

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 D'Agronomie



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2018

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

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomique
Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Présenté par :

Khelif Imane Oum elkheir & Ghernaout Ouissam

Thème

**L'incorporation des feuilles d'olivier dans une huile de
friture et l'étude de son effet sur l'oxydation thermique**

Soutenu le : 01 / 07/ 2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme. Chekroune Malika</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Presidente</i>
<i>Mme. Bourfis Nassima</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme Bensmail Souhila</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2017/2018

REMERCEMENTS

En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur, Mme Bourfis. Nassima

Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et

Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de Ce modeste travail.

Nous adresse nos sincères remerciements aux membres du jury qui ont été nos enseignants durant notre cycle.

Merci à vous Mme Chekroune Malika d'avoir accepté de présider le jury.

Nos chaleureux remerciements vont à Mme Bensmail Souhila d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail

Nos derniers remerciements, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Liste des abréviations

AG : Acide gallique
AGE: acide gras essentielle
AFNOR : Association Française de la Normalisation
BHA: Butylhydroxyanisol
BHT: Butylhydroxytoluène
BSA : Bovin Sérum Albumine
C : Concentration en matières solubles
CP :composés phénoliques
DO : Densité Optique
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EAG : Equivalent gramme d'acide Gallique
EHA : Extrait hydro alcoolique
FL : Flavonoïdes
FOC: Feuilles d'olivier variété « Chemlal»
FOO : Feuilles d'olivier variété « Oléastre »
Ia : indice d'acide
Ip : indice de peroxyde
MAT: matières azotées totales
MS : Matière sèche
PFOC : poudre de feuilles d'olivier de variété « Chemlal»
PFOO : poudre de feuilles d'olivier de variété « oléastre »
PG : gallate de propyle
PPT : Polyphénols totaux
PR : Pouvoir réducteur
UV : Ultra Violet

Liste des figures

Figure II-1 : Mécanisme général des réactions d'oxydation des lipides.....	13
Figure II-2: Conséquences de la peroxydation des lipides.....	16
Figure II-3: Deux exemples des structures des caroténoïdes.....	19
Figure II-4: Structure du noyau phénol.....	20
Figure II-5: Squelette de base des flavonoïdes.....	21
Figure II-6 : Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b)	22
Figure II-7 : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1, 2,3-tri-O-galloyl- -D-glucose).....	23
Figure III.1 : photographie des feuilles d'olivier (1) Chemlal et (2) oléastre	25
Figure III-2: préparation préliminaire de la poudre des feuilles d'olivier aux différentes analyses physicochimiques.....	26
Figure III-3 photographe des poudres de feuilles obtenus après broyage (1) PFOO et (2) PFOC.....	26
Figure III-4: Etapes de préparation de l'extrait hydro alcoolique.....	30
Figure III-5: Mécanisme de réaction de chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.....	31
Figure III-6: les étapes de dosage des flavonoïdes.....	32
Figure III-7 : Les étapes de détermination du pouvoir réducteur.....	33
Figure III-8 : Etapes de test DPPH	34
Figure IV-1 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de la PFOC.....	45
Figure IV-2 :Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de la PFOO.....	45

Figure IV-3 :Huile de soja témoin	50
Figure IV-4 : Huile enrichie par 50g/l de la poudre oléastre	50
Figure IV-5 :Huile enrichie par 100g/l de la poudre oléastre.....	51
Figure IV-6 :Huile enrichie par 150g/l de la poudre oléastre.....	51
Figure IV-7 :Huile enrichie par 50g/l de la poudre Chemlal.....	52
Figure IV-8 :Huile enrichie par 100g/l de la poudre Chemlal	52
Figure IV-9 :Huile enrichie par 150g/l de la poudre Chemlal	52

Liste des tableaux

Tableau I-1 Les principales variétés de l'olivier cultivé en Algérie.....	6
Tableau II-1.Les principales classes des composés phénoliques.....	23
Tableau IV-1 :Les résultats des analyses physicochimiques des poudres de feuilles d'oliviers.....	41
Tableau IV-2 :Les résultats de l'activité antioxydant des feuilles d'olivier des deux variétés étudiées.....	43
Tableau IV-3 :Valeurs des CI50 des extraits de feuilles l'olivier	46
Tableau IV-4: Caractéristiques physico-chimiques d'une huile alimentaire Elio	47
Tableau IV-5 : Résultats des travaux antérieurs pour le paramètre acidité libre.....	47
Tableau IV-6 : Résultats des travaux antérieurs pour le paramètre indice de peroxyde.....	48

Table de matière

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie I :Synthèse Bibliographique

Chapitre I : L'olivier

I-1.Généralité.....	4
I-2.Air de répartition.....	4
I-2-1.Dans le monde.....	4
I-2-2.Dans notre pays.....	5
I-3.Classe botanique.....	5
I-4.Variétés cultivées.....	6
I-5.Les feuilles d'olivier.....	7
I-5-1.Composition chimique des feuilles d'oliviers et propriétés.....	7
I-5-2.Intérêts des feuilles d'olivier pour la santé humaine.....	8
I-5-3Les voies de valorisation des feuilles d'olivies.....	9

Chapitre II : L'oxydation des lipides

II-1.Altérations biologiques	10
II-2. Altérations thermiques.....	10
II-3. Altérations chimiques.....	11
II-3-1.Acidification.....	11
II-3-2.L'oxydation.....	12
a- L'Auto oxydation.....	12
b-Photo-oxydation.....	13
c-Oxydation enzymatique.....	14
II-3-2-1. Facteurs accélérant l'oxydation.....	15

II-3-2-2. Les facteurs retardant l'oxydation.....	16
II-3-2-3. Les conséquences des réactions d'altération des corps gras	16
II-4. Les antioxydants.....	17
II-4-1. Définition.....	17
II-4-2. Mécanisme d'action	17
II-4-3. Utilisation des antioxydants.....	18
II-4-4. Classification des antioxydants.....	18
II-4-4-1. Antioxydants de synthèses.....	18
II-4-4-2. Substances synergiques.....	18
II-4-4-3. Antioxygènes d'origine végétale.....	19
a- Tocophérols (vitamine E).....	19
b- Les caroténoïdes.....	19
II-5. Les polyphénols.....	20
II-5-1. Classification des polyphénols	21
II-5-1-1. Polyphénols simples	21
a- Acides phénoliques	21
b- Alcools phénoliques.....	22
II-5-1-2. Polyphénols complexes (tanins)	23
a - Tanins hydrolysables.....	23
b- Tannins condensés.....	23
II-5-2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	24

Partie II : Expérimentation

Chapitre III : Matériels et méthodes

III. Matériels et méthodes.....	25
III-1. Matériels	25
III-1-1. Matière première	25
III-1-2. Huile végétale.....	25
III-2. Méthodes d'analyse	25
III-2-1. Caractérisation physico-chimique des poudres de feuille d'olivier obtenue.....	26
III-2-1-1. Détermination de la teneur en eau.....	27
III-2-1-2. Détermination du pH.....	27
III-2-1-3. Détermination de l'acidité titrable.....	27
III-2-1-4. Détermination de la teneur en cendre.....	28
III-2-1-5. Détermination de la teneur en matière grasse	28
III-2-1-6. Extraction et dosage des protéines	29
III-2-1-6-1. Extraction des protéines	29
III-2-1-6-2. Dosage des protéines	29
III-3. Etude de l'activité antioxydante des poudres des feuilles d'olivier	30
III-3-1. Dosage des polyphénols	30
III-3-2. Dosage des flavonoïdes (FL).....	31
III-3-3. Pouvoir réducteur.....	32
III-3-4. Le pouvoir anti-radicalaire.....	33

III-4.Analyse des huiles	35
III-4-1.Détermination de l'indice d'acide	35
III-4-2.L'indice de peroxyde.....	35
III4-3.Détermination de l'indice d'iode	36
III-4-4.Indice de réfraction.....	37
III-5.Suivie de l'oxydation des huiles par le coefficient des distinctions spécifiques.....	38
III-5-1.Détermination des extinctions spécifiques.....	39

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV-1.Caractérisation physico-chimique des poudres de feuille d'olivier obtenue.....	41
IV-1-1.La teneur en eau.....	41
IV-1-2.Taux des cendres	41
IV-1-3.pH et acidité.....	42
IV-1-4. Matière grasse	42
IV-1-5.Teneur en protéines	42
IV-2.Etude de l'activité antioxydante des poudres des feuilles d'olivier.....	42
IV-2-1.concentration des polyphénols	43
IV-2-2.Concentration des flavonoïdes	44
IV-2-3.Pouvoir réducteur.....	44
IV-2-4.Le pouvoir anti-radicalaire	44
IV-3.Analyses de l'huile.....	47
IV-3-1 .Caractéristiques physico-chimiques de l'huile Elio.....	47
IV-3-1-1.l'indice d'acide	47
IV-3-1-2.L'indice de peroxyde	48

IV-3-1-3-L'indice d'iode	48
IV-3-1-4.L'indice de réfraction	49
IV-4. Suivre de l'oxydation des huiles par le coefficient des distinctions spécifiques	49
IV-2-1.Evolution de l'extinction spécifique de l'huile végétale non enrichie (huile témoin).....	52
IV-4.2.Evaluation de l'extinction spécifique de l'huile végétale enrichie par la poudre des feuilles d'olivier sauvage (oléastre).....	52
IV-4-3.Evaluation de l'extinction spécifique de l'huile végétale enrichie par la poudre des feuilles d'olivier cultivé (Chemlal)	52

Les huiles végétales telles que les huiles de table occupent une place importante dans la nutrition humaine en effet les lipides sont indispensables à notre alimentation, ils doivent apporter 1/3 de notre énergie quotidienne. Ils ont un rôle nutritionnel sur les plans énergétique et métabolique et sont intéressants par leurs apports en acides gras essentiels et vitamines liposolubles. Ces huiles sont utilisées dans l'alimentation pour les fritures, les plats cuisinés et dans l'assaisonnement. Comme tout aliment, des qualités organoleptiques, nutritionnelles, hygiéniques sont requises car tout manquement pourrait avoir une répercussion directe sur la santé humaine. (Almi D, 2010)

Les huiles issues des graines oléagineuses comme l'huile de tournesol et de soja sont riches en tocophérols et presque dépourvues de composés phénoliques (Fritch et al., 1997 ; Salta et al., 2009). Ces huiles peuvent être soumises à des altérations qui peuvent être de différents ordres. Durant le stockage, le traitement thermique et la friture, la détérioration graduelle de l'huile prend place dû aux réactions de décomposition à savoir l'hydrolyse, l'oxydation, l'isomérisation et la polymérisation (Gertz et al., 2000 ; Gomez-Alonso et al., 2003 ; Lee et al., 2007).

L'oxydation est la cause principale de détérioration des huiles. En effet, cette dégradation oxydative dépend de plusieurs facteurs : composition en acides gras de l'huile, présence d'antioxydants ou pro oxydants, température, présence d'oxygène, de métaux lourds, (Kalogianni et al., 2009). En effet, la conséquence de cette dégradation est la perte des qualités organoleptiques, nutritionnelles et hygiéniques (Warner, 2002). Cependant, la quantité des antioxydants naturels n'est pas toujours suffisante pour stabiliser les huiles, d'où la nécessité d'addition des antioxydants synthétiques. Les plus utilisés par l'industrie agroalimentaire sont : le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le tributylhydroquinone (TBHQ) et le gallate de propyl (PG), du fait de leurs avantages (Augustin et Berry, 1983). Malheureusement, plusieurs rapports indiquent que ces antioxydants peuvent avoir des effets carcinogéniques (Reddy et al., 2005) et sont actuellement mal acceptés par la plupart des consommateurs. Il existe une forte tendance à limiter leur utilisation malgré leur efficacité et favoriser l'utilisation des antioxydants naturels comme alternative des premiers.

De ce fait, les industries agroalimentaires développent l'utilisation des antioxydants naturels et surtout leur incorporation dans les huiles destinées à la friture. **(Almi D, 2010)**

A l'heure actuelle, les polyphénols captent l'intérêt des chercheurs et occupent une place impressionnante de recherches **(Falleh et al., 2008 ; Bondia-pons et al., 2009 ; Chew et al. 2009).**

Les polyphénols sont des molécules spécifiques de règne végétal, On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. **Achat. S.2013.** parmi les plante qui possèdent une spécificité par les composés phénoliques on distingue :la palmier dattier , les raisins , l'olivier ...

L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute l'extraction de l'huile a partir de son fruit, l'olive. Cette huile a une importance capitale dans la nutrition et la santé humaine, si bien que la recherche s'est élargie à l'étude des sous-produits de l'olivier, notamment les feuilles. Ces dernières sont riches en nombreux composés phénoliques. **(Iguergaziz N, 2012).** Cette matière végétale est recommandée depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle comme traitement de la fièvre, la malaria...etc. **(Lee et al., 2009).**

Les feuilles, site principal du métabolisme de la plante, représentent une source principale de polyphénols **(Erbay et Icier, 2009).** Selon **Martin-Garcia et al., (2003) et Ferreira et al., (2007)**, elles constituent l'un des sous produits de l'industrie oléicole (10% de poids total des olives).

Il est clair qu'une tentative de valoriser les polyphénols des feuilles d'olivier d'une variété cultivée Chemlal et variété sauvage présente un intérêt pour des applications en agroalimentaire. Le choix des variétés est du à ses prédominance variétale.

La présente étude est menée pour l'objectif de caractériser les feuilles d'olivier et de les valoriser par l'enrichissement dans une huile de friture et le suivre de l'évolution de l'oxydation en étudiant le coefficient d'extinction.

I- l'olivier

I-1.Généralités

L'olivier est parmi les plus vieux arbres cultivés dans le monde (**Liphshitz et al. 1991**), a une origine très ancienne, sa culture remonte à la plus haute antiquité (**Gaussorgues et al., 2009**) ; est un arbre typiquement méditerranéen, se caractérise par un fruit, l'olive, dont l'huile est un composant essentiel du régime méditerranéen. Riche en acides gras insaturés, en vitamine E et en polyphénols.

Espèce appartient par des fleurs hermaphrodites régulières à pétales soudées, à deux étamines, à deux ovules par loge ; ce sont des plantes ligneuses à feuilles opposées et à fruits charnus (**Flahault, 1986, Morettini et al., 1972**), produit deux sortes de fleurs : une parfaite qui contient les deux sexes, male et femelle, et une fleur staminée. Les feuilles contiennent des composés comme l'acide glycolique et les hétérosides qui possèdent une propriété hypoglycémiantes. (**Metzidakis I T, Voyiatzis DG. (1997).**)

I-2.Air de répartition

I-2-1.Dans le monde

La zone naturelle de répartition géographique de l'olivier dans le monde se situe principalement entre le 26e et le 45e degré de latitude nord et sud.

L'olivier cultivé est toujours un arbre méditerranéen, bien sur, il a essaimé sur d'autres continents. À la suite des conquérants portugais et espagnols, il est implanté en Amérique du sud. On le trouve aussi en Syrie, au Liban, aux états Unies, en Afrique du Sud, en Australie et jusqu'au Japon et en Chine. (**Sidhoum M,2011**)

La culture de l'olivier occupe en 2005 dans le monde 7,5 millions d'hectares pour une production de 14,9 millions de tonnes d'olives avec un rendement de 20 quintaux/ha. Sur la période 2000-2006, la production mondiale moyenne annuelle s'élève à 2.778.800 tonnes d'huile d'olive et à 1 638 300 tonnes d'olives de table. La production mondiale d'huile d'olives est passée de 1 453 000 tonnes en 1990 à 2 820 000 tonnes en 2006, alors que dans le même temps la production d'olives de table passait de 950 000 tonnes à 1 832 500 tonnes. (**Sidhoum M.2011**)

D'après FAO L'oléiculture occupe toutefois une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens et la tendance de la consommation mondiale est à la hausse. Les quatre premiers pays producteurs (Espagne, Italie, Grèce et Turquie) assurent 80% de la production mondiale d'olives.

I-2-2. Dans notre pays

Comme dans la plupart des autres pays méditerranéens, l'olivier constitue l'une des principales espèces fruitières plantées en Algérie, avec environ 207822 ha soit 33% de la surface arboricole et 24616600 arbres (24 millions de pieds d'olivier) (M.A., 2005).

La production d'olives à huile est tributaire des conditions climatiques et reste une culture traditionnelle. Cette espèce est présente à travers l'ensemble des wilayas du Nord du pays en raison de ses capacités d'adaptation à tous les étages bioclimatiques. Ainsi, dans certaines zones, l'oléiculture assure une activité agricole intense permettant de générer des emplois, de garantir l'approvisionnement d'unités de trituration d'olives et de conserveries d'olives. (Achour, 1995)

I-3. Classe botanique

L'olivier est classé dans la famille des Oléacées ; Le genre est appelé oléa et comporte 30 espèces différentes réparties à la surface du globe. (Moreaux S. (1997)

La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon (Cronquist (1981) est la suivante :

Règne: *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Scrophulariales*

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce: *europaea*

Sous-espèce: *europaea*

Cette espèce comprend deux sous-espèces :

-l'olivier cultivé ou *Olea sativa* : arbre à rameaux cylindriques, avec de grandes variations dans le feuillage et la taille des fruits suivant les variétés.

-l'olivier sauvage ou *Olea silvestris* (ou *Olea Oleaster* appelé Oléastre), arbrisseau à rameaux quadrangulaires et épineux, à petites feuilles courtes et petits fruits.

(Georges J. Aillaud. 1985)

I-4. Variétés cultivées

La description des principales variétés d'olives cultivées en Algérie sont cités dans le **tableau I.1**

Tableau I.1 : les principales variétés de l'olivier cultivé en Algérie (H.Rebour.2005).

variétés	Variétés de Kabylie	Variétés du constantinois	Variétés d'Oranie :
Description	<p>-Chemlal de Kabylie : C'est l'une des plus estimées pour la fabrication de l'huile. Le fruit est moyen : 2 grammes.</p>	<p>Rougette : Variété à huile répandue est appréciée pour sa rusticité et sa précocité. Déborde jusque dans la Mitidja, où elle est la plus estimée.</p>	<p>Sigoise : est de beaucoup la plus appréciée. Variété à deux fins, qui fournit la/majeure partie de nos olives de conserve pour l'exportation. Elle dérive de la Picholine française. Son aire d'adaptation s'étend sur tout le Maroc.</p>
	<p>Limli : donne un fruit, de 2 grammes, pour la fabrication de l'huile.</p>		
	<p>Azeradj ou Adjeraz : Cette olive pèse environ 5 grammes. Elle est très estimée pour la conserve en vert, mais moins recommandable pour l'huilerie.</p> <p>Aberkane : est une autre olive de conserve qui s'emploie à pleine maturité dans la région de Seddouk, mais peut également procurer des résultats satisfaisants en huilerie.</p>	<p>Blanquette : Tardive, tenant bien sur l'arbre, moins attaquée que les autres par les oiseaux, elle est le complément de la précédente pour l'huilerie</p>	

I-5. Les feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier sont opposées, ovales allongées, portées par un court pétiole, coriaces, entières, enroulées sur les bords, d'un vert foncé luisant sur la face supérieure, et d'un vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure. Le feuillage est persistant, donc toujours vert, mais cela ne veut pas dire que ses feuilles sont immortelles. Elles vivent en moyenne trois ans puis jaunissent et tombent, principalement en été. (Ghedira K, 2008.)

I-5-1. Composition chimique des feuilles d'oliviers et propriétés

La composition chimique des feuilles et brindilles varie en fonction de nombreux facteurs (variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, proportion de bois, âge des plantations, etc.). Généralement, la matière sèche (MS) des feuilles vertes se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90%. La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%, alors que les rameaux ne dépassent guère 5 à 6%. La solubilité de l'azote est faible, elle se situe entre 8 et 14%, selon la proportion de bois. La teneur en matières grasses (MG) est supérieure à celle des fourrages et oscille autour de 5 à 7%, mais celle des constituants pariétaux et en particulier de la lignine est constamment élevée (18 à 20%) (Civantos L, 1983.)

La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes, sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside et en phénols. Elle exerce des activités antioxydantes, hypotensives, spasmolytiques, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques, outre les propriétés diurétiques pour lesquelles elle est utilisée sous forme de spécialité phytothérapeutique (Ghedira K, 2008.)

I-5-2. Intérêts des feuilles d'olivier pour la santé humaine

Depuis l'antiquité, les feuilles d'olivier sont employées en phytothérapie. A l'époque Grecque, les feuilles ont été utilisées pour désinfecter les blessures cutanées. Les anciens leur attribuaient des vertus antiseptiques et la propriété de combattre toutes sortes d'infections. Au XIX^{ème} siècle, on s'en servait pour combattre le paludisme (malaria). Ces usages sont tombés en désuétude pendant un certain temps en raison de l'omniprésence des antibiotiques. Cependant, les professionnels modernes de la santé ont commencé à utiliser l'extrait de feuille d'olivier, en 1995, les premiers résultats furent très positifs. Depuis, il a été démontré que la feuille d'olivier possède de

nombreux avantages thérapeutiques contre de nombreuses maladies et des vertus dans le maintien de la santé globale. La feuille d'olivier et son extrait est l'un d'un certain nombre d'espèces de plantes médicinales qui a été et continue d'être étudié volumineusement. . (Aouidi ,F.2012)

I-5-3.Les voies de valorisation des feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier, biomasse produite en grande quantité dans les pays méditerranéens, ne doivent pas être considérées comme un déchet encombrant, mais comme une richesse qu'on doit utiliser. De nombreux travaux ont été réalisés pour essayer d'utiliser ce sous produit et ainsi améliorer la rentabilité du secteur oléicole.

Historiquement, les feuilles d'olivier étaient totalement orientées vers l'alimentation animale. Toutefois, ils sont aussi utilisés en phytothérapie traditionnelle pour le traitement de certaines maladies tel que la malaria et l'hypertension. Dans cette application, les feuilles d'olivier sont consommées sous forme de tisane. (Aouidi ,F.2012)

Dans le cadre de la phytothérapie moderne, des compléments alimentaires à base de feuilles d'olivier sont apparus sur le marché. Ces produits sont disponibles en forme de feuilles séchées complet ou en poudres, d'extrait, de gélules ou d'ampoules buvables .Les producteurs en vendent leurs vertus pour la santé humaines.

Actuellement, et avec l'évolution de la technologie et l'amélioration des connaissances, les domaines d'utilisation des feuilles d'olivier ont été élargie et diversifié. Les feuilles d'olivier sont utilisées pour l'extraction des composés d'intérêt tel que le mannitol, les stérols, les alcools gras, les composés phénoliques, principalement l'oleuropéine, les flavonoïdes et les composés triterpéniques, les feuilles d'olivier sont utilisées comme ingrédient dans la formulation d'énormément de produits cosmétiques et diététiques, tel que les savons, les crèmes. (Aouidi.F,2012)

Les feuilles d'olivier ont aussi trouvées des applications dans l'industrie alimentaire. Elles sont principalement utilisées pour l'amélioration de la qualité et la conservation des aliments tels que les viandes, l'olive de table, les huiles.

D'autres voies de valorisation des feuilles d'olivier, récemment démontrées, concernent le domaine de la dépollution, de la sidérurgie et de la synthèse biochimique. (Aouidi.F,2012)

Introduction

Du fait de leur importance nutritionnelle, les acides gras insaturés sont des composants importants dans des nombreuses formulations alimentaires. Toutefois, ces acides gras sont sensibles à l'oxydation. La dégradation conduisant au rancissement hydrolytique est la lipolyse enzymatique et l'hydrolyse des lipides. Elles sont caractérisées par une forte augmentation de l'acidité des produits altérés.

Le rancissement oxydatif ou hydrolytique des lipides, limite leur durée de conservation et les rend inaptes à la consommation alimentaire. (**Rahmani.M ,2007**).

On distingue plusieurs types d'altérations : des altérations biologiques, chimiques et thermiques.

II-1. Altérations biologiques

Les huiles végétales sont peu altérées par les micro-organismes ; elles subissent surtout des changements physico-chimiques. Cependant, les germes lipolytiques peuvent parfois participer à des phénomènes d'hydrolyse et d'oxydation pourtant le contrôle microbiologique des huiles est rarement appliqué (**Guiraud, 2003**).

II-2. Altérations thermiques

Les cycles successifs de chauffage et de refroidissement aux quels sont soumis les corps gras lors de leur utilisation en friture provoquent de nombreuses transformations en particulier sur les AG insaturés. Ces transformations résultent de réactions complexes : oxydation, polymérisation, hydrolyse (**Augustin et Berry, 1983 ; Quiles et al., 2002 ; Kalogianni et al., 2009**). Les produits de dégradation des huiles sont généralement des composés volatils et non volatils.

La fraction volatile est essentiellement constituée d'aldéhydes saturés et insaturés, cétones, alcools, AG courts, esters. La quasi-totalité de ces produits est entraînée par le dégagement de la vapeur qui accompagne toute friture. Les produits non volatils de PM élevé (polymers, acides oxydés, monomères cycliques) restent dans l'huile, et donc une partie peut être absorbée par l'aliment (**Allam et El-Sayed, 2004 ; Navas et al., 2007**).

II-3. Altérations chimiques

Elle compose de deux types d'altération : acidification et oxydation

II-3-1. Acidification

L'acidification résulte d'après **Servilli (2008)** de l'hydrolyse d'un, deux ou trois liaisons esters. L'hydrolyse peut être de nature enzymatique (action des lipases) ou chimique et elle conduit à la formation d'acides gras libres et de glycérides partiels. Ce phénomène ne s'observe pratiquement jamais sur les huiles raffinées car les enzymes responsables sont éliminées au cours de raffinage, il peut cependant intervenir sur les huiles brutes et sur les huiles de friture (**Aluyor et Orijieu, 2008**). Les acides gras (AG) libérés sont préjudiciables à la qualité du corps gras, ils s'oxydent plus vite et donnent un goût désagréable.

II-3-2. L'oxydation

L'oxydation des lipides prend lieu quand l'oxygène atmosphérique réagit avec les acides gras insaturés des huiles. Cette réaction se déroule en utilisant un mécanisme radicalaire. Elle constitue, à cet effet, un des facteurs responsables de la détérioration des aliments complexes. L'oxydation des lipides est, de même, considérée comme l'une des réactions majeures correspondant à la dégradation de la qualité de l'huile durant la cuisson et la friture. Il s'agit d'un problème qui touche, principalement, les produits industriels. En effet, l'oxydation des lipides entraîne une diminution de la qualité organoleptique du produit non seulement par la formation d'odeurs rances mais également par la diminution de la qualité nutritionnelle. Cette dernière se manifeste à travers la formation de radicaux libres, d'hydrocarbures, d'aldéhydes, de cétones, d'acides, d'esters, de peroxydes. Ces éléments constituent, pour la plupart, des composés toxiques, voire, cancérigènes, favorisant le développement de certaines maladies telles que l'artériosclérose **Imen Kahouli.2010**

L'oxydation des lipides, ou rancissement oxydatif des acides gras, est classiquement décomposée en trois étapes principales, initiation, propagation et terminaison, généralement décrites comme étant successives.

L'oxydation lipidique peut être, selon le milieu et les initiateurs mis en jeu, le résultat de plusieurs voies réactionnelles :

- L'auto-oxydation, initiée par la température, les ions métalliques, ou les radicaux libres correspondants à des lipides déjà oxydés.
- La photo-oxydation, initiée par la lumière UV en présence de photosensibilisateurs.
- L'oxydation enzymatique, catalysée par la lipoxigénase et la cyclooxygénase.

[Dridi. 2016.]

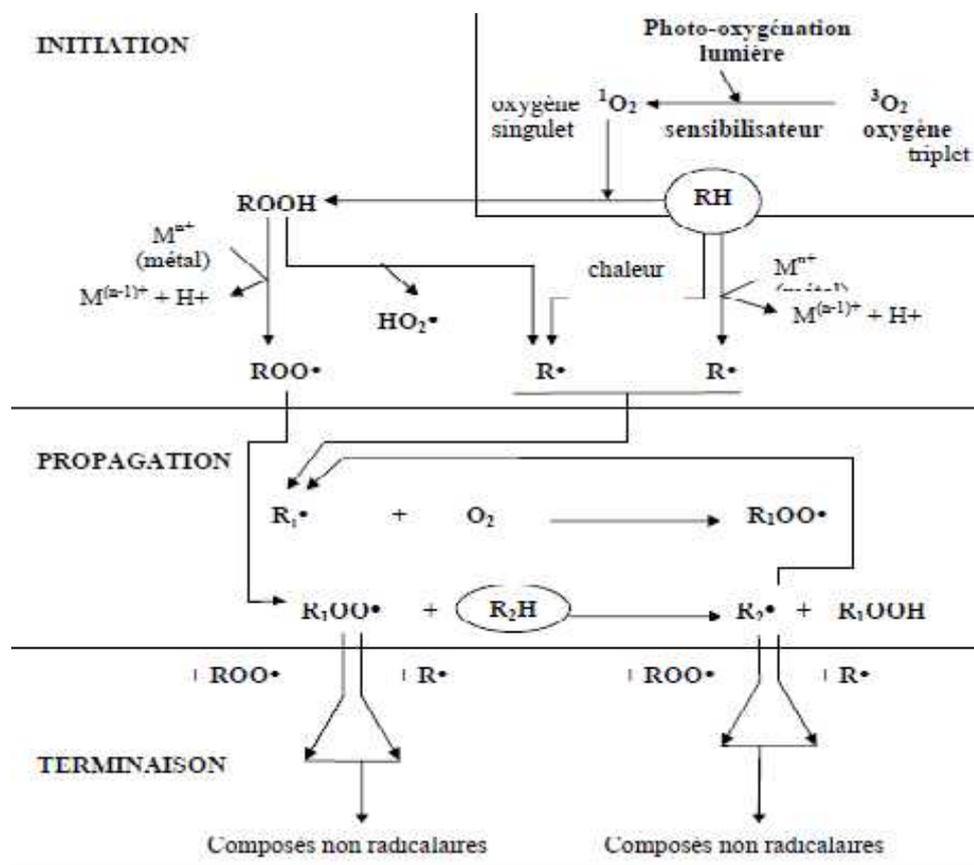
a-L'auto oxydation :

Dans les aliments, l'auto-oxydation est le phénomène le plus important suivi par la photooxydation. L'auto-oxydation est une réaction en chaîne de radicaux libres se déroulant en trois étapes : initiation, propagation et terminaison (figure II-1)

-Initiation : La première étape est la formation de radicaux libres à partir des lipides, ils sont produits par l'arrachement d'un proton de l'insaturation des AG. La réaction peut être déclenchée par l'irradiation, la chaleur et très souvent par réaction avec un radical libre.

-Propagation : c'est une réaction radicalaire en chaîne et rapide. Elle consiste en une profusion de radicaux libres qui progressivement fixent de l'oxygène. La propagation génère des hydroperoxydes (ROOH) (Alais et al., 2003). La réaction en chaîne est courte à haute température et dans les systèmes polyinsaturés tels que les huiles de friture.

- **Réaction d'arrêt:** les radicaux libres s'associent donner des composés non radicalaires. (Almi D .2010)



RH : acide gras libre, **R[•]** : radical libre, **ROO[•]** : radical peroxy, **ROOH** : hydroperoxyde, **RO[•]** : radical alkoxy, **OH[•]** : radical hydroxyl).

Figure II-1 : Mécanisme général des réactions d'oxydation des lipides (Alais et al. 2003).

b-Photo-oxydation

La photo-oxydation est une voie de peroxydation lipidique initiée par des substances photo-sensibilisatrices. La photo-oxydation correspond à la dégradation oxydative des lipides en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs. Dans les aliments, les photosensibilisateurs sont des molécules telles que les hémoprotéines, la riboflavine ou d'autres pigments. En présence d'un photo-sensibilisateur, l'énergie lumineuse convertit l'oxygène triplet ($^3\text{O}_2$) en oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), qui peut réagir directement sur les doubles liaisons insaturées des chaînes grasses. En effet, dans son état fondamental, la molécule d'oxygène sous son état triplet est stable et incapable de réagir avec les acides gras insaturés. Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes. Selon le premier mécanisme, les molécules photosensibles réagissent dans leur état excité avec

l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner un oxygène singulet l'oxygène singulet est très réactif et peut attaquer les acides gras insaturés pour former les hydroperoxydes.

Dans un second mécanisme, la molécule photosensible dans son état excité agit comme les radicaux libres initiateurs et arrache un hydrogène de l'acide gras insaturé pour former un radical libre qui est capable de réagir avec la molécule d'oxygène dans son état fondamental. (Dridi. 2016.)

c-Oxydation enzymatique

L'oxydation des lipides se produit par voie enzymatique principalement par l'action de la lipoxygénase, la cyclooxygénase, la peroxydase et la polyphénol-oxydase. Cette oxydation se produit soit dans les tissus végétaux et animaux soit au niveau de la trituration des graines et des fruits ; soit dans l'huile. (Dridi. 2016.)

C'est une réaction radicalaire en chaîne qui se déroule de façon similaire à l'autooxydation.

Les lipoxygénases (lipoxydases) sont très répandues dans les règnes végétal et animal. En général, ces enzymes exigent des AG libres comme substrat, bien qu'il y ait quelques isoenzymes qui réagissent avec les triglycérides. Ces enzymes sont actives à basse température et peuvent donc limiter la durée de conservation des produits surgelés. Ce type d'oxydation peut être ralenti par les antioxydants phénoliques. (Almi D.2010)

II-3-2-1. Facteurs accélérant l'oxydation

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

- **Teneur en oxygène** : la dégradation des lipides par l'oxygène est la cause majeure de la détérioration des corps gras pendant le stockage.
- **Lumière** : elle active le phénomène de l'oxydation en accélérant la réaction d'initiation.
- **Température** : elle favorise également l'oxydation en augmentant la vitesse de décomposition des peroxydes. Les AG saturés ne se décomposent qu'à une température supérieure à 60°C, tandis que les polyinsaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelés.

- **Traces métalliques** : il est estimé que le fer et le cuivre à des concentrations de moins de 1ppm peuvent causer une réduction notable de la stabilité des corps gras (Sherwin, 1978 ; Alyor et Ori-Jesu, 2008). Ce problème est amplifié par la présence d'AG libres qui agissent en solubilisant les métaux dans les lipides.
- **Teneur en AG libres** : les AG libres sont plus sensibles à l'oxydation que ceux estérifiés.
- **Enzymes** : la présence de lipoxygénases accélère le processus d'oxydation.

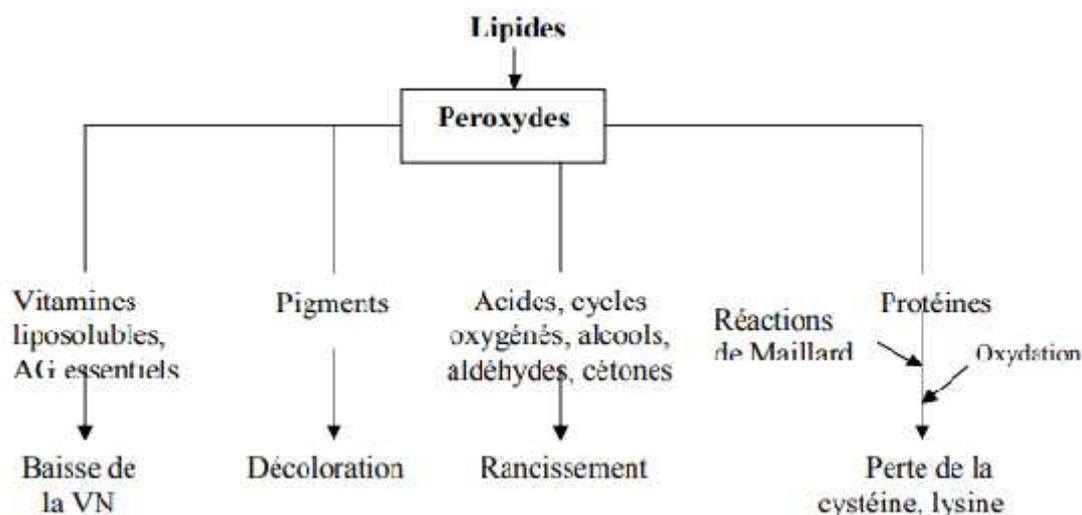
II-3-2-2. Les facteurs retardant l'oxydation

L'oxydation est un processus de détérioration qui ne peut être que retardé. La connaissance des facteurs provoquant l'oxydation permet de développer des stratégies pour retarder ou contrôler l'oxydation des lipides durant leur stockage, leur commercialisation et même après leur vente. Pour limiter les réactions d'oxydation, l'industrie agroalimentaire utilise plusieurs moyens qui sont :

- Conservation des corps gras à basse température et à l'abri de la lumière.
- Exclusion de l'oxygène par conservation des huiles sous vide ou par utilisation des fixateurs d'oxygène (acide ascorbique).
- Destruction des enzymes d'oxydation (polyphénoloxydases) par blanchiment.
- Emploi d'agents de complexation des métaux lourds (acide citrique).
- Neutralisation des radicaux libres par l'emploi d'antioxydants naturels ou synthétiques.

II-3-2-3 Les conséquences des réactions d'altération des corps gras

L'oxydation des lipides alimentaires entraîne des altérations qualitatives (rancissement), nutritionnelles (perte des vitamines liposolubles, acides gras essentiels (AGE) voir même toxicité due aux produits issus de la peroxydation des lipides (figure II-2). Les composés carbonyles peuvent réagir avec les protéines ou plus généralement favoriser le brunissement non enzymatique.



AG : Acides gras, VN : valeur nutritionnelle

Figure II-2: Conséquences de la peroxydation des lipides (Frenot et Vierling, 1997).

II-4. Les antioxydants

II-4-1. Définition : Le mot « antioxydant » est utilisé, en général, pour n'importe quel agent chimique qui inhibe l'attaque par l'oxygène ou l'ozone.

Halliwelli (1995) a donné une définition large du terme antioxydant : « toute substance qui, présente à faible quantité comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient d'une manière significative l'oxydation de ce substrat ».

Appliqués aux huiles végétales, les antioxydants sont des composés qui interrompent le processus d'oxydation en réagissant préférentiellement avec les radicaux libres pour former d'autres radicaux plus stables. (Almi D, 2010)

II-4-2. Mécanisme d'action

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. (Bouras F et Houchi A ;2013)

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de

peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur. (Hellal , 2011).

II-4-3.Utilisation des antioxydants

→ Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.

→ Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.

→ Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture.(**K. Bouhadjra (2011)**)

II-4-4.Classification des antioxydants

Les antioxygènes sont classés dans trois catégories différentes :

→ Les antioxydants synthétiques.

→ Les substances synergiques.

→ Les antioxydants d'origine végétale.(**K. Bouhadjra (2011)**)

II-4-4-1.Antioxydants de synthèses

Les antioxydants de synthèse sont introduits dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés et parfois aussi dans des phases aqueuses où se trouvent des extraits végétaux riches en oxydases. Leur concentration d'utilisation est généralement dix fois plus faible que celle des conservateurs et se situe entre 0,02 et 0,05 %. Ce sont :

- le butylhydroxytoluène (BHT)
- le butylhydroxyanisole (BHA)
- les gallates de propyle, octyle et de dodécyle.(**K. Bouhadjra (2011)**)

II-4-4-2.Substances synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants. Ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection, parmi eux se trouvent : Les acides lactique, tartrique et ortho phosphorique et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants. .(**K. Bouhadjra (2011)**)

II-4-4-3. Antioxygènes d'origine végétale

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols. . (K. Bouhadjra (2011))

a-Tocophérols (vitamine E)

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, qui sont nécessaires à l'organisme et que l'homme ne peut synthétiser en quantité suffisante .Elle doivent donc être fournies par l'alimentation. Parmi elles, on distingue la vitamine E qui est une vitamine liposoluble de formule brute $C_{29}H_{50}O_2$ et de masse molaire 430g.

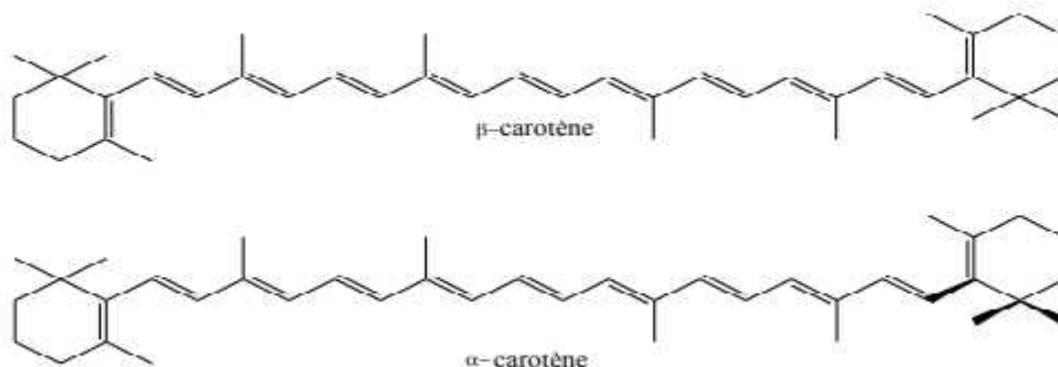
Vitamine E est le terme générique utilisé pour désigner les différents tocophérols qui se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (*Chekroun N.2013*)

Leur Principales sources : les huiles végétales (tournesol, pépin de raisin, maïs, ...), les légumes et fruits frais (amande, noisette, fenouil, mûre, avocat, épinard, ...), les aliments d'origine animale (crevette grise cuite...)(*Chekroun N.2013*)

b-Les caroténoïdes (figureII-3)

Sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Leur fonction essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante

Comme ils le font pour les plantes, ils ont des effets bénéfiques sur notre santé. Ce sont d'excellents piègeurs d'espèces radicalaires particulièrement vis-à-vis de la lipoperoxydation des phospholipides membranaires grâce à leurs structures.



FigureII-3: Deux exemples des structures des caroténoïdes.

(Boubekri .C 2014)

Les caroténoïdes sont des substances polyéniques caractérisées par un système de doubles liaisons conjuguées. Le nombre de doubles liaisons conjuguées varie de 7 à 15. (Boubekri .C 2014)

II-5.Les polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées .**Waksmundzka et al., 2011.**, allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins **Dai, J. et al .** Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume). **Visioli, F.,et al ., 2000.**

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (FigII-4), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. (Boubekri .C 2014)

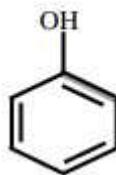


Figure II-4: Structure du noyau phénol. **Sarni Manchado .P et al.,2006**

II-5-1.Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes

II-5-1-1.Polyphénols simples

a-Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique.(**Boubekri .C 2014**)

Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides. (**Achat .S 2013.**)

Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais.

(**Skorget M et al.,2005**)

Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés, et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-

acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique. (Skerget M et al., 2005)

Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Figure II-5) .(Ghedira K. (2005).

Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes. Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...). (Crozier A. 2004)

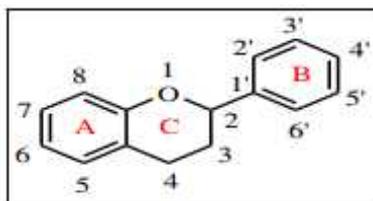


Figure II-5: Squelette de base des flavonoïdes. (Crozier A. 2004)

b-Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphénylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphénylethanol) (Figure II-6) sont les principales molécules de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique. (Long H S et al., 2010.)

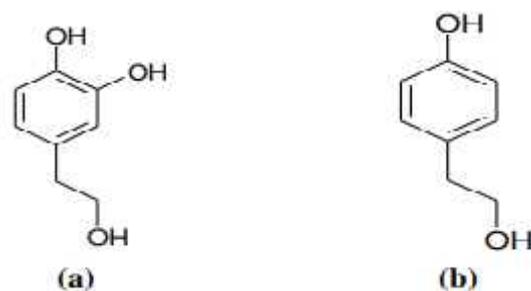


Figure II-6 : Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b)

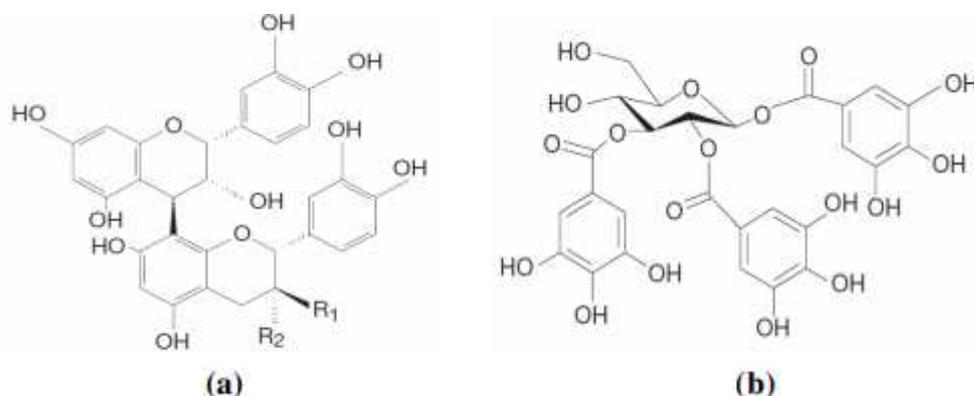
(Long H S et *al.*, 2010.)

II-5-1-2. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles. Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Boubekri.C.2014) .

a - Tanins hydrolysables : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (FigureII-7) .Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) .(Ribereau-Gayon P.1968).

b- Tannins condensés : les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (Figure II-7) (Bruyne T et al.,1999).



FigureII-7: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1, 2,3-tri-O-galloyl- -D-glucose).**Derbel S., GhediraK. 2005**

Le **tableau II-1** qui s'inspire du **Macheix et al.**, Regroupent les principales classes des composés phénoliques. :

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simple	Catéchol	
C6-C3	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïques	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamique	Acide caféique, acide férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C6-C2-C6	Silènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes		
	• Flavonols	Kamphérol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	• Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	• Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	• Flavanones	Naringénine	Citrus
	• Isoflavonols	Daidzéine	Soja
(C6-C3) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) _n	Lignines		Bois, noyau de fruits
(C15) _n	Tanins		Raisin rouge, kaki

Tableau II-1. Les principales classes des composés phénoliques.(**Macheix et al.**,)

II-5-2.Biosynthèse des composés phénoliques

Les CP sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques qui sont d'après **Bravo et al. (1994)** et **Visioli et al. (2000)**.

*Celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples ;

*celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques.

III. Matériels et méthodes

III-1. Matériel

II-1-1. Matière première

Des feuilles d'olive de la variété « *Chemlal* » et « *Oléastre* » ont été recueillies en Mars 2018, ces feuilles proviennent dans les régions de la commune de Lakhdaria et Sour el Ghouzlène (Willaya de Bouira). Ces feuilles sont triées, séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après séchage, les feuilles sont broyées en poudre. La poudre de feuilles est conservée dans un flacon teinté à température ambiante.



(1)



(2)

Figure III.1 : Photographie des feuilles d'olivier (1) Chemlal et (2) oléastre

III-1-2. Huile végétale

L'huile utilisée est une huile raffinée commerciale «Elio». Elle est élaborée à partir d'un mélange d'huiles 100% végétales (à base de soja avec un pourcentage d'huile de tournesol)

II-.2. Méthodes d'analyse

III-2-1. Caractérisation physico-chimique des poudres de feuilles d'olivier obtenues

La préparation de la matière première aux différentes analyses est effectuée selon l'organigramme suivant (Figure III-2).

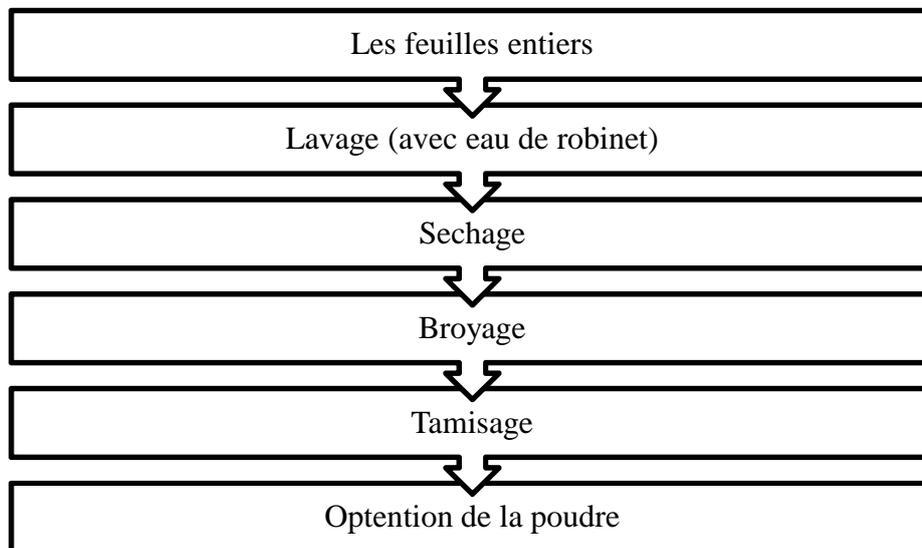


Figure III-2: Préparation préliminaire de la poudre des feuilles d’olivier aux différentes analyses physicochimiques.

Les poudres obtenues des feuilles d’olivier étudiées de deux variétés (Chemlal) et (Oléastre) sont illustrées dans la Figure III-3



Figure III-3 photographie des poudres de feuilles obtenus après broyage (1) PFOO et (2) PFOC

III-2-1-1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est un paramètre déterminant dans la conservation des denrées alimentaires, suivant la méthode déterminé par la norme (AFNOR., 1982)

Elle est déterminée sur un échantillon d'1g broyé et étalé dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve réglée à une température de $105 \pm 2^\circ\text{C}$, jusqu'à obtention d'un poids constant.

Mode opératoire

Dans des capsules vides séchées à l'étuve durant 15 mn à $105 \pm 2^\circ\text{C}$, on pèse dans chacune 1 g de feuille d'olivier préalablement broyé et on les place dans l'étuve réglée à $105 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 heures ; jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$\text{H}\% = 100 \times (\text{M}_1 - \text{M}_2) / \text{P}$$

Soit : **H%** : Humidité ; **M₁** : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage (g)

M₂ : Masse de la capsule + matière fraîche après séchage (g) ; **P** : Masse de la prise d'essai (g).

III-2-1-2.Détermination du pH

Le pH est mesuré en suivant la méthode décrite par la norme (NF V 05-108, 1970)

Mode opératoire

3g de poudre mélangé avec 75mL d'eau distillé, le tout est mis au chauffage dans un bain-Marie à 60°C avec une agitation (30min).La valeur de pH de la solution obtenue après filtration est lue directement sur le pH mètre, en prenant soins que l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

III-2-1-3.Détermination de l'acidité titrable

La méthode appliquée est adaptée aux feuilles d'olivier à partir de la procédure décrite dans la norme (NF V 05-101, 1974)

Un échantillon de 1g de la poudre des feuilles d'olivier est placé dans une fiole conique avec 10mL d'eau chaude (bouillie et refroidie).La fiole est adaptée à un réfrigérant à reflux afin de chauffer le contenu au bain-marie pendant 30 min .Après refroidissement , le contenu de la fiole conique est transféré à une fiole jaugée de 250mL et complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie .Mélanger bien, puis filtré.

50 ml de filtrat versé dans un bécher, sont titrés avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N, en présence de 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine, jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'acidité titrable, exprimée en milléquivalents de NaOH par 100 g de produit, est déterminée selon la formule suivante :

$$A = (25.V_1.100)/(M.10.V_0)$$

Ou : **M** : est la masse en (g) de poudre prélevée ; **V₀** : est le volume en ml de la prise d'essai (50ml) ; **V₁** : est le volume en ml de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1N utilisé.

III-2-1-4.Détermination de la teneur en cendre (NF V 05-113, 1972)

La méthode utilisée est celle décrite par (El Arem et al., 2011 ; Garcia et al., 2008).

Mode opératoire

1g de poudre de feuille d'olivier est mise dans une capsule en porcelaine puis incinérés dans un four à moufle réglé à $550 \pm 5^\circ\text{C}$ durant 8h jusqu'à obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre. La capsule est ensuite retirée du four et refroidie dans un dessiccateur puis pesée.

Le taux de cendre est exprimé en pourcentage de la matière sèche.

La teneur en matière organique est exprimée par la formule suivante :

$$\text{MO}\% = 100 \times (M_1 - M_2) / P$$

MO% : Matière organique ; **M₁** : Masse de capsule + prise d'essai(g) ; **M₂** : Masse des capsules + cendre (g) ; **P** : prise d'essai(g)

La teneur en cendre (Cd) est calculée comme suit :

$$\text{Cd} = 100 - \text{MO}\%$$

III-2-1-5.Détermination de la teneur en matière grasse

La quantité de lipides est obtenue par extraction au Soxhlet, selon la méthode NF EN ISO 734-1 (2000) décrite par AFNOR, (1982). Le principe de la méthode est basé sur l'extraction des lipides des feuilles d'oliviers par l'Hexane au moyen de l'appareil de Soxhlet.

Mode opératoire

Un ballon de 100 ml est séché à 105°C pendant une heure, refroidi au dessiccateur pendant 30 min puis, pesé à une précision de 0,001g.

5 g de poudre des feuilles d'olivier sont introduites dans la cartouche du Soxhlet et placés à l'intérieur de l'extracteur. 100ml d'hexane sont versés dans le ballon et 50 ml dans la cartouche. Le ballon est ensuite chauffé pendant 5 heures (20 siphonages par heure) jusqu'à l'épuisement de la matière grasse. Le solvant est éliminé du ballon par distillation tandis que le résidu du ballon est séché dans une étuve à $70 - 80^\circ\text{C}$. Après refroidissement au

dessiccateur pendant 30 min, le ballon contenant les lipides est pesé à 0,001 g près. L'opération est répétée jusqu'à obtention d'un poids constant.

La teneur en matière grasse est exprimée par la formule suivante :

$$M \% = \frac{(P_2 - P_1)}{P_3} \times 100$$

P_1 : Poids du ballon vide (g) ; P_2 : Poids du ballon avec l'huile extraite (g) ; P_3 : Poids de la prise d'essai (g).

III-2-1-6. Extraction et dosage des protéines

L'estimation de la quantité des protéines des poudres des feuilles d'oliviers est réalisée selon la méthode de Bradford (**Bradford, 1976**).

La méthode de Bradford est une méthode de mesure de concentration protéique basée sur une réaction colorimétrique entre les protéines et un colorant, le bleu de Coomassie G250. Ce réactif, rouge-brun à l'état libre, prend une teinte bleue quand il est lié aux protéines et par conséquent possède un coefficient d'extinction molaire élevé dans le visible (à 595 nm) qui permet un dosage protéique sensible (**Bradford, 1976**).

III-2-1-6-1. Extraction des protéines

Un gramme de l'échantillon est immergé dans 20 ml d'eau distillée avec l'agitation à 4°C durant 5 h. Les suspensions sont centrifugées à 10000 G pendant 40 minutes et les surnageants sont récupérés (**Rezanejad, 2007**). L'extrait protéique obtenu est conservé à + 4°C jusqu'à l'analyse.

III-2-1-6-2. Dosage des protéines

Un volume de 10 µl de chaque extrait protéique est ajouté à 50 µl d'eau distillée et 2 ml de réactif de bleu de Coomassie. (Voire annexe B)

Après stabilisation de la couleur pendant 5 min, la densité optique de la solution est déterminée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (JASCO V-530).

Les différentes concentrations en protéines sont déterminées par référence à une gamme étalon à base de BSA, (voire annexe B)

III-3. Etude de l'activité antioxydante des poudres des feuilles d'olivier**III-3-1. Dosage des polyphénols**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu avec quelques modifications (Hayes *et al.*, 2011). Le diagramme de la **Figure III-4** représente les principales étapes de préparation de l'extrait hydro alcoolique.

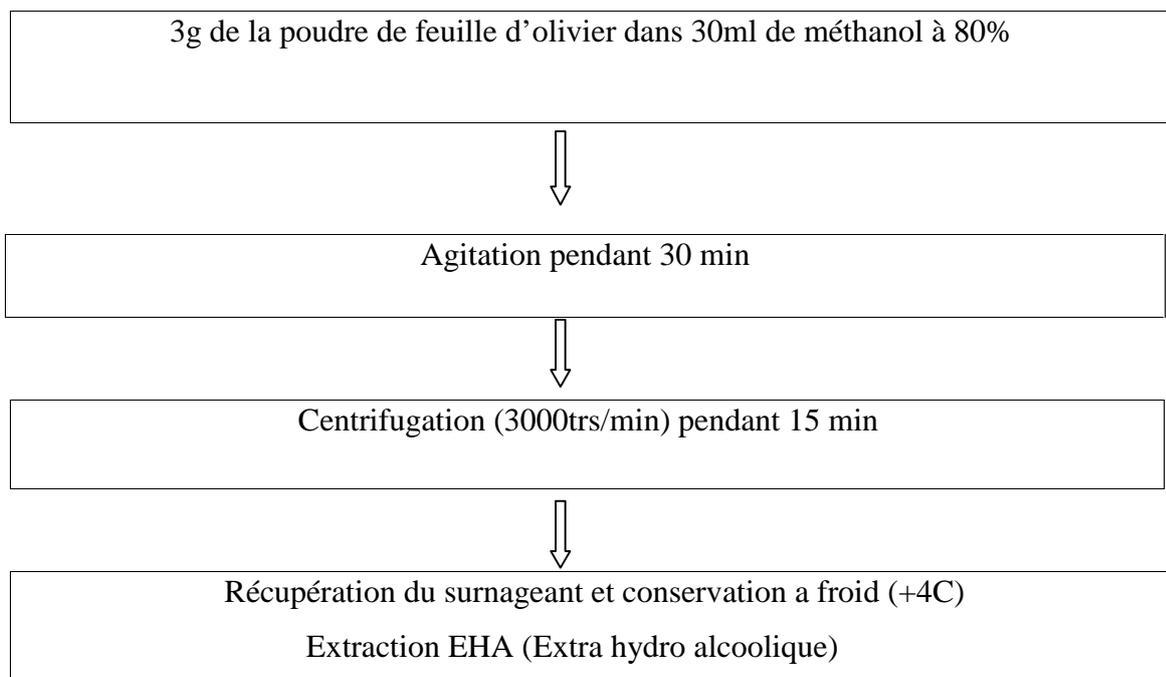


Figure III-4: Etapes de préparation de l'extrait hydro alcoolique.

Pour le dosage des polyphénols totaux, 0,5 ml de chaque extrait est mélangé à 5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de Folin –Ciocalteu. Après 3 min de repos, 0,5 ml de carbonate de sodium (10 %) a été ajoutée. Le mélange est ensuite homogénéisé et incubé à la température ambiante pendant 1H et à l'abri de la lumière. Au bout de ce temps, l'absorbance a été déterminée par la lecture à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible

La détermination de la concentration en polyphénols totaux est effectuée en se basant sur une courbe d'étalonnage préparée (Voire annexe B) dans les mêmes conditions, à partir d'une série de dilutions d'acide gallique la concentration finale en ces composées a été exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme de matière.

III-3-2. Dosage des flavonoïdes (FL)

L'estimation quantitative des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par **Zhishenn et al** et décrite par (**Ki Won et al., 1996**), basée sur la complexation des flavonoïdes par l'aluminium en utilisant le trichlorure d'aluminium.

Le chlorure d'Aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes comme le montre la figure (III-5). (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

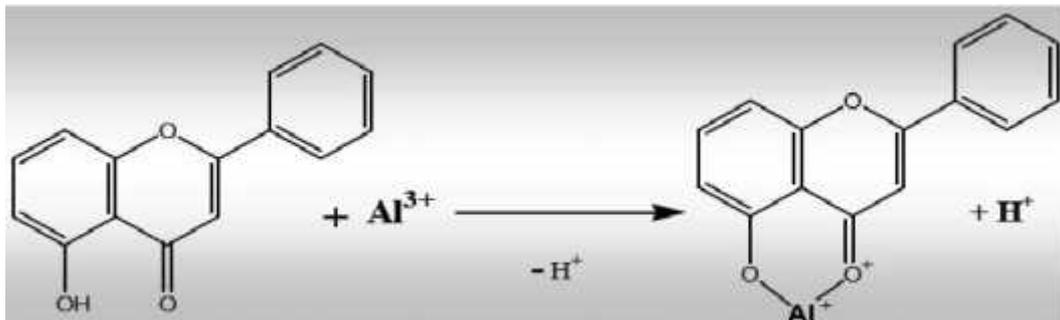
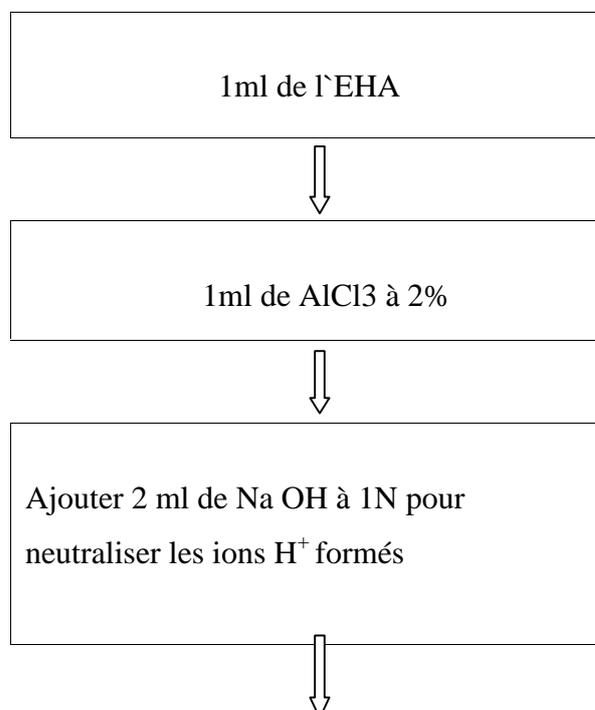


Figure III-5: Mécanisme de réaction de chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.
(**Ribéreau_ 1968**)

Le protocole suivie est résumé dans la figure III-6



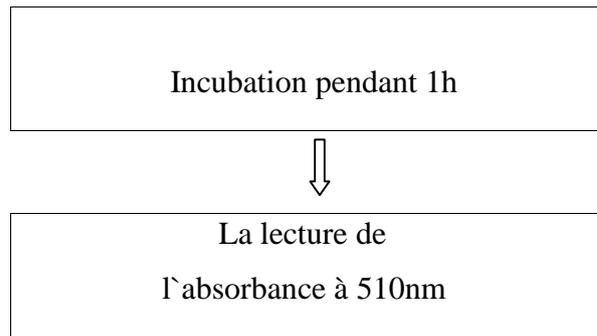


Figure III-6: les étapes de dosage des flavonoïdes

La quantité de flavonoïdes contenue dans notre extrait est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercitrine (1mg/ml) .(voire annexe B)

III-3-3.Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur, évalué selon la procédure décrite par **Oyaizu (1986)**, indique l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des différents antioxydants.

La présence des composés antioxydants (réducteurs) dans les extraits phénoliques provoque la réduction des ions ferriques (Fe^{+3}) du complexe de ferricyanure, en ions ferreux (Fe^{+2}). Cette réduction aboutit au changement de la couleur de la solution, du jaune au vert, couleur finale caractérisée par une absorbance maximale à 700 nm.

Les étapes de détermination du pouvoir réducteur sont données dans le diagramme de la

Figure III-7

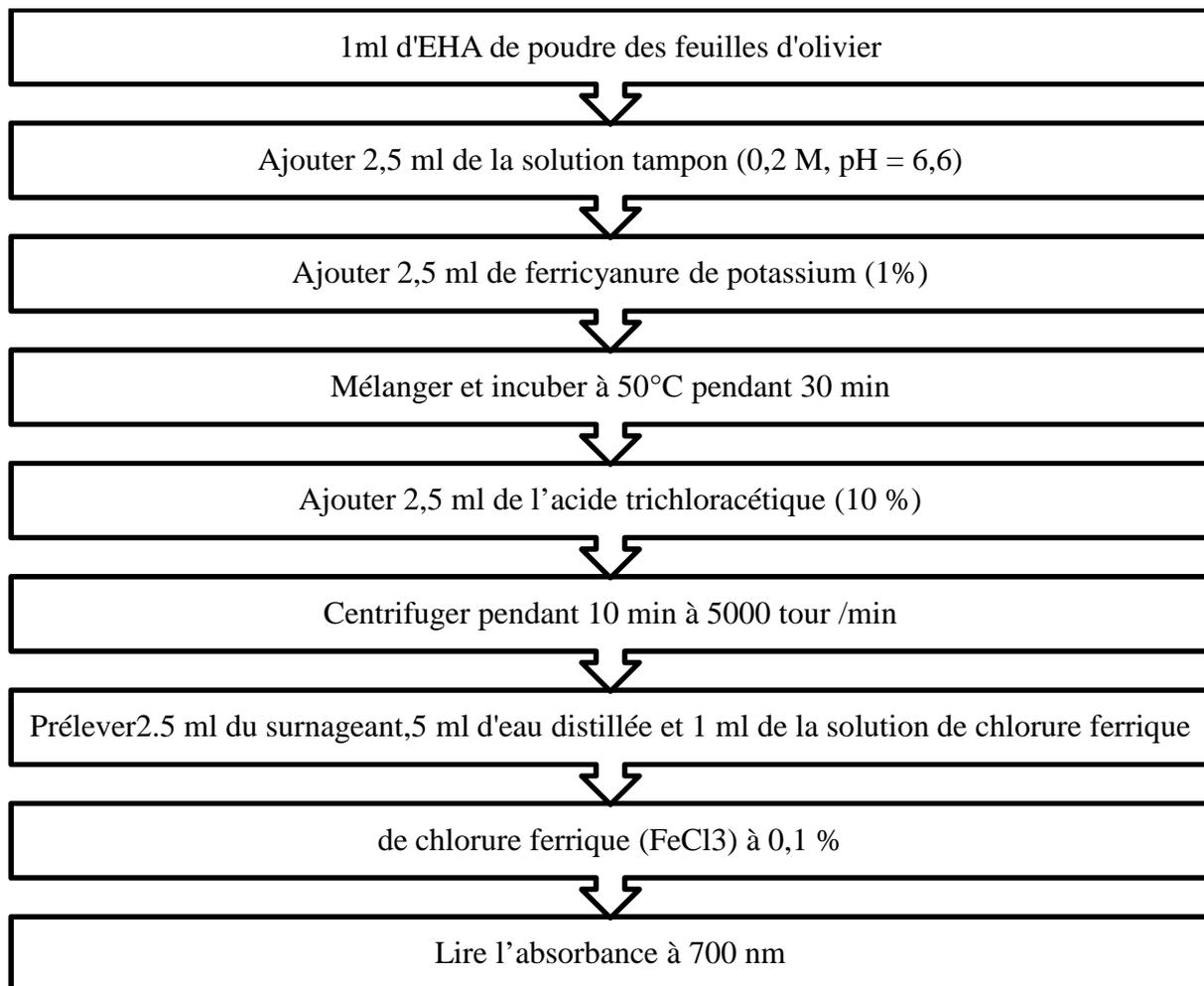


Figure III-7 : Les étapes de détermination du pouvoir réducteur.

Le pouvoir réducteur est exprimé en μg équivalent de vitamine C par g de feuilles d'olives.

III-3-4. Le pouvoir anti-radicalaire

Le pouvoir anti-radicalaire ou l'effet « scavenger » sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode qui est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composés phénoliques (**Prakash, 2001**).

La molécule DPPH• est un radical stable grâce à la délocalisation de son électron célibataire autour de la molécule empêchant ainsi sa polymérisation, ce qui est le cas de la plupart des radicaux. La délocalisation de l'électron est responsable d'un développement d'une couleur violet foncée.

La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un proton réduisant ainsi le radical DPPH• Suite à cette réaction, la couleur violette se dissipe laissant apparaître une couleur jaune pâle du groupe picryl. Le suivi de la délocalisation est réalisé par

spectrophotométrie à 517 nm (Gülcin *et al.*, 2003 ; Molyneux, 2004 ; Roginsky et Lissi, 2005).

Mode opératoire

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de feuilles d'olivier via le test DPPH est effectuée selon le diagramme suivant :

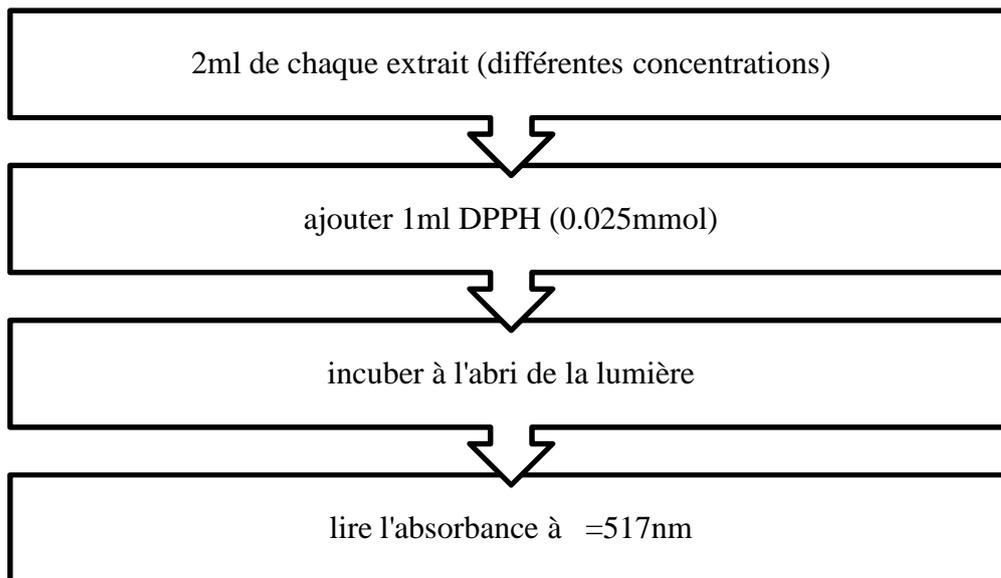


Figure III-8 : Etapes de test DPPH

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti radicalaire (PAR) où l'inhibition des radicaux libres (en %) est évaluée en utilisant la formule suivante:

$$\text{AAR (\%)} = [(\text{ADPPH} - \text{AS})/\text{ADPPH}] \times 100$$

Où:

ADPPH : absorbance de la solution de DPPH (déterminé contre le méthanol);

AS : absorbance de la solution avec ajout de l'extrait (déterminé contre méthanol).

III-4. Analyse des huiles

L'acidité, l'indice de peroxydes, l'indice de réfraction, l'indice d'iode sont utilisés pour estimer l'effet antioxydant de l'huile de table et pour les huiles où on a ajouté des extraits phénoliques on mesure seulement l'indice de peroxyde pour chaque concentration

III-4-1. Détermination de l'indice d'acide

L'hydrolyse des corps gras, qu'elle soit d'origine chimique ou enzymatique entraîne la formation d'acides gras libres, dont la mesure permet d'évaluer l'état de son altération par hydrolyse. (NF EN ISO 660, 1999)

Mode opératoire

- Peser dans une fiole conique de 100 à 150 ml 3 à 5 g de l'huile;
- Faire dans une autre fiole, un mélange de 30 ml d'alcool éthylique-éther diéthylique dans les proportions 2 :1(20ml alcool éthylique et 10ml éther diéthylique) ;
- Ajouter 1 à 2 gouttes de phénolphtaléine et titrer ce mélange par la solution de soude décimale jusqu'à coloration rose pâle persistant une dizaine de secondes ;
- Transvaser ce mélange dans la fiole contenant la prise d'essai et dissoudre l'huile en agitant énergiquement. Si l'huile se dissout mal chauffer légèrement ;
- Ajouter dans cette solution 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine et titrer par la solution de soude.

Expression des résultats

L'indice d'acide en mg de KOH est calculé selon la formule suivante :

$$IA = (V \times 5,61) / P$$

Soit :

V : le volume de soude employé (ml) ; P : Poids de la prise d'essai (g).

5,61 : Le nombre de mg de potasse équivalent à 1 ml de soude à 0,1 N.

L'acidité en (%) est calculée en équivalent acide oléique

$$A\% = 0.5 * IA$$

III-4-2. L'indice de peroxyde (NF T 60-220, 1995)**Principe**

L'huile est oxydée par l'oxygène de l'atmosphère, cette altération est caractérisée par le changement des propriétés physico-chimiques.

L'altération chimique des corps gras insaturés par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde. Ce phénomène a lieu au cours du stockage, cette réaction étant une réaction

autocatalytique, elle commence très lentement, puis après une période d'induction où l'oxydation est pratiquement indécélable, s'accélère de façon exponentielle.

La détermination de la quantité des peroxydes d'un corps gras renseigne sur son altération par oxydation.

Mode opératoire

- Peser 1 à 3 g de huile (en fonction de l'indice de peroxyde présumé) dans une fiole conique de 250 ml;
- Ajouter 10 ml d'alcool éthylique et dissoudre le corps gras (s'il se dissout mal, chauffer légèrement);
- Ajouter 20 ml d'acide acétique glacial et 1 ml de solution d'iodure de potassium saturée.
- Boucher aussitôt la fiole; agiter énergiquement pendant 1 mn et laisser à l'abri de la lumière pendant 5 mn;
- Rincer le bouchon avec de petites quantités d'eau distillée;
- Titrer la solution par le thiosulfate de sodium à 0,01 N jusqu'à apparition d'une coloration jaune pâle;
- Ajouter 1ml de solution d'amidon (la coloration devient bleue) et continuer le titrage jusqu'à décoloration totale.
- Un essai à blanc est préparé dans les mêmes conditions sans le corps gras.

Expression des résultats

L'indice de peroxyde (*IP*) exprimé en méq/Kg, est donné par la formule suivante:

$$IP \text{ (méq g d'O}_2 \text{ /Kg de CG)} = (V_0 - V_1 / P) \times 10$$

Soit :

V_0 : le volume de thiosulfate employé pour l'échantillon (ml). V_1 : le volume de thiosulfate employé pour l'essai à blanc (ml). P : le poids de la prise d'essai (g).

III4-3.Détermination de l'indice d'iode

Il est Basé sur la dissolution d'une prise d'essai dans un solvant avec addition de réactifs de Hanus. Après un temps donné de réaction, addition d'une solution d'iodure de potassium et d'eau, et titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium. (T 60-203)

Mode opératoire

- Introduire 0.2 g de l'huile près dans un ballon à font plat ;
- Puis ajouter 10 ml d'éthanol par suivi d'une agitation ;

- On additionne au ballon 10 ml d'iode 0.2N dans l'éthanol, et on agite afin de bien dissoudre ;
- Ajoute ensuite 30ml d'eau distillée puis on ferme le ballon par son bouchon et agite pendant 5 mn ;
- Ouvre le bouchon et rince les parois avec l'eau distillée ;
- Titrer le contenu de ballon par thiosulfate de sodium (0,1N) jusqu'à l'apparition d'une coloration jaune ;
- On a versé 1ml de la solution d'empois d'amidon pour donner la couleur bleu violet foncé ;
- On continue le titrage jusqu'à la disparition de cette coloration ;

Expression des résultats

L'indice d'iode exprimé en g I₂/100 g d'huile est comme suit :

$$I = \frac{(V_0 - V_I) \times 1,2}{P}$$

Où : V_0 : volume du thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc (ml) ; V_I : volume du thiosulfate de sodium pour l'essai avec l'huile (ml) ; P : poids de la prise d'essai en gramme (g).

III-4-4. Indice de réfraction

L'indice de réfraction, comme la densité, est caractéristique du groupe auquel appartient le corps gras, il est lié au degré d'insaturation des acides gras constituant le corps gras, et influencé par de nombreux autres facteurs : acidité libre, oxydation, polymérisation, existence de fonction secondaire sur les molécules... etc. (NA 278, 1990)

Mode opératoire

- Chauffer le corps gras sur un bain de sable, filtrer à chaud sur un filtre sec ;
- Laver les prismes du refractomètre par l'éther de pétrole, les essuyer avec un chiffon propre ;
- Lier le refractomètre au bain thermostaté, brancher la circulation d'eau sur le thermostat à la température T choisie pour la mesure et attendre 20mn ;
- Etalonner l'appareil à l'aide d'eau distillée ($n_D^{20} = 1,3330$) et de benzène ($n_D^{20} = 1,5014$) ;
- Verser alors entre les prismes 2 à 3 gouttes du corps gras filtré et séché ;
- Attendre 2 à 3 mn pour que l'échantillon prenne la température de l'appareil ;

-Déplacer alors la lunette de visée pour que la ligne de séparation de la plage claire et de la plage sombre se situe à la croisée des fils du réticule ;

-Lire l'indice de réfraction du corps gras à la température T.

Expression des résultats

L'indice de réfraction est une fonction linéaire de la température dans un domaine étroit (10°C environ). La variation de l'indice de réfraction des triglycérides est en moyenne de 0,00035 par degré au voisinage de 20°C.

L'indice de réfraction à T est donc lié à l'indice de réfraction à T' par la formule suivante :

$$n_{20} = n_T + (20 - T) \cdot 0,00035$$

Où : n_{20} : l'indice de réfraction à 20 °C ; n_T : l'indice de réfraction à T ; 0,00035 : la variation d'indice de réfraction quand la température varie de 1°C.

III-5.Suivie de l'oxydation des huiles par le coefficient d'extinctions spécifiques

Le coefficient d'extinctions spécifiques est utilisé pour estimer l'effet antioxydant des poudres des feuilles d'oliviers ajoutés à l'huile de friture .On a choisis la pomme de terre comme aliment de friture.

Les concentrations de poudres utilisées sont 50, 100 et 150g/l pour chaque variété des feuilles.

Le choix de ses concentration est obtenu a partir d'un test préliminaire dont le but de garantir les caractéristiques organoleptique de l'huile.

III-5-1.Détermination des coefficients d'extinctions spécifiques : NFISO3656

➤ principe

C'est une norme française Homologuée ISO3656 :(1991): qui remplace la norme homologuée NFT60-223 :(1978).

Tous les corps gras naturels contenant ou moins une faible quantité de l'acide linoléique, L'oxydation d'un corps gras conduit à la formation d'hydroperoxydes linoléiques, diène conjugués qui absorbe au voisinage de 232nm.

Si l'oxydation poursuit, ils forment des produits secondaires de l'oxydation en particulier des cétones et des cétones insaturés qui absorbent vers 270nm. L'extinction à 232nm et 270nm d'un corps gras peut donc considéré comme image de son état d'oxydation :

-Plus l'extinction à 232nm est forte, plus l'huile est peroxydée ;

-Plus l'extinction à 270nm est forte, plus l'huile est riche en produits secondaires.

Cette méthode est couramment réalisée avec l'hexane, cyclohexane ou avec des alcools tels que l'éthanol, le méthanol ou l'isopropanol.

➤ Mode opératoire

Dissoudre 100mg d'huile dans 10ml de cyclohexane, puis on va diluer cette solution et lire l'absorbance à 232 et 270nm (WOLFF, 1968).

$$E\% = A / C \cdot L$$

Soit :

E : extinction spécifique à la longueur d'onde .

: absorbance mesurée à la longueur d'onde .

C : concentration de la solution en grammes par 100ml.

L : épaisseur de la cuve en cm.

IV.1.Caractérisation physico-chimique des poudres de feuille d'olivier obtenue

Les résultats des analyses physico-chimique des poudres des feuilles d'olivier est donnée dans le Tableau IV.1 :

Tableau IV.1. Les résultats des analyses physicochimiques des poudres de feuilles d'oliviers

Paramètres	PFOC	PFOO
Teneur en eau g/100g	4,33±0,47	4,66±0,94
Taux de cendre%	5,33±0,94	5,6±0,37
pH	5,74±0.03	4,81±0,05
Acidité titrable meq de NaOH/100g	2,2±0,02	2,6±0,01
Teneur en matière grasse%	5,4±0,99	5,56±0,17
Protéines %	4,66±0.01	5,42±0,006

PFOC : la poudre des feuilles d'olivier Chemlal / **PFOO** : la poudre des feuilles d'olivier oléastre .

IV.1.1.La teneur en eau

Généralement, afin de garantir une meilleure conservation des poudres alimentaires, il est préconisé d'avoir une faible teneur en eau. Les résultats trouvés, pour les deux poudres de feuilles d'olivier sont 4,33±0,47 et 4,66±0,94 g/100g ces résultats sont légèrement inférieurs à celle trouvé par **Boudhrioua et al.,(2009)** ont données des teneurs comprises entre 5 et 5,6 g/100g pour toutes les variétés. Et les valeurs de la teneur en matière sèche trouvées par **Nefzaoui A.(1991)** se situées autour 50 et 58 % pour les feuilles vertes et celle des feuilles sèches autour de 90%.

IV.1.2.Taux des cendres

Les poudres analysées révèlent des taux de cendres importants oscillant entre $5,33 \pm 0,94$ et $5,6 \pm 0,37\%$. Donc, elles constituent des sources intéressantes en éléments minéraux. Notre résultat est proche a celle trouvé par **Boudhrioua et al., (2009)** qui ont évoqué des teneurs variant entre 6 et 9g/100g pour toutes les variétés.

IV.1.3.pH et acidité

Les poudres analysées présentent des pH, pratiquement identiques, légèrement acides (4,86) ces valeur sont inferieur a celle trouvés par **Iguergaziz N (2012)** qui a trouvé des valeurs autour de 5.5 pour les deux variétés.

Pour les deux poudres analysées L'acidité est presque identique entre $2,2 \pm 0,02$ et $2,6 \pm 0,01$ meq de NaOH par 100g de la matière sèche.

Ces teneurs sont presque identiques aux valeurs trouvés par **Iguergaziz N (2012)**.

IV.1.4. Matière grasse

La teneur en matière grasse des PFOC et PFOO oscille entre $5,4 \pm 0,99$ et $5,56 \pm 0,17\%$ Il est évident que les olives constituent une source intéressante en matière grasse.ces résultats sont situées dans l'intervalle trouvé par **Erbay et Icier, (2009)** qui sont trouvés des valeurs 6.25 % de la matière sèche des feuilles.

En général, pour toutes les variétés les teneurs en lipides s'étendent entre 1 et 1,3 % de la matière fraîche de la feuille selon **Boudhrioua et al., (2009)** .

IV.1.5.Teneur en protéines

Les teneurs en protéines solubles des poudres de feuilles analysées sont comprises entre $4,6 \pm 0,001$ et $5,5 \pm 0,006\%$, la PFOO étant celle qui présente la valeur la plus élevée. Les valeurs trouvées dans les échantillons analysé sont inferieur à celle trouvées par **Martin-Garcia et al., 2003** qui ont trouvé 7 % ,et conforme à celle rapportées par **Boudhrioua et al.,2008** qui ont trouvés des résultats entre 5 et 7.6%

Conclusion

La différence dans la composition chimique entre les deux variétés de feuilles est faible.

La composition physicochimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations...

IV.2.Etude de l'activité antioxydante des poudres des feuilles d'olivier:

Les feuilles d'olivier, en plus de leurs abondance, renferment des quantités appréciables en composés bioactifs (sécoiridoïdes, flavonoïdes, acides

phénoliques...etc.). Elles sont utilisées comme additifs dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Lee et al., 2009).

Les résultats de l'activité antioxydante sont résumés dans le tableau IV.2.

Tableau IV.2 Les résultats de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier des deux variétés étudié

Paramètres	PFOC	PFOO
Polyphénols eqmg dAG /100g	17,2±0.03	15,21±0,053
Flavonoïdes (mg EQ/100g MS).	54±0,301	50±0,013
Pouvoir réducteur mg/100(VC)	19±0,011	16±0,002

IV.2.1.concentration des polyphénols

Le dosage des extraits obtenus à partir des poudres des feuilles nous a permis de déterminer leur concentration en utilisant la courbe d'étalonnage d'acide gallique

Annexe B

Les PPT dans La PFOO est légèrement inférieure à celle trouvée pour PFOC qui varie respectivement entre 17,2±0,03et 15,21±0,05 eqmg d'AG /100g de matière sèche. Ces résultats sont supérieurs à celles apportées par Boudhrioua et al., (2009) qui varie de 1,4 à 2,4 et inférieur a celle de DELeonardis et al., (2008) qui est de 0,6g. Toutefois, la concentration trouvée reste dans la gamme rapportée par Silva et al., (2006) qui se situe entre 11,7 et 40,1mg.

La différence entre les valeurs trouvées et celles apportées par la bibliographie peut être expliquée par la nature du matériel de départ et la méthode d'extraction adoptée.

En fait, la variabilité de la teneur en PPT est largement dépendante de plusieurs facteurs : des conditions climatiques, géographiques (Mylonaki et al., 2008), de l'état physiologique et l'âge de la plante. (DE Leonardis et al., 2008)

De plus, le rendement d'extraction dépend de la polarité du solvant utilisé, qui détermine la quantité, la qualité des composés phénoliques extraits et de la classe des phénols dans le matériel végétal (Sineiro et al., 2008).

Plusieurs études ont rapportées que les hauts rendements sont habituellement obtenus avec l'éthanol et le méthanol et leurs mélanges avec l'eau. D'après, **Savarese et al. (2007)**, **Falleh et al. (2008)** et **Chew et al. (2009)**, le méthanol est le solvant de choix pour l'extraction des PPT à partir des fruits, végétaux et huiles. Grâce à sa polarité et sa capacité à réduire l'activité des polyphénols-oxydases, ce solvant a prouvé son efficacité d'extraire les PPT simples (**Ryan et al., 2001**)

IV.2.2. Concentration des flavonoïdes :

Le dosage des extraits obtenus à partir des poudres des feuilles nous a permis de déterminer leur concentration en utilisant la courbe d'étalonnage .(Annexe **B**)

La teneur en flavonoïdes dans les extraits de feuilles est exprimée en mg équivalents en quercitrines par 100 grammes d'extraits de la matière sèche (mg EQ/100g MS).

Au vue des résultats nous notons que la teneur en flavonoïdes totaux varie d'une variété à l'autre. La PFOC a la plus forte teneur ($54 \pm 0,301$), suivi de la PFOC d'une teneur ($50 \pm 0,013$). Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Lee et al. (2009)**.

Les PPT et les flavonoïdes des feuilles d'olivier, connues pour leurs activités biologiques diverses, sont responsable des actions pharmacologiques (**Lee et al., 2009**). Selon **Boudhrioua et al., (2009)** le séchage et la durée du stockage des feuilles d'oliviers favorise l'augmentation des composés bioactifs (polyphénols totaux, flavonoïdes, acide ascorbique...).

IV.2.3. Pouvoir réducteur

L'analyse du pouvoir réducteur consiste en la mesure de l'augmentation de l'absorbance des ions ferrique (Fe^{+3}) formés par l'oxydation des ions ferreux (Fe^{+2}). Le pouvoir réducteur est exprimé à l'aide de la courbe d'étalonnage de VC donnée dans l'Annexe **B**

Comme le montre le Tableau III.2 la différence entre les pouvoirs réducteurs des deux poudres de feuilles d'olivier est significative, la PFOC présente la valeur la plus élevée 19mg/100 (acide ascorbique) Aussi, il est aisé de constater que cet indice est proportionnel à la quantité de polyphénols et flavonoïdes présente.

IV.2.3.4. Le pouvoir anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire a été étudiée par le test au DPPH° où la réduction de coloration du radical a été suivie à 517 nm. La simplicité et l'efficacité de cette méthode

du DPPH° en ont font plus largement répondu pour l'évaluation de la capacité du piégeage des radicaux libres (Peiyuan *et al.*, 2011).

La capacité de réduction de DPPH· est estimée par la diminution de l'absorbance induite par les antioxydants présents dans les extraits phénoliques.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits.(Figures IV.1 ET IV.2)

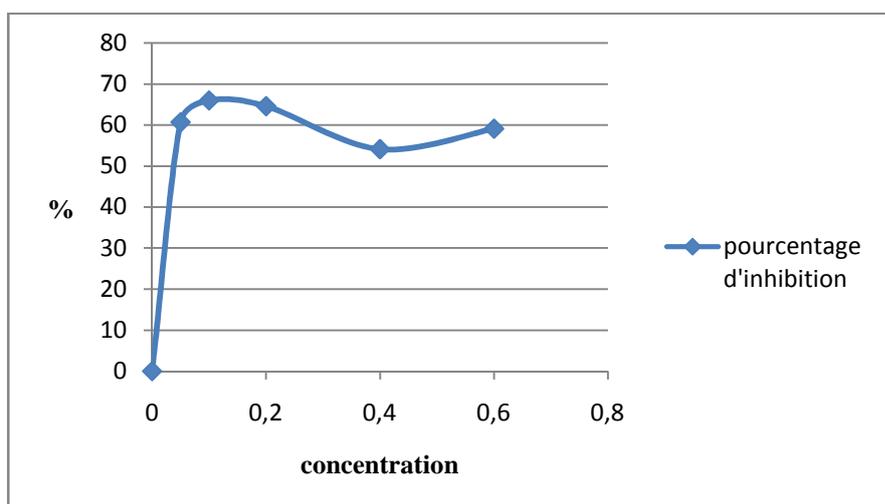


Figure IV.1 Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de la PFOC

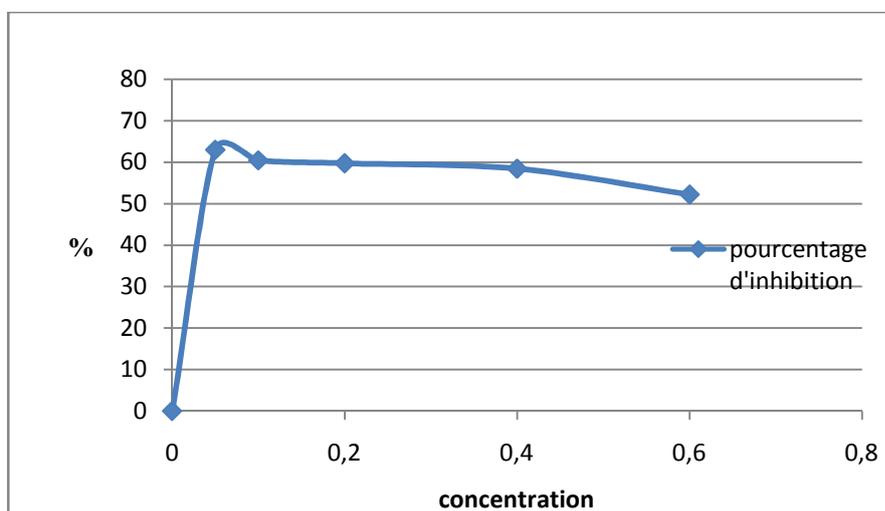


Figure IV.2 Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de la PFOO

L'extrait de la PFOC a montré l'activité la plus élevée avec de faibles concentrations par rapport à l'autre extrait. Pour 0.1mg/ml, l'extrait de la PFOC à atteint

un pourcentage d'inhibition de 65.93%. À cette même concentration, l'extrait de la PFOO produit un pourcentage d'inhibition de 60.42%,

Ensuite, nous avons déterminé les CI₅₀ des extraits à partir des équations des régressions linéaires des graphes représentés dans les figures. CI₅₀ est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Les valeurs inférieures de CI₅₀ indiquent l'efficacité de l'extrait et ainsi un pouvoir antioxydant plus fort.

Tableau IV.3. Valeurs des CI₅₀ des extraits de feuilles l'olivier :

Extrait	CI ₅₀
PFOC	0.015mg/ml
PFOO	0.025mg/ml

D'après les valeurs obtenues, l'extrait de la PFOC présente une CI₅₀ inférieure à ceux de l'extrait de la PFOO, et donc la feuille de l'olivier Chemlal possède la meilleure activité que la feuille sauvage.

Bensallah et al., (2012), ont étudié l'activité antioxydante des feuilles d'une variété de l'olivier cultivé de la région Chemlal en Tunisie. Les auteurs ont obtenu une CI₅₀ de 9.90 µg/ml. Ce résultat est proche de celui que nous avons obtenu.(15 µg/ml).

D'après les résultats même l'olivier sauvage pourrait être une nouvelle source des antioxydants naturels.

Les conclusions de **Lee (2009)** sur la particularité de l'effet antioxydant des composés contenus dans les extraits de feuilles d'olivier, concordent avec ceux de **Benavente-Garcia et al., (2000)**, qui montrent la richesse des feuilles d'olivier en composés phénoliques à effet synergique élevé, comme les oleurosides (oleuropéine et verbascoside), les flavones (lutéoline, diosmétine, apigénin-7-glucose, lutéolin-7-glucose, and diosmétin-7-glucose), les flavonols (rutine), flavan-3-ols (catéchine), et les substitués des phénols (tyrosol, hydroxytyrosol, vanilline, acide vanillique, et acide caféique).

IV.3. Analyses de l'huile

IV.3.1. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile

L'huile commercialisée est soumise à un examen physico-chimique avant l'enrichissement et la friture et afin de vérifier leur qualité et leur capacité antioxydante en comparaison à la norme officielle **Codex Alimentarius (1983)**

Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau IV.4

Tableau IV.4: Caractéristiques physico-chimiques de l'huile alimentaire

Indice physicochimique	Résultat de l'huile	Norme codex Alimentarius (1983)
Indice d'acidité%	2,24	2,2-7,26
Indice de peroxyde (méq g d'O ₂ /Kg de CG)	5,5	5,2-7
Indice d'iode g I ₂ /100 g	63,6 g	92-102
Indice de réfraction	1,49	1,463 – 1,478

IV.1.1.1. l'indice d'acide

La valeur d'indice d'acide trouvée de l'huile est proche de même que leur acidité libre. Elles sont en conformité avec les normes du **Codex Alimentarius** dont la valeur maximale pour une huile végétale raffinée est de 0,6 mg de KOH/ g d'huile pour l'acidité libre et 7,26 pour l'indice d'acidité.

Plusieurs auteurs ont procédé à la détermination de l'acidité libre comme paramètre très important pour l'évaluation de la qualité de leurs huiles alimentaires raffinées. et les résultats obtenus sont résumés dans le tableau IV.5

Tableau IV.5 : Résultats des travaux antérieurs pour le paramètre acidité libre.

Références bibliographiques	(Benachenhou, 2013)	(Zidane, 2010)	(Chekroune, 2013)
Acidité libre (%)	Soja + tournesol (Elio) : 0,320 Soja (0,280 Tournesol	Tournesol (Elio) : 0,56 Tournesol (Afia) : 0,62	Soja + ma s (Afia) : 0,37 Ma s (Labelle) : 0,46

IV.2.2.L'indice de peroxyde

A la température ambiante, l'indice de peroxyde obtenu pour l'huile Elio (Tableau III.4) est conforme aux normes du codex Alimentarius qui fixe la valeur inférieure à 10 méq de peroxydes/kg d'huile. Cela veut dire que cette huile est moins oxydée.

D'autres travaux ont été réalisés pour le contrôle de la qualité des huiles végétales de et les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 13.

Tableau IV.6 : Résultats des travaux antérieurs pour le paramètre indice de peroxyde

Références bibliographiques	(M'baye, 2012)	(Chekroune, 2013)	(Benachenhou, 2013)
Indice de peroxyde (milli équivalent d'O ₂ /Kg d'huile)	Huile végétale Maroc : 12,7	Soja + maïs (Afia) : 9.61	Soja + tournesol (Elio) : 19.2
	Huile végétale Indonésie : 11.4		Soja (Oléor Algérie) : 1.84
	Huile végétale Hong Kong : 12	Maïs (Labelle) : 2.93	Tournesol (Laboratoire Zazia) : 25.6
	Huile végétale Mauritanie : 12.2		

IV.3.3.L'indice d'iode

L'indice d'iode nous renseigne sur le degré d'insaturation des acides gras contenus dans une huile donnée. Il est en rapport direct avec le degré d'oxydation d'une huile, plus une huile est insaturée plus son indice d'iode est plus élevé (Wolff, 1968).

La valeur d'indice d'iode montre que l'échantillon de l'huile analysé est de faibles insaturations donc le degré d'oxydation est faible. Le résultat obtenue est inferieur a ce qui établie par la norme de C.A.

IV.3.4.L'indice de réfraction

L'indice de réfraction représente un critère de pureté. Est un paramètre qui détermine le degré d'insaturation des acides gras entrant dans la composition des matières grasses. Il dépend de la composition chimique des huiles et de la température (**Karleskind, 1992**).

Les résultats obtenus par **Barka A(2016)** sont 1,476 pour l'huile de soja et 1,476 pour une huile de tournesol

D'après les résultats (tableau IV.4), l'indices de réfraction de notre échantillon est égal à 1,49, cette valeur est très proche de celle énoncée par la norme du **Codex Alimentarius (1983)** donc , nous pouvons dire que les indices de réfraction changent sensiblement d'une huile a l'autre et ces changements sont dus aux nature des huiles ,durés de stockage et la température...

III.4. Suivre de l'oxydation des huiles par le coefficient des extinctions spécifiques

L'extinction spécifique à 232 nm et à 270 nm d'une huile reflète son état d'oxydation, plus les valeurs de ces deux extinctions sont fortes, plus l'huile est peroxydée, et plus elle est riche en produits d'oxydation secondaires en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière vers 270 nm. (**Benrachou .N, 2012**). En effet, la présence des produits d'oxydation dans les huiles, traduit sa faible aptitude à la conservation. (**Wolff, 1968**)

Toutes les huiles contiennent des acides gras insaturés en quantité plus ou moins importante. L'oxydation des acides gras conduit à la formation des hydroperoxydes (les produits de l'oxydation primaire) qui absorbent la lumière au voisinage de 232nm (K232), alors les changements de l'absorption spécifique à 232nm (K232) sont utiles pour évaluer la formation de produits d'oxydation primaire.

Egalement, nous avons recherché l'effet des poudres de feuilles d'olivier sur la stabilité oxydative des huiles de friture.

Les résultats de l'analyse de coefficient de l'extinction spécifique UV sont représentés dans les figures suivant :

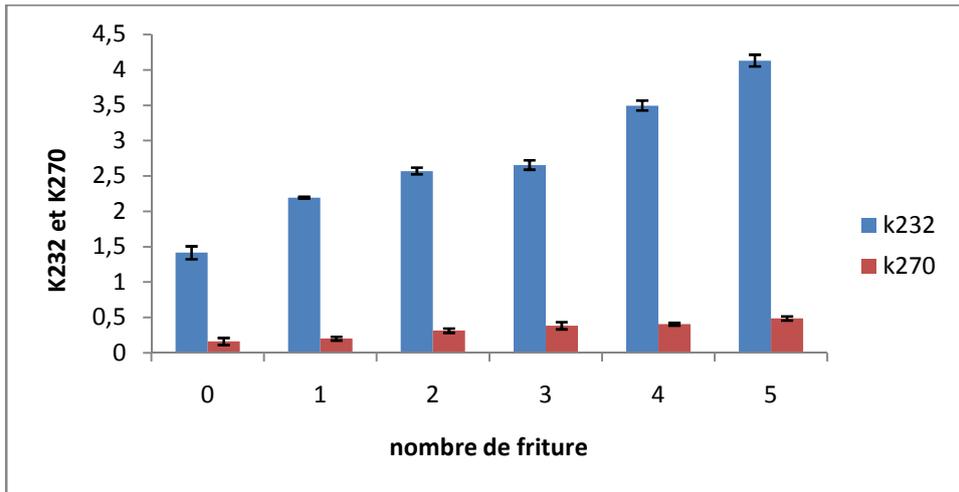


Figure IV.3. Huile de soja témoin

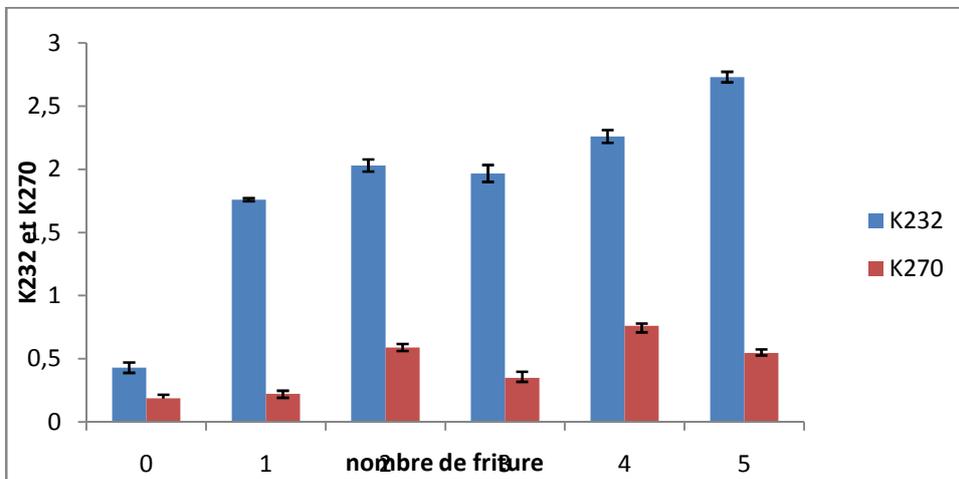


Figure IV.4. Huile enrichie par 50g/l de la poudre oléastre

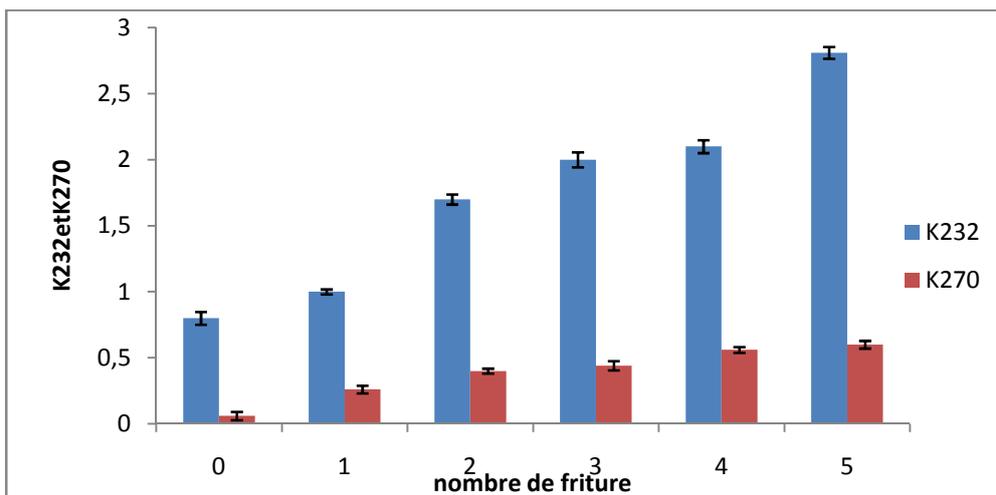


Figure IV.5. Huile enrichie par 100g/l de la poudre oléastre

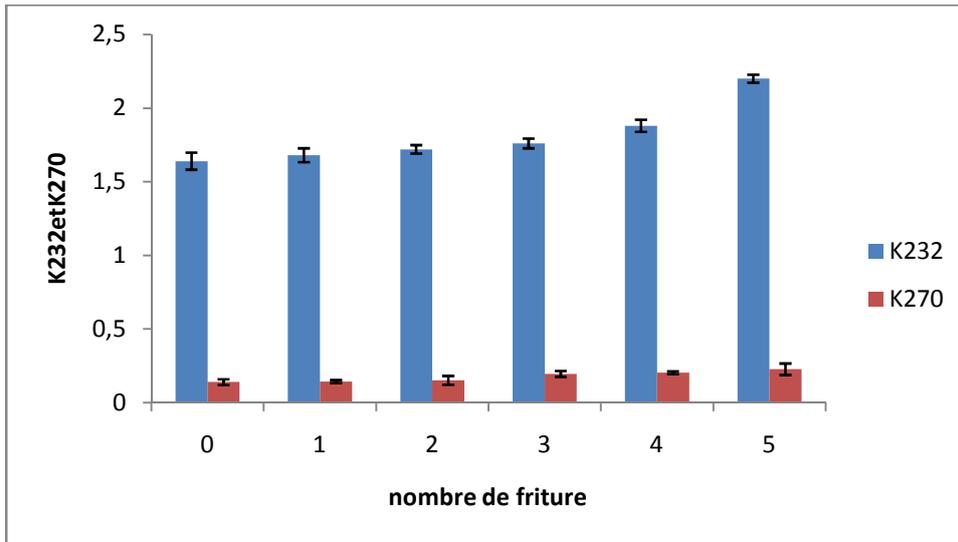


Figure IV.6. Huile enrichie par 150g/l de la poudre oléastre

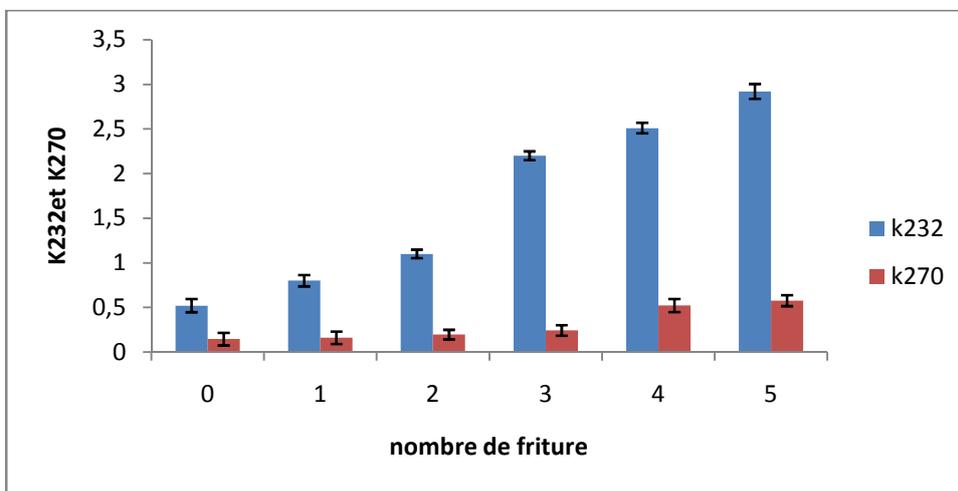


Figure IV.7. Huile enrichie par 50g/l de la poudre Chemlal

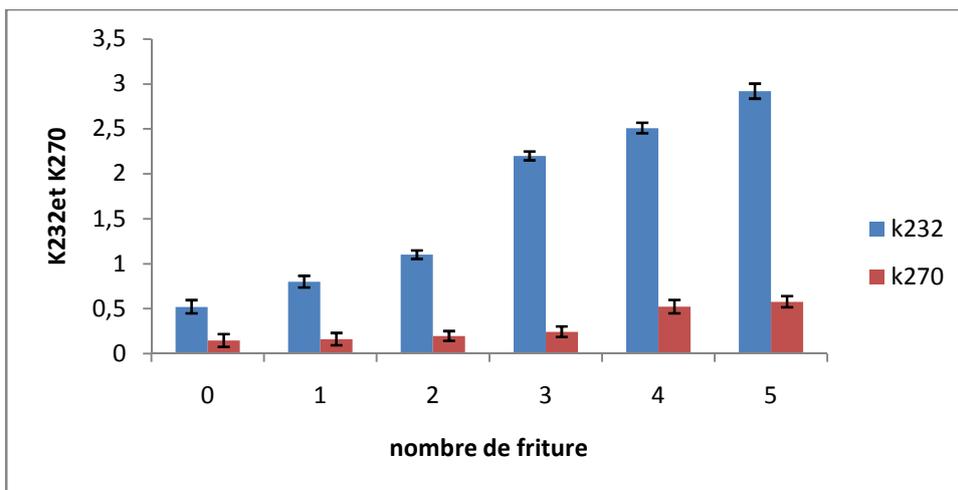


Figure IV.8. Huile enrichie par 100g/l de la poudre Chemlal

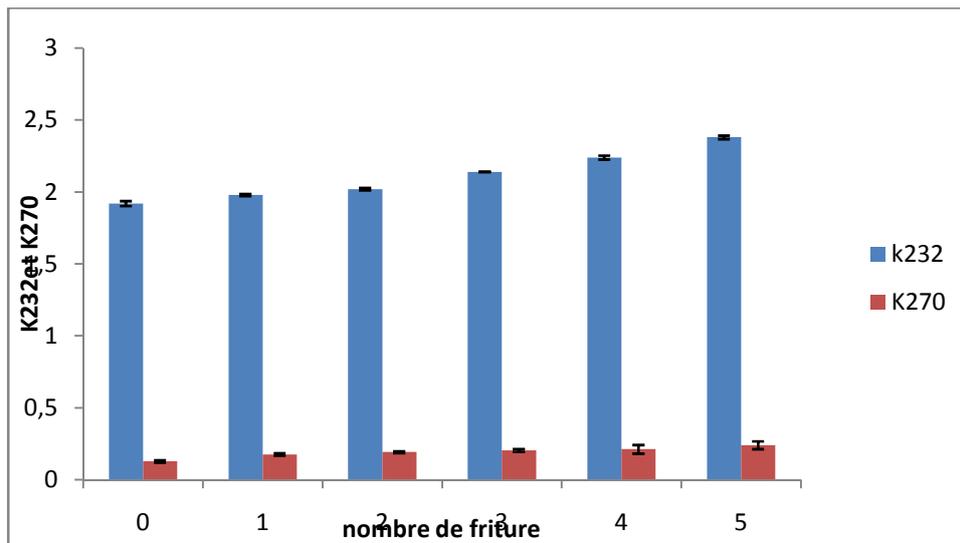


Figure IV.9.Huile enrichie par 150g/l de la poudre Chemlal

IV.4.1.Evolution de l'extinction spécifique de l'huile végétale non enrichie (huile témoin)

Les résultats obtenus après friture montre que l'huile végétale non enrichie par la poudre présente des valeurs autorisées de coefficient spécifiques K232 et K270 par la norme du Conseil Oléicole International (COI ; 2015) dans la première et la deuxième friture mais a partir de la troisième friture cette huile dépasse la limite établie par le COI Elle dépasse 2,5 pour K 232et 0 ,25 pour K270

IV.4.2.Evaluation de l'extinction spécifique de l'huile végétale enrichie par la poudre des feuilles d'olivier sauvage (oléastre)

L'analyse de coefficient de l'extinction à 270 nm à chaque stade de friture a montré qu'il y a aucune différence significative entre l'huile témoin et huile additionné par 50g/l et 100g/l car cette dernière dépasse la norme à partir de la deuxième friture.

Et une différence significative entre l'huile non enrichie et l'huile enrichie par 150g/l de la poudre des feuilles sauvage. Cette huile reste consommable jusqu'à la cinquième friture

À K232 il y a une différence significative entre l'huile témoin et l'huile enrichie avec la poudre des feuilles sauvage par 50 et 100g/l ces dernières restent conforme à la norme (COI) jusqu'à la quatrième friture et l'huile enrichie par 150g devienne non consommable a partir de la cinquième friture.

III.4.3. Evaluation de l'extinction spécifique de l'huile végétale enrichie par la poudre des feuilles d'olivier cultivé (Chemlal) :

Les échantillons analysés ont enregistré une augmentation de K270 à partir de la quatrième friture pour les concentrations 50 et 100g/l cette augmentation dépasse la limite établie par COI. Ce qui indique la présence des peroxydes à partir de la cinquième friture.

Pour K232 les résultats montrent une augmentation à partir de la quatrième friture pour les huiles enrichie par 50 et 100g/l.

Et pour l'huile enrichie par 150g/l de la poudre des feuilles les valeurs de K232 et de K270 ne dépassent pas la limite établie par COI donc cette huile reste consommable est possède un forte activité antioxydante.

D'après les résultats obtenus on conclue que :

La poudre des feuilles d'olivier de la variété Chemlal possède une activité antioxydante plus forte que cella de la variété Oléastre.

Conclusion

La présente étude a pour but d'évaluer la stabilité oxydative d'une huile au cours de la friture en incorporant des antioxydants naturels : PFOC et PFOO

Les analyses effectuées pour les feuilles d'olivier de la variété Chamlal ainsi que la variété Oléastre montrent qu'elles ont un effet protecteur contre l'oxydation car elles constituent une source appréciable en composés bioactifs (polyphénols : 15.21% et 17.2%, flavonoïdes : 50 % et 54%).

Concernant les analyses physico-chimiques de l'huile de soja utilisée pour la friture, les résultats obtenus sont conformes à la norme C.A. (IA=2.24% ;IP=5.5 ;IO=63.6 ;IR=1.49)

L'évolution de coefficient d'extinction spécifique réalisées sur les différents échantillons a permis de mettre en évidence les points d'oxydation et de comparer la stabilité de l'huile de soja témoin et celle additionnée avec les différents antioxydants.

L'étude de la stabilité de l'huile de friture non enrichie a permis de révéler un point d'oxydation au niveau de la deuxième friture, par contre l'huile enrichie avec la PFOO avec une concentration de 150g résiste jusqu'à la quatrième friture, et celle de la concentration 50 et 100g/l deviennent peroxydées à partir de la troisième friture, et riche en produit secondaire à partir de la cinquième friture. Et l'huile enrichie par la PFOC reste résistante jusqu'à la cinquième friture, ce qui montre que la formation des peroxydes se fait à partir de la cinquième friture. Cette huile devient riche en produit secondaire à partir de la quatrième friture pour les concentrations 50 et 100 g/l, mais celle enrichie par 150g/l reste conforme à la norme établie par COI.

Ce qui confirme que la meilleure stabilité oxydative de notre huile de friture est celle enrichie par la poudre des feuilles cultivées de la variété Chamlal (PFOC) ce qui est due à sa richesse en antioxydants naturels.

En raison de l'intérêt de l'ajout des poudres de feuilles d'olivier dans une huile de friture, il serait intéressant et judicieux de compléter ce travail par d'autres études :



Conclusion

- tester l'effet antioxydant de ces extraits phénoliques sous différentes conditions : exposition à la lumière, un long stockage, et d'autres températures même à froid ;
- Trouver une méthode d'extraction adéquate (à froid) sans solvant ;
- Etude de l'influence des temps les plus longs de friture ;
- Comparer les résultats de la stabilité oxydative en utilisant d'autres tests (l'indice de peroxyde, l'acidité libre, l'activité antiradicalaires....) ;
- proposer des méthodes d'extraction et de préservation des extraits phénoliques, pour utiliser les extraits seulement et pas la poudre directe ;
- mesure la stabilité oxydative en utilisant la méthode Rancimat .



A

-AFNOR (NF), 1982. Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR,

- **Almi Dalila ;2010.** Etude du pouvoir antioxydant des composés et extraits polyphénoliques issus des olives et sous produits de l'olivier (feuilles et margines) variété chamlal sur l'oxydation thermique simulant la friture de deux huiles à large consommation : l'huile d'olive et l'huile de tournesol. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou .

-**Amiot M.J., Fleuriet A. & Macheix J.J. (1986).** Importance and evaluation of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **34**, 823-826.

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

B

- **Benachenhou C. M., 2013.** Détermination de la capacité antioxydante des huiles végétales : Elio Cévitel Mémoire de Master en Chimie Option : Chimie Physique et Analytique Académique, Faculté des Sciences Département de Chimie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

-**Benrachou N, 2012 – 2013,** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien, These de Doctorat ,Université Badji Mokhtar Annaba .

-**Ben Salah Myriam, Abdelmelek Hafedh 1 and Abderraba Manef.** Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves from different Varieties Grown in Tunisia. *Medicinal chemistry*, 2012; 2-5.

-**Bondia-Ponsi., Aura A.M., Vuorela S., Kolehmainen M., Mykkanen H. & Poutanen K. (2009).** Rye phenolics in nutrition and health. *Journal of Cereal Science*, 1-14.

- **Boudhioua1 , I. Ben Slimen, N. Bahloul et N. Kechaou.,** Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger (2008) 111 – 116 111 Etude du séchage par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne Partie 2: Influence du séchage et du blanchiment sur les composés phénoliques totaux .

-**Boudhrioua,N., Bahloul,N., Ben Slimen,I., Kechaou,N.2009.** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves .*Industrial crops and products*,vol. 2 9,pp. 412–419.-

Références bibliographiques

- **Boubekri Chrifa** ; Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques.2014

- **Bouras Fatima et Houchi Abdelbasset** ; étude de l'activité antioxydante de la plante *Rumex Vesicarius L* ; Université Kasdi Marbah OUARGLA ;2013.

C

- **Chekroune, 2013**. Détermination de la capacité antioxydante des huiles végétales : Huile Afia Mémoire du master en Chimie Option : Chimie Physique et Analytique Académique Faculté des Sciences Département de Chimie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

- **Chew Y.L., GOH J.K. & LIM Y.Y. (2009)**. Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, **116**, 13-18.

- **Civantos L**, Valorisation des sous-produits de l'olivier, *Réunion du comité technique* (FAO) 1983, 143-145.)]

- **Codex alimentarius, 1993**. Annexe V, avant-projet de norme pour les huiles végétales portant un nom scientifique.Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité en chimie* n° 270: 108-115

- **COI. 2015**; la norme de Conseil Oléicole International .

- **Cronquist, A., (1981)**. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press.

- **Crozier A. Jaganath I.B. and Clifford M.N. (2004)**. dietary phenolics, chemistry, medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*, 544: 203-215.

D

-**DE Leonardis A., Aretini A., Alfano G., Macciola V. & Ranalli G. (2008)**.Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea Europaea L.*) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology*, **266**, 653- 659.

- **Derbel S., Ghedira K. (2005)**. Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*. **1**: 28-34.

E

- **Erbay Z. & Icier F. (2009)**. Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, **91**, 533-541.

F

- **Falleh H., Ksouril R., Chaib K., Karray-Bourouin Trabelsi N., Boulaaba M. & Abdely C. (2008)**. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs and their biological activities. *C.R. Biologies*, **331**, 372-379.
- **Fathia Aouidi**. étude de valorisation des feuilles d'olivier oléa europea dans l'industrie agroalimentaire Ecole doctorale des sciences de l'ingénieur 2012.
- **Frenot M. & Vierling E. (1997)**. Biochimie des aliments. diététique du sujet bien portant. Ed : Doin.
- **Ferreira I.C.F.R., Barrosl L., Soares M.E., Bastos M.L. & Perreira J.A. (2007)**. Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea Europaea* L. leaves sprayed with copper formulation. *Food Chemistry*, **103**, 188-195.
- **Fritsch C.W., Hofland C.N. & Vickers Z.M. (1997)**. Shelf life of sunflower kernels. *Journal of Food Science*, **62(2)**, 425-428.

G

- **Georges J. Aillaud**. L'olivier et l'huile d'olive, le point de vue des botanistes- Institut de recherches et d'études sur le monde arabe et musulman, 1985)
- **Gertz C., Klostermann S. & Kochhar S.P. (2000)**. Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipids Science Technology*, **102**, 543-551.
- **Ghedira K**, L'olivier, *Phytothérapie* 2008, 6: 83–89.]
- **Gomez-Alonso S., Fregapane G., Salvador M.D. & Gordon M.H. (2003)**. Changes en phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 667-672.

H

- **Halliwell B. (1995)**. Antioxydant characterisation, methodology and mechanism *Biochemistry and Pharmacology*, 49, 1341-1349.
- **Hayes ,J-E., Allen,A., Brunton,N., O'Grady,M-N., Kerry,J-B.2011..** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry*, vol.126,pp. 948–955.
- **H. Rebour**, Chef du Service de l'Arboriculture. Situation actuelle de l'oléiculture en Algérie 1948.
- **H.Rebour 2005** [alger-roi.fr/Alger/documents algériens/économique/pages/46.\)](http://alger-roi.fr/Alger/documents_algériens/économique/pages/46.)

I

-**Iguergaziz Nadia 2012** ; Essai d'élaboration d'un alicament sous forme de comprimés de dattes entières et/ou dé-sucrées additionnés d'extrait aqueux des feuilles d'olivier algérien. En vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER Filière Génie Alimentaire 2012. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES

- **Imen Kahoull.** EFFET ANTIOXYDANT D'EXTRAITS DE PLANTES (Laurus nobilis L., Rosmarinus officinalis, Origanum majorana, Oléa Europea L.) DANS L'HUILE DE CANOLCHAUFFÉE. UNIVERSITÉ LAVAL QUÉBEC 2010

K

- **K. Bouhadjra** (2011), étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

- **Kalogianni E.P., Karastogiannidou C. & Karapantsios T.D. (2009).** Effect of the presence and absence of potatoes under repeated frying conditions on the composition of palm oil. *Journal American Oil Chemists Society*, **86**, 561-571.

-**Karleskind A., 1996.** Oils and fats manual Vol. 1, Ed. Lavoisier Tec. Doc, Paris.

L

- **Lee J., Lee Y. & Choe E. (2007).** Temperature dependance of the autoxidation and antioxidants of soybean, sunflower and olive oil. *European Food Research Technology*, **226**, 239- 246

- **Lee, O-H., Lee, B., Lee, J., Lee, H-B., Son, J-Y., Park, C-S., Shetty, K., Kim, Y-C. 2009.** Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bio resource Technology*, vol. 100, pp. 6107–6113.

- **Lipshitz N., Gophna R., Hartman M., Biger G. (1991).** The beginning of olive (Olea europaea) cultivation in the old world: a reassessment. *J. Arch. Sci.* 18, 441-453.

M

- **Martin-Garcia A.I., Moumen A., Ruiz D.R.Y. & Alcaide E.M. (2003).** Chemical composition and nutrients availability for goats and sheeps of two-stage olive cakes and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, **107**, 61-74.

- **M'baye B. K., Alouemine S. O., Lô B. B., Bassene E., 2012.** Etude de l'effet de la température sur les huiles alimentaires en mauritanie : dosage des indices de peroxyde *Rev. Ivoir. Sci. Technol.*, 19: 26 – 33.

Références bibliographiques

- **Messaouda Hireche** ; Etude de l'activité antioxydante de la tomate séchée _ Université de Hassiba Ben Bouali Chlef Algérie - 2013.
- **Metzidakis I T, Voyiatzis DG. (1997)** Proceedings of the third international symposium on Olive growing : Volume 1. Acta Horticulture no 474, Crete, Chania & Greece.)
- **Moreaux S. (1997)** L'Olivier. Actes Sud. France.
- **Mylonakis ., Kiassos E., Makris D.P., Kefalas P. (2008)**. Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface lethodology. *Anal Bioanal Chemistry*, **392**, 977-985.

N

- **Nefzaoui A. Val ori sati on des sou s-produ i ts de l ' ol i vi er.** In : Tisseran d J. L. (ed.), Alibés X. (ed.). *Fourrages et sous-produits méditerranéens* . Zaragoza : CIHEAM, 1 9 9 1 . p. 1 01 -1 08 (Option s Méditerran éen n es : Série A. Séminaires Méditerran éen s; n . 1 6)

R

- **Ryan D., Lawrence H., Prenzler P., Antolovich M. & Robards K. (2001)**. Recovery of phenolic compounds from *Olea europaea*. *Analytica Chimica Acta*, **21449**, 1-11.
- **Ribéreau-Gayon P. (1968)**. Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod. Paris*. pp : 173-201.
- **Reddy V., Urooj A. & Kumar A. (2005)**. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. *Food Chemistry*, **90**, 317-321.

S

- **Sabiha Achat**. Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Autre. Université d'Avignon, 2013.
- **Salta F.N., Mylona A., Chiou A., Boskou G. & Andrikopoulos N.K. (2009)**. Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*, **13**, 413-421.
- **Savarese M., DE maro E. & Sacchi R. (2007)**. Characterisation of phenolic extracts from olive (*Olea europaea* cv. Pisciotana) by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, **105**, 761-770.

Références bibliographiques

- **Scott G. (1965)**. Atmospheric oxidation and antioxidants. *African Journal of Biotechnology*.

- **Sidhoum Mohamed** Contribution à l'étude pédologique et génétique de quelques variétés de l'olivier dans la wilaya de Tlemcen. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMEN .2011

-**Silva S., Gomez L., Leitaof., Cohlho A.V. & Vilasbos L. (2006)**. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea Europaea L.* fruits and leaves. *Food Science Tect Int*, **12(5)**, 385-396.

-**Sineiro J., Franco D., Rubilar M., Sanchez M., Jerez M., Pinelo M., Costoya N. & Nunez M.J. (2008)**. Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. *Electronic Journal of environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **7(8)**, 3210-3216.

W

- **Warner K. & Moser J. (2009)**. Frying stability of purified mid-oleic sunflower oil triacylglycerols with added pure tocophérols and tocopherol mixtures. *Journal American of Oil Chemists Society*, **86**, 1199-1207.

- **Wolff, 1968** Manuel d'analyse des corps gras. Ed. Azoulay, Paris.

Z

- **Z.Hellal** (2011), Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

- **Zidane F., 2010**. Evaluation des paramètres physico-chimiques lors de la dégradation d'huile alimentaire par friture (Elio, Afia), Mémoire de Master, Option Contrôle de Qualité et Analyse, Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

- **ZOUGAB NADIA ;2016**. Effet de traitement thermique par Micro-ondes sur la qualité physico-chimique de quelques variétés d'huile d'olive d'Algérie.en vue de l'obtention de diplôme de master II ; Université M'hamed Bougara Boumerdes.

Annexe (A)

Matériels et réactifs pour les analyses physico-chimiques

Matériels	Réactifs		
	Solvants	Réactifs spécifiques et colorants	Autres
- Agitateur ; - Balance de précision ; - Bain Mari ; - Centrifugeuse ; -Rotavapeur ; -Spectrophotomètre UV Visible ; -étuve ; -Four a moufle ; -pH mètre ;	-Acétone, -Acide acétique, -Benzène, -Chloroforme, -Hexane, - Ethanol, -Méthanol.	-DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), -Réactif de Folin-Ciocalteu, Phénophtaléine.	-Carbonate de sodium, - Hydroxyle de sodium, Thiosulfate, Phosphate dissodique, Iodure de potassium, Ferricyanure de potassium K_3FeCN_6 , Acide trichloracétique, Chlorure ferrique $Fe Cl_3$

Annexe B

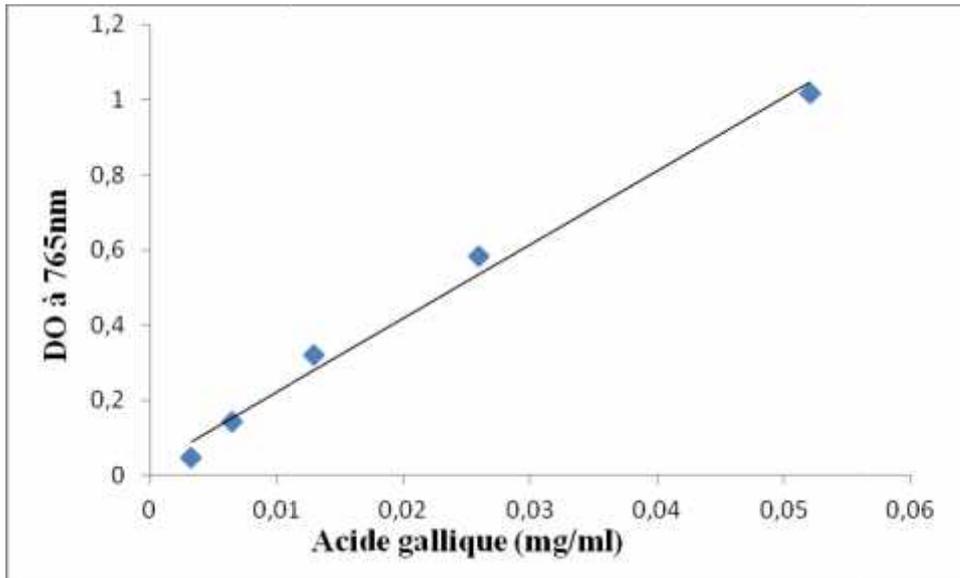


Figure : La courbe d'étalonnage d'acide gallique ($DO_{765nm} = 19,543x + 0,0274$, $R^2 = 0,9891$)

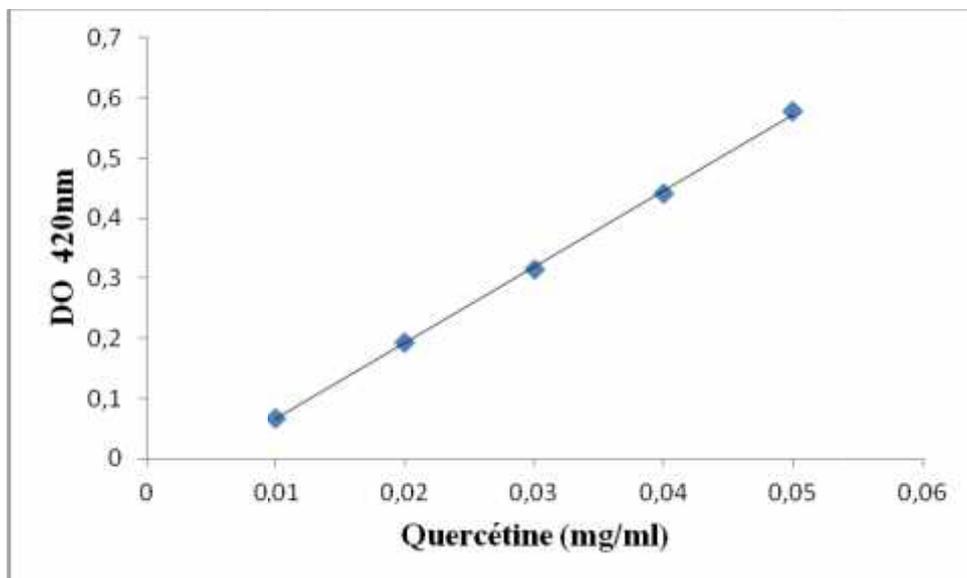


Figure : la courbe d'étalonnage de la quercétine mg/ml ($DO_{420nm} = 12,71x - 0,0625$, $R^2 = 0,9996$)

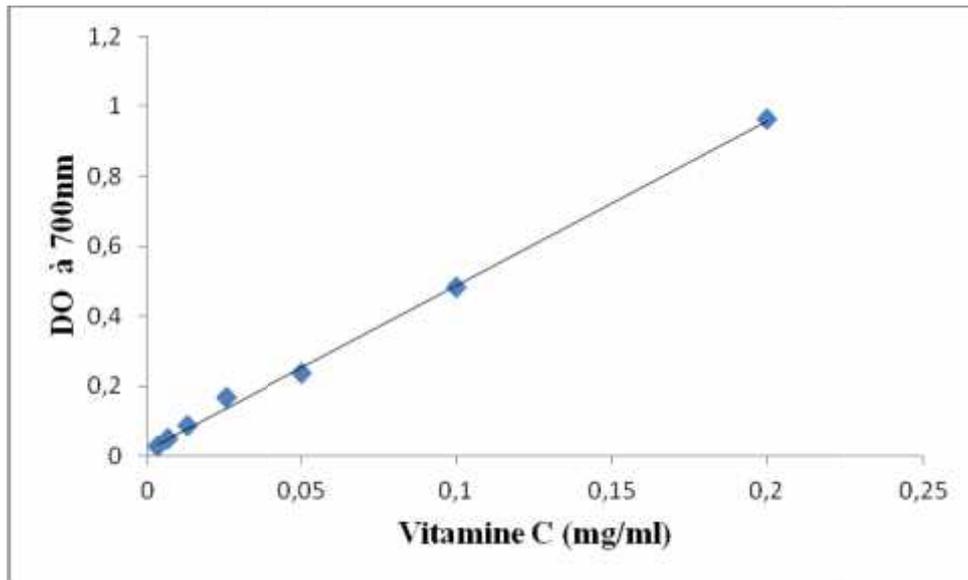
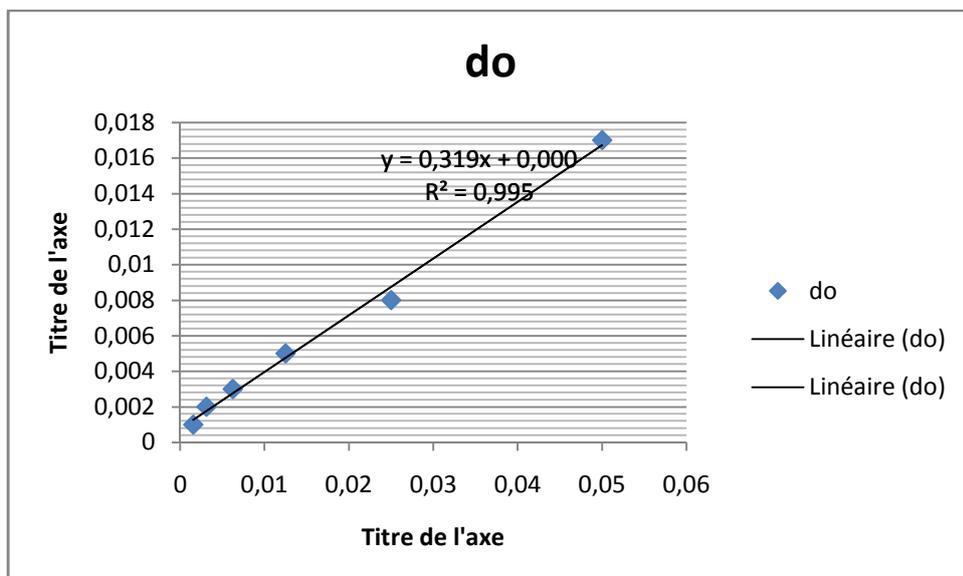


Figure : La courbe d'étalonnage de vitamine C ($DO_{700nm} = 4,6877x + 0,0199$ $R^2 = 0,9979$)

Mode opératoire de préparation de réactif bleu de Coomassie

- 100 mg de poudre de bleu de coomasie G250 ;
- Dissous dans 50ml d'éthanol absolu ;
- On ajout e 100ml d'acide phosphorique a85% ;
- Ajuste avec de l'eau distille a un volume final de 1000ml est conserve a froid 4C°.
-



- **Tableau** : préparation de la courbe d'étalonnage des protéines

Dilution	SM	S/2	S/4	S/8	S/16	S/32
Concentration (mg/ml)	0,05	0,025	0,0125	0,00625	0,003125	0,0015625

Préparation de la gamme d'étalonnage

- On pèse 0.0214g d'acide gallique ;
- On va dissoudre dans 20 ml de l'éthanol, soit une solution S1 ;
- Diluer la solution mère comme suit :
- Prelever 5 ml de la solution mère puis ajouter 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/2 ;
- Prelever 5ml de la solution S/2 puis rajouter 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/4 ;

Tracage de la courbe d'étalonnage d'acide gallique

- Prelever 1 ml de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essais ;
- Ajouter 1 ml de réactif de folin-ciocalteu ;
- Après 5 min, ajouter 10 ml de carbonate de sodium ;
- Ajouter 250ml de l'eau distillée ;
- Laisser et incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- La lecture des absorbances est faite à 750 nm.

Tableau : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux.

Dilutions	SM	S/2	S/4	S/8	S/16
Concentration en ml	0,00325	0,0065	0,013	0,026	0,052

Tableau : Préparation des dilutions de la quercétine pour la réalisation d'une courbe standard des flavonoïdes.

Dilutions	SM	S/2	S/4	S/8	S/16
Concentration (mg/ml)	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05

Mode de travail :

- On pesé un gramme de vit C ;
- On ajoute 5ml d'eau distille avec une bonne homogénéisation ;
- L'absorbance est mesurée à 700nm après 10min de réaction ;
- Les résultats sont exprimés en mg d'EVC/100g.

Tableau : La préparation des dilutions de vitamine C pour réaliser une courbe d'étalonnage des antioxydants ayant un pouvoir réducteur.

Dilutions	SM	S/2	S/4	S/8	S/16	S/32
Concentration en ml	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125	0,00625

Annexe (C)

1-Tests préliminaires de l'huile enrichie avec différentes concentrations des deux variétés des feuilles d'olivier.



2-photographie des frites obtenus



Huile témoin



**huile avec 150g de la
PFOC**



**huile avec 150g de la
PFOO**

Résumé

Cette étude s'intéresse de l'utilisation d'antioxydants naturels incorporés aux huiles. les composés phénoliques (CP) sont extraits à partir des feuilles d'olivier des deux variétés *Chemlal et Oléastre*. Ces CP sont utilisés en tant qu'antioxydant naturel.

Trois concentrations (50 ; 100 et 150 g/l) sont additionnées à une huile de table à base de soja (Elio) L'oxydation de cette huile étudiée suivant 5 cycles de friture. L'oxydation est suivie par la mesure de coefficient d'extinctions spécifiques.

Les résultats obtenus montrent que la quantité des polyphénols existe dans 25 et ;50 et 75g de poudre est égale à l'ordre de 141.66 ;283.33 ;425 eqmg d'AG pour la poudre de la variété sauvage , et pour la poudre de la variété cultivé les quantité sont à l'ordre de 126.75 ;253.5 ;380.25 eqmg d'AG.

Les huiles contenant des antioxydants ont subi une détérioration moins accentuée que celles des témoins (sans ajout d'antioxydant).

En effet, après l'incorporation des notre antioxydants et la friture des huiles enrichie la stabilité oxydative varie selon le coefficient d'extinction d'une concentration à l'autre et d'une variété à l'autre, La meilleure stabilité oxydative de notre huile de friture est celle enrichie par la poudre des feuilles cultivées de la variété Chemlal (PFOC).

Mots clés : l'oxydation ;les composés phénoliques ;les huiles de fritures ;feuilles d'oliviers

Abstract

This study is interested in the use of natural antioxidants incorporated in oils. Phenolic compounds (PC) are extracted from the olive leaves of the two varieties Chemlal and Oléastre. These PCs are used as a natural antioxidant.

Three concentrations (50 ; 100 and 150 g/l) are added to a soy based table oil (Elio) The oxidation of this oil studied following 5 cycles of frying. Oxidation is followed by the measurement of specific extinction coefficient. The results obtained show that the quantity of polyphenols exists in 25 and 50 and 75 g of powder is equal to the order of 141.66 and 425 eqmg of AG for wild variety powder, and for cultivated variety powder the quantities are in the order of 126.75 and 380.25 eqmg of AG.

Oils containing antioxidants deteriorated less severely than control oils (without the addition of antioxidants). Indeed, after incorporating our antioxidants and frying enriched oils the oxidative stability varies according to the extinction coefficient from one concentration to another and from one variety to another, The best oxidative stability of our frying oil is that enriched by the powder of the cultivated leaves of the Chemlal variety (PFOC).

Works keys : oxidation ; phenolics ; frying oils ; olive leaves

الفينولية	الزيوت. يتم	الطبيعية	هذه
			الزيتون
			النوعين الشمال و الحشاد. هذه المركبات تستخدم كمضادات للاكسدة الطبيعية.
			تمت دراسة تطور اكسدة زيت القلي باضافة ثلاث تراكييز (50 100 150 /) من مسحوق الاوراق للنوعين
			المدرسين الي زيت الصويا ايليو وتمت متابعة الاكسدة بقياس معامل انقراضات محددة
			كمية البوليفينول المتوفرة في 50 100 150 / لتر تساوي على الترتيب 141.66 2283.33 245
			تظهر النتائج ان
			126.75 ;253.5 ;380.25 البري اما الشمال فتساوي على الترتيب
			126.75 ;253.5 ;380.25

افضل زيت لاستقرار الاكسدة هي تلك المضاف اليها مسحوق اوراق الشمال