.International of Moleculaaire Sciences;*, 688.

S

- **SAMANIEGO-SANCHEZ, C., QUESADA-GRANADOS, J. J., SERRANA, H. L.-G. D. L. & LOPEZ-MARTINEZ, M. C.** 2010. β -Carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system. *Journal of Food Composition and Analysis* 23 (2010) 671–676.

- **SANCHEZ-M, C., LARRAURI, J. & SAURA-C, F.** 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J Sci Food Agric* 1998, 76, 270È276
- **ŠAROLIĆ, M., GUGIĆ, M., MARIJANOVIĆ, Z. & ŠUSTE, M.** 2014. Virgin olive oil and nutrition. *Food in health and disease, scientific-professional journal of nutrition and dietetics*, 38-43.
- **SAVY, S.** 2005. *Biosynthèse de caroténoïdes aromatiques hydroxylés par des bactéries non photosynthétiques :Des carotènes aux xanthophylles.* . Doctorat microbiologie, Université de Bretagne Occidentale.
- **SAWADOGO, I., KOALA, M., DABIRE, C., OUATTARA, L. P., BAZIE, V. B. E. J. T., HEMA, A., GNOULA, C., PALE, E. & NEBIE, R. H. C.** 2015. Etude de l'influence des modes de transformation sur les teneurs en lycopène de quatre variétés de tomates de la région du nord du Burkina Faso. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(1): 362-370,.
- **SERVILI, M.** 2014. The phenolic compounds: a commercial argument in the economic war to come on the quality of olive oil? *Ocl*, 21(5), D509.
- **SERVILI, M., ESPOSTOL, S., FABIANI, R., URBANIL, S., TATICCHIL, A., MARIUCCIL, F., SELVAGGINIL, R. & MONTECOROL, G. F.** 2009. Phenolic compounds in olive oil: antioxydant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, 17: 1-9..
- **SHERMAN, L., MARSH, D., TOMBROPOULES, J. E. & HEIL, J. B.** 1977. Evaluation of tomato condition in bin of processing tomatoes harvested at different levels of ripeness . . *Journal of Food Processing and Preservation.* pp. 55-68.
- **SHIVRAJ, N. & KHOBRAJ, C.** 2010 Antioxidant activity and flavonoid derivatives of *Plumbago zeylanica* *Journal of Natural Products*, Vol. 3(2010):130-133.

- **SIMOPOULOS, A. P.** 2001. The Mediterranean Diets: What Is So Special about the Diet of Greece? *American Institute for Cancer Research 11th Annual Research Conference on Diet, Nutrition and Cancer.*
- **SINGELTON, V., ORTHOFOR, R. & LAMUELA-RAVENT, R. M.** 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *METHODS IN ENZYMOLOGY. VOL. 299 :152-178.*

T

- **TANOUDI, K., ELAMRANI, A., SERGHINI-CAID, H., KHALID, A., BAHETTA, Y., BENALI, A., HARKOUS, M. & KHIAR, M.** 2010. CHARACTERISATION D'HUILES D'OLIVE PRODUITES DANS DES COOPERATIVE PILOTES (LAKRARMA ET KENINE) AU NIVEAU DU MAROC ORIENTAL. *LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE – 2010, Volume 5, N°18*
- **TRIPOLI, E., GIAMMANCO, M., TABACCHI, G., MAJO, D. D., GIAMMANCO, S. & GUARDIA, M. L.** 2005. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews*, 16.
- **TURKMEN, N., SVELIOGLU, Y., SARI, F. & POLAT, G.** 2007. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3), 484-496.

V

- **VALLVERDU, A., JAUREGUI, O., MEDINA-REMO, A., ANDRE'S-LACUEVA, C. & LAMUELA-RAVENTO, R. M.** 2010. Improved characterization of tomato polyphenols using liquid chromatography/electrospray ionization linear ion trap quadrupole Orbitrap mass spectrometry and liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2010; 24: 2986–2992.

- **VEILLET, S.** 2010. Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive :Entre Tradition et Innovation. Doctorat Chimie, UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE.
- **VERCAUTEREN, J., C.CHEZE & C.TRIAUD** .1996. polyphenols 96. Bordeaux (France): 18 eme International Conference on polyphenols
- **VIANI, R., BRICOUT, J., MARION, J. P., MUGGLER-CHAVAN, F., REYMOND, D. & EGLI, R. H.** 1969. 100. Sur la composition de l'arbme de tomate. *HELVETICACH IMICAA CTA- Vol. 52, Fasc. 4 (1969) - Nr. 100.*
- **VOSSSEN, P.** 2005. OLIVE OIL PRODUCTION. California: University of California Cooperative Extension.

W

- **WAHRBURGA, U., KRATZB, M. & CULLEN, P.** 2002. Mediterranean diet, olive oil and health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol. 104 (2002) 698–705, 8.*

Y

- **YEN, G.-C. & DUH, P.-D.** 1994. Scavenging Effect of Methanolic Extracts of Peanut Hulls on Free-Radical and Active-Oxygen Species *J. Agric. Food Chem. 1994, 42, 629-632.*

Z

- **ZANONI, B., BERTUCCIOLI, M., ROVELLINI, P. & MAROTTA, F.** 2005. .Aproliminary toredictive modelling of extra virging olive oil stbility . *Journal of the Science of food and Agriculture, 85: 1492- 1498.*

Annexe 2 :

I . Questionnaire de caractérisation organoleptique de l'huile d'olive :

I.1 .la couleur de l'huile d'olive est – elle ?

a-Jaune claire b-jaune foncée c- verdâtre

I.2 .L'odeur de l'huile d'olive est –elle ?

a- bonne b-acceptable c-mauvaise

I.3.La saveur de l'huile d'olive est-elle ?

a- bonne b-acceptable c- mauvaise

II . Questionnaire pour la caractérisation organoleptique de la tomate ?

II.1.La couleur du fruit de tomate est-il ?

a-rouge claire b-rouge foncée c-verte

II.2.L'odeur du fruit de la tomate est- elle ?

a- bonne b-acceptable c-mauvaise

II.3.La saveur du fruit de la tomate est-elle ?

a-acide b-sucrée c-aucune saveur