

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

Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2017



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

**Domaine :** SNV

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** analyses biologiques et biochimiques

**Présenté par :**

*Mlle. BOUASSILA Lamia*

*Mlle. MAYOUF Manal*

**Thème**

**Etude physicochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de trois types d'huile d'olive issus de différentes méthodes d'extraction dans les régions de Kadiria et Lakhdaria de la Wilaya de Bouira.**

**Soutenu le :** 28/ 06 / 2017

**Devant le jury composé de :**

**Nom et Prénom**

**Grade**

M. KADRI Nabil  
Mme DJOUAHRA Djamila  
Mme MESSAD Sara

MCA  
MAA  
MCB

Univ. de Bouira  
Univ. de Bouira  
Univ. de Bouira

Président  
Examinatrice  
Promotrice

**Année Universitaire : 2016/2017**

*En premier lieu, nous remercions Allah le tout puissant de avoir donné à nous la volonté la sante le courage pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier la personne sans qui ce présent travail n'aurait jamais vu le jour Mme **MESSAD Sarad** d'avoir encadré et dirigé ce travail avec ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé. Nous la remercions aussi pour sa gentillesse et ses qualités humaines, qu'elle trouve ici le témoignage de notre grand respect et notre estime.*

*Notre reconnaissance va particulièrement envers **M.KADRI Nabil** pour l'aide qu'il nous a accordé, sa constante disponibilité. Comme nous le remercions vivement de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nous remercions vivement Mme **DJOUAHRA Djamilade** nous avoir fait l'honneur d'examiner ce modeste travail.*

*Sans oublier de remercier tout le personnel du laboratoire de physico-chimie et microbiologie de SAIDAL, Dar El-Beida spécialement Mme **MECHID W**, Mme **BENAMEUR F**, Mr **MECHICHE M**, et Mr **HEMRAN M** qui n'ont laissé aucune effort pour nous aider.*

*Nous voulons remercier aussi Mr **BOURNISSA R**, le responsable de laboratoire de biochimie à faculté des sciences de l'ingénieur à l'université de Boumerdes de nous avoir fournit les réactifs.*

*Nousexprimons nosremercions à nos amis (es).Et tous ceux qui ont participé à l'élaboration de ce travail, surtout **Maryemet Imen** de l'université de Blida.*

## **Dédicace**

*Je dédie ce modeste travail*

*À la prunelle de mes yeux ma mère*

*Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa  
Disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans  
Les moments les plus difficiles de ma vie.*

*A l'amour de ma vie mon père*

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller  
Toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son  
Enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et  
Pour ses précieux conseils.*

*J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'il  
Soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

*A les battements de mon cœur mes frères : Brahim, rabah*

*A mes tendre et chères belles sœurs : Kalida, Kadiddja, Assma*

*A mon beau oiseau, mon neveu, Badro*

*AU mari de ma sœur Ali*

*A mes intimes et fideles amies Karima, Ahlam, Ahlam L, karima N ,et surtout ma binôme  
Manel*

*A mes oncles, mes tante et à tous les individus de ma famille en particulier ma tante  
Fahima, Razika, Souhila*

*Au meilleur promotrice dans l'univers Mme MASSED Sara*

*A moi-même*

*BOUASSILA Lamia*

## **Dédicace**

*Avant toute chose, je tiens à remercier ALLAH le tout puissant pour m'avoir donné la  
force, le courage, la volonté et la patience durant la réalisation de ce modeste travail.*

*Je dédis ce travail :*

*A ma très chère mère,*

*Qui m'a supporté et m'a aidé dans les pires moments. Car tu a toujours cru en  
moi, je suis ce que je suis maintenant ; merci maman.*

*A mon cher père,*

*Je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissant et j'aurai tant aimé partager la jolie de ma réussite avec lui.*

*A mes frères : Rabah, Amin, et Abd-Elrahim  
A mon adorable sœur Wissam que j'aime beaucoup  
A tout mes oncles et mes tantes  
A ma très chère binôme : lamia  
A tous mes amis sans exception*

*Et au final je tiens à remercier toute la section d'analyses biologique et biochimiques promotion 2017.*

*Manel*

## **TABLE DES MATIERES**

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

## **INTRODUCTION**

### **Partie I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>Chapitre I : Présentation d'<i>Olea europaea</i> L.....</b>	<b>01</b>
I. Etude caractéristique de l'espèce <i>Olea europaea</i> L.....	01
I.1 Classification botanique de l'espèce.....	01
I.2 Description morphologique de l'espèce <i>Olea europaea</i> L.....	.01
I.3 Répartition géographique.....	03
<b>Chapitre II : Généralité sur l'huile d'olive.....</b>	<b>05</b>
II.1 Classification des huiles d'olives.....	05
II.2 Caractérisation de l'huile d'olive.....	05
II.2.1 Caractères organoleptiques.....	05
II.2.2 Caractéristiques physico-chimiques.....	06

II.3 Composition chimique de l'huile d'olive.....	07
II.3.1 Fraction saponifiable.....	08
✓ Acide gras.....	08
✓ Triglycérides.....	09
II.3.2 fraction insaponifiable	
✓ Hydrocarbures.....	10
✓ Tocophérols (vitamine E).....	10
✓ Les pigments.....	11
✓ Les composées phénoliques.....	11
II.4 les bienfaits de l'huile d'olive.....	12

## **PARTIE II : MATERIEL ET METHODES**

Objectifs.....	14
1. Matériel et méthode.....	15
1.1. Matériel.....	15
I.1.1 Matériel biologique.....	15
I.1.2 Matériel non biologique.....	16
1.2. Méthodes.....	16
I.2.1 Les méthodes d'extraction.....	16
I.2.1.1 Méthode d'extraction traditionnelle manuelle.....	16
I.2.1.2 Méthode d'extraction traditionnelle par presse (HO d'huilerie traditionnelle).....	17
I.2.1.3 Méthode d'extraction classique (huile d'olive d'huilerie moderne).....	17
I.2.2 Analyses sensorielles.....	18
I.2.3 Analyses physico-chimiques.....	18
I.2.3.1 Les indices chimiques.....	18
a. Indice d'acide (I.A).....	18
b. Indice de peroxyde (I.P).....	19
c. Indice de saponification (I.S).....	19
d. Indice d'iode (I.I).....	20
e. Détermination de la teneur en chlorophylle.....	21
f. Détermination de la teneur en caroténoïdes.....	22
I.2.3.2 Les indices physiques.....	23
a. Indice de réfraction.....	23
b. La densité relative.....	23

c. La teneur en eau (humidité%).....	23
d. Absorbance dans l'ultraviolet (UV).....	24
I.2.4 Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acide gras.....	25
I.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive.....	26
I.2.5.1 Extraction liquide-liquide des composés phénoliques d'huile d'olive.....	26
I.2.5.2 Dosage des composés phénolique.....	26
a. Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	26
b. Analyse de standard et l'extrait.....	26
c. Expression des résultats.....	27
I.2.5.3 Test de la réduction de fer FRAP (FerricReducingAntioxidant Power).....	27
I.2.5.4 Analyse statistiques.....	27
I.2.6 Evaluation de l'activité antibactérienne.....	27

### **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

I Résultats et discussion.....	30
I.1 Tests organoleptiques et analyse physico-chimiques.....	30
I.1.1 Testes organoleptiques.....	30
I.2 Analyses physico-chimiques.....	31
I.2.1 Indices chimiques.....	31
a. Indice d'acidité.....	31
b. Indice de peroxyde (IP).....	32
c. Indice d'iode.....	32
d. Indice de saponification.....	33
e. Indice de chlorophylle.....	34
f. Indice de caroténoïde.....	35
I.2.2 Les indices physiques.....	36
a. Indice de réfraction.....	36
b. La teneur en eau (humidité%).....	37
c. La densité relative.....	37
d. Absorbance dans l'ultraviolet (UV).....	37
I.3 Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acide gras.....	38
I.4 Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive.....	41
I.4 .1 Rendement en polyphénol.....	41

1.4.2 Dosage quantitative.....	41
1.4.3 Test de la réduction de fer (FRAP).....	42
I.5 Evaluation de l'activité antibactérienne.....	45
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>51</b>
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	
RESUME	

### Liste des abréviations

% : Pourcentage  
A : Absorbance  
AG : acide gras  
AGMI : acide gras mono insaturé  
AGPI : acide gras polyinsaturé  
ATCC: American type of culture collection.  
Cm : Centimètre  
Chl : chlorophylle  
CCL<sub>4</sub> : Tétrachlorure de carbone  
COI : conseil oléicole international  
FC : folin ciocalteu  
Fe<sup>+3</sup> : fer ferrique  
Fe<sup>+2</sup> : fer ferreux  
FeCl<sub>3</sub> : Chlorure de fer  
g : gramme  
h : hectare  
h: Heure  
HCL : hydroxyde de chlorure  
HO : huile d'olive  
IA : Indice d'acide  
IP : Indice de peroxyde

IS : Indice de saponification

II : Indice d'iode *Liste des abréviations*



JC : Jésus Christ  
KI : iodure de potassium  
KOH : hydroxyde de potassium  
K<sub>3</sub>Fe : ferricyanure de potassium  
L : litre  
L : Trajet optique  
M : Masse molaire  
m : mètre  
méq : milliéquivalent  
mg : milligramme  
min : minute  
mol : mole  
N° : Numéro  
N : normalité  
Na<sub>2</sub>C nm : nanomètre  
O<sub>2</sub> : oxygène  
O<sub>3</sub> : carbonate de sodium  
P : masse de prise d'essai  
PP : polyphénol  
R : rendement  
t : tonne  
trm : tour par minute  
UV : ultra violet  
V : volume  
µl : Microlitre  
µm : Micromètre  
ppm : Particule par million

### Liste des figures

N° Figure	Titre	Page
-----------	-------	------

Figure 01	Feuilles et fleurs d' <i>Olea europaea</i> L.	02
Figure 02	Aspect morphologique de l'olive.	03
Figure 03	Répartition de la production méditerranéenne d'huile d'olive (2016/2017) en (1000t).	04
Figure 04	Réaction d'hydrolyse et libération des acides gras.	07
Figure 05	Différentes types d'acides gras.	09
Figure 06	Réaction de formation de triglycéride.	10
Figure 07	Structure chimique de $\alpha$ tocophérol (vitamine E).	11
Figure 08	Structure chimique de trois principales composées phénoliques d'huile d'olive.	12
Figure 09	Localisation des régions d'étude.	15
Figure 10	Différents échantillons des huiles d'olives (HO).	30
Figure 11	Acidité de l'huile d'olive.	31
Figure 12	Indice de peroxyde de l'huile d'olive.	32
Figure 13	Indice d'iode de l'huile d'olive.	33
Figure 14	Indice de saponification de l'huile d'olive.	34
Figure 15	Teneur en chlorophylle	35
Figure 16	Absorbance par spectrophotomètre à 232nm et 270nm.	38
Figure 17	Chromatogramme de trois types d'huile d'olive.	39
Figure 18	Pouvoir réducteur des extraits phénoliques et de standard.	43
Figure 19	Pouvoir réducteur d'extraits phénoliques et l'acide ascorbique à différentes concentration.	43
Figure 20	Résultats des diamètres des zones d'inhibition de l'huile d'olive testé sur les bactéries pathogènes étudiés.	46
<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau 01	Classification botanique de l' <i>Olea europaea</i> L.	01
Tableau 02	Classification de l'huile d'olive	05

Tableau 03	Caractères physico-chimiques de l'huile d'olive	07
Tableau 04	Composition en acide gras d'huile d'olive	09
Tableau 05	Les échantillons de l'huile d'olive	14
Tableau 06	Conditions chromatographiques pour les esters méthyliques	24
Tableau 07	Les souches de référence utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles.	27
Tableau 08	Les caractéristiques organoleptiques de trois types d'huiles d'olives	29
Tableau 09	Teneur en chlorophylle exprimé en ppm	33
Tableau 10	Teneur en caroténoïde de trois types d'huile d'olive exprimé en $\beta$ -carotène en mg/kg.	34
Tableau 11	Les valeurs d'indice de réfraction	35
Tableau 12	Densité de nos échantillons d'huile d'olive	35
Tableau 13	Composition en acides gras de l'huile d'olive en (%)	38
Tableau 14	Rendement en poly phénol de trois types d'huile	39
Tableau 15	Absorbance et la concentration de l'extrait phénolique	40
Tableau 16	Concentration des extraits phénoliques et acide ascorbique à DO=0.5	42
Tableau 17	Diamètre (mm) des zones d'inhibition d'huile d'olive de différente d'extraction.	44

## Introduction

L'olivier et l'huile d'olive font partie intégrante de l'histoire du bassin méditerranéen, on les retrouve au fil des siècles à travers différents mythes et croyances. L'olivier est parmi les plus vieux arbres cultivés dans le monde. Les premiers vainqueurs des jeux olympiques au 7<sup>ème</sup> siècle avant JC se voyaient couronnés de rameaux d'olivier et recevaient des jarres d'huile d'olive en récompense de leurs performances (**Moufida, 2017**).

De tout temps l'olivier a été associé à des vertus telles que la sagesse, la paix, la victoire, la richesse et la fidélité (**Veillet, 2010**). Ainsi que la fertilité (**Moufida, 2017**).

Il y a aujourd'hui près d'un milliard d'oliviers (*Olea europaea* L.) cultivés à travers le monde et cela sur presque tous les continents. Plus de 90% des oliviers sont cultivés dans le bassin méditerranéen, notamment en Espagne, en Italie et en Grèce. Il existe plus de cent variétés d'oliviers, cultivées en fonction de leur objectif final.

Les olives peuvent avoir deux grandes utilisations : la première est l'utilisation en tant que fruit entier ou encore appelée "olives de table", la seconde est pour la production d'huile d'olive. La production mondiale d'olives de table est d'environ un million de tonnes soit 10 % de la récolte totale d'olives, et la grande majorité des olives est donc utilisée pour la fabrication de l'huile d'olive (**Veillet, 2010**).

L'huile d'olive est la plus ancienne huile connue, sa consommation remonte à l'antiquité. L'huile qui est le jus d'un fruit est presque uniquement consommée à l'état vierge. Elle est pratiquement la seule aujourd'hui à avoir cette particularité.

Toutes les études démontrent que les régimes alimentaires à base d'huile d'olive sont bénéfiques pour la santé humaine en diminuant le risque de maladies cardiaques en empêchant la formation de caillot sanguin causant les infarctus. Elle améliore la santé du cœur en permettant aussi de diminuer les niveaux sanguins du mauvais cholestérol et des triglycérides causant ces problèmes (**Benabid., 2009**). De plus, Les lipides font partie des éléments essentiels de notre alimentation. Ils regroupent les huiles et les graisses d'origine animale et végétale. Ils représentent la source d'énergie la plus importante pour l'organisme avec des besoins qui peuvent atteindre 40% de l'énergie totale.

Jusqu'à présent l'huile d'olive extra vierge n'a démontré aucun effet secondaire. L'huile d'olive riche en antioxydants (comme la vitamine E et les poly phénols) qui permettent de prévenir les maladies cardio-vasculaires, les cancers et le vieillissement (**Veillet, 2010**).

Notre travail a pour objectif principal l'étude des caractéristiques physico-chimiques et spectrales, l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de trois types d'huile d'olive issue de différentes méthodes d'extraction.

Cette étude comporte trois parties essentielles :

Une première partie : consacrée à l'étude bibliographique, elle est composée de deux chapitres :

- Chapitre I : Qui initie le lecteur au sujet traité dans le mémoire à travers la présentation d'*Olea europae* L.
- Chapitre II : Qui traite une généralité sur l'huile d'olive.

Une deuxième partie : décrit le matériel et méthodes physico-chimiques et biologiques utilisées dans le cadre de cette étude.

La troisième partie : aborde les principaux résultats de l'expérimentation et leurs discussions.

Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

## Chapitre I : Présentation d'*Olea europaea* L

### II. Etude caractéristique de l'espèce *Olea europaea* L

L'olivier est le principal système agricole producteur d'huile d'olive ([Meftah et al., 2014](#)), est un arbre résistant qui demande beaucoup de soins et de patience pour donner des olives en quantité suffisante. Livré à lui-même, l'olivier ne donne des fruits qu'une année sur deux. L'olivier, comme d'autres arbres fruitiers (amandiers, pistachiers...), joue un rôle important dans l'équilibre de l'écosystème semi désertique ([Lazzeri, 2009](#)).

#### I.1 Classification botanique de l'espèce

Selon Linné :Le nom latin de cette espèce est : *olea europaea* L.

La classification botanique de l'*Olea europaea* L. est représentée dans le tableau I.

**Tableau I** : Classification botanique de l'*Olea europaea* L ([Ghedira, 2008](#)).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Magnoliophyta
<b>Sous-embranchement</b>	Magnoliophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe dialype</b>	Dialypétales
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Oleaceae
<b>Genre</b>	<i>Olea</i>
<b>Espèce</b>	<i>Olea europaea</i> L.

#### I.2 Description morphologique de l'espèce *Olea europaea* L ([Fourasté, 2002](#)).

L'olivier est un arbre de 3 à 10 m, parfois un arbrisseau de 1,5 à 2 m. Dans les pays chauds, il devient beaucoup plus gros et s'élève jusqu'à la hauteur de 10 m.

L'*Olea europaea* L. caractérisée par :

- **Racine** : La racine est d'abord pivotante mais suivant les sols, elle peut varier en profondeur de moins de 1 m à plus de 6 m et se développer en largeur à plus de 20 m autour du tronc.
- **Tronc** : Dans sa partie basse, le tronc peut atteindre 1 à 2 m de circonférence. Il se divise, à la hauteur de 3 ou 4 m, en branches qui s'élèvent à 7 ou 10 m.

- **Rameaux** : Les rameaux sont plus ou moins érigés ou pendants et presque plusieurs selon les variétés. Ils sont tortueux, de section cylindrique, recouverts d'une écorce blanc grisâtre et dépourvus d'épines.
- **Tige** : La tige porte des feuilles opposées, entières, persistantes d'une durée de vie d'environ 3 ans.
- **Les fleurs** : Dès le début du mois de mai, on peut voir fleurir les oliviers. Cependant, la floraison ne dure qu'une huitaine de jours. Ce sont des fleurs hermaphrodites, tétramères. Au cœur de la fleur, l'ovaire à 2 loges, se prolonge par un épais stigmate, et les 2 étamines saillantes s'attachent sur le tube de la corolle. Les fleurs sont petites, blanches, odorantes, regroupées en grappes dressées à l'aisselle des feuilles
- **Les feuilles** : La feuille de l'olivier a son propre système de protection contre la chaleur de l'été. La face supérieure de couleur vert sombre, exposée au soleil est recouverte d'une pellicule vernissée à travers laquelle l'eau peut s'échapper. La figure N°01 représente les feuilles et les fleurs d'*Olea europaea*.



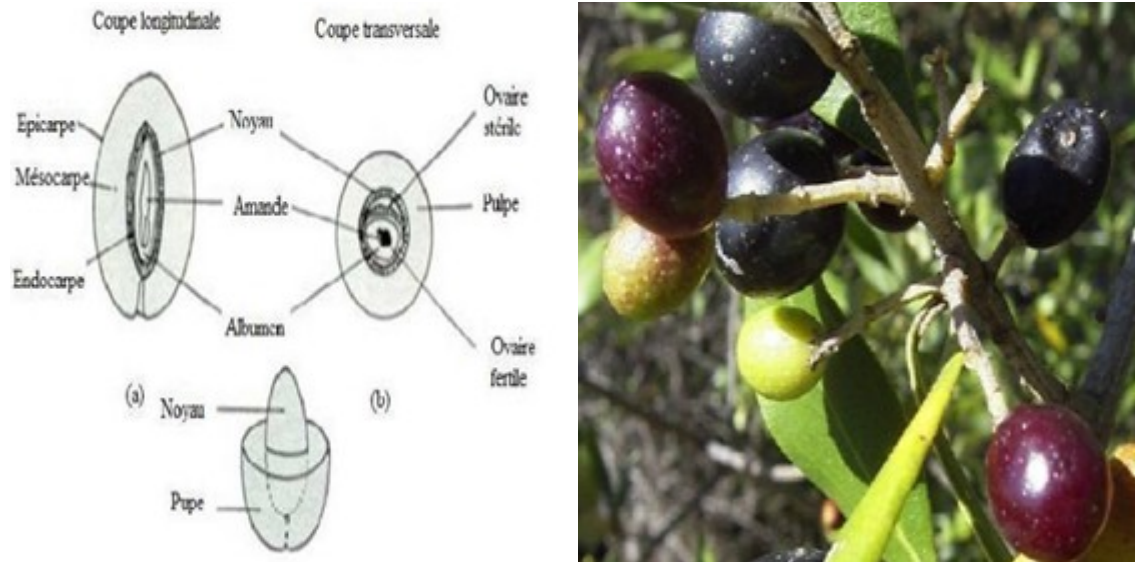
**Figure 01** : Feuilles et fleurs de *Olea europaea*L.(**Bolmont et al., 2015**).

- **Fruit** : Le fruit est une drupe à mésocarpe charnu, riche en lipides, il a une forme ovoïde ou ellipsoïde. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. (**Loussert and Brousse, 1978**).

Le fruit est constitué de :

- L'épicarpe : c'est la peau de l'olive, il reste attaché au mésocarpe.
- Le mésocarpe : c'est la pulpe du fruit, il est constitué de cellules dans lesquelles sont stockées les gouttes de graisses qui formeront l'huile d'olive.
- L'endocarpe : constitué par un noyau fusiforme, très dur, sa forme et sa dimension varient suivant la variété, formé de deux types de cellules, il contient deux ovaires

dont l'un stérile et le second produit un embryon La figure N°02représente les différents constituants d'un fruit de l'olive t(Loussert and Brousse, 1978).



**Figure 02 :** Aspect morphologique de l'olive.

(A) : Schéma des différents constituants d'un fruit d'olive,(B):Photo du fruit d'olive (Vladimir, 2008).

### I.3 Répartition géographique

La production de l'olivier est répartie sur les cinq continents, elle est surtout prédominante dans la zone du bassin méditerranéen qui représente 98% de la surface des arbres en production et 97% de la production totale d'olive.

La production la plus importante, selon le prévisionnel du (COI, 2016), sera celle de l'Espagne avec 1311300t, suivi des productions de la Grèce avec 260000t, de l'Italie avec 243000t, du Portugal 93600t, du Maroc 110000t de la Tunisie100000t et de l'Algérie74000t (figure N° 03) (COI, 2016).

**Figure 03 :** Répartition de la production méditerranéenne d'huile d'olive en 2016/2017 (COI, 2016).

La consommation mondiale en 2016 /2017 a atteint 2 904 000 t, soit 1 % de plus par rapport à la campagne précédent (COI, 2016).



## Chapitre II : Généralité sur l'huile d'olive

### II.1 Classification des huiles d'olives

Le tableau II représente les différentes classifications de l'huile d'olive.

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

Types	Définitions	Catégories	Acidité
Huile d'olive Vierge	Obtenue à partir de fruit de l'olivier par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques.	-huile d'olive vierge. -Huile d'olive vierge extra. -Huile d'olive vierge courante.	$\leq 2,0$ $\leq 0,8$ $\leq 3,3$
Huile d'olive vierge lampante	Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques.	-huile d'olive raffinée. -huile d'olive : constituée par un coupage d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge.	$\leq 0,3$ $\leq 1,0$
Huile d'olive de grignon	Obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques(COI, 2013). à partir des grignons d'huilerie.	-huile de grignons d'olive brute -huile de grignon d'olive raffinée -huile de grignon d'olive	Non limitée $\leq 0,3$ $\leq 1,0$

**Huile de grignons d'olive raffinée:**huile obtenue à partir d'huile de grignons d'olive brute par des techniques de raffinage n'entraînant pas de modifications de la structure glycéridique initiale([Alimentarius, 1981](#)).

**Huile de grignons d'olive:**huile constituée par le coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges([Alimentarius, 1981](#)).

**Huile de grignons d'olive brute :** Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine ou destinée à des usages techniques(COI, 2015).

## II.2 Caractérisation de l'huile d'olive

### II.2.1 Caractères organoleptiques

Elles sont définies par des « dégustateurs » entraînés et connaissant parfaitement les sensations éprouvées par la consommation d'huiles de bonne qualité. Chaque variété d'huile d'olive possède une couleur, une odeur et une saveur particulière (COI,2005).

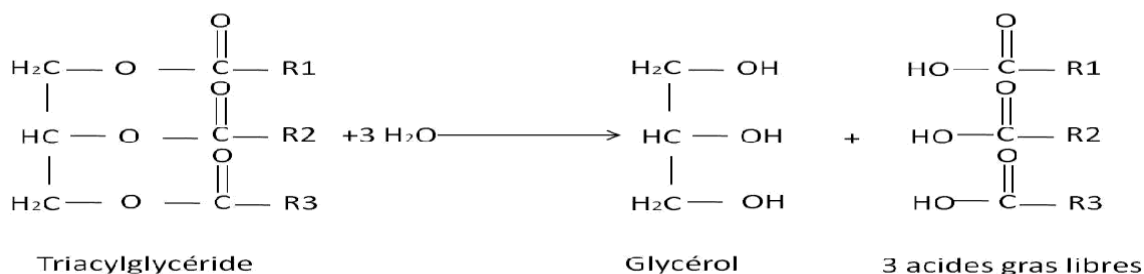
Les caractéristiques organoleptiques sont regroupées en des rubriques principales :

- ✓ **Gout** : l'amertume est le seul goût que peut présenter l'huile d'olive, on en détermine l'intensité à la dégustation(Lazzeri, 2009).
- ✓ **Arômes** : l'ensemble des sensations aromatiques d'une huile constitue son fruité, on en détermine l'intensité à la dégustation, sa catégorie (fruité mûr, fruité vert, fruité noir). (Lazzeri, 2009).
- ✓ **Piquant** : sensation tactile de picotement caractéristique des huiles produite au début de la mastication, principalement à partir d'olive d'encorevertes, pouvant être perçue dans toute la cavité buccale, en particulier la gorge(COI, 2015).

### II.2.2 Caractéristiques physico-chimiques

Le CNUCED propose une classification rapide des huiles en fonction de leur acidité libre. Cependant les critères de sélection ou d'exclusion d'une huile dans une catégorie sont très nombreux. Ils peuvent être spécifiques à une catégorie d'huile ou plus généraux. Le suivi de ces différents critères est nécessaire car une dégradation de la qualité de l'huile peut avoir de nombreuses conséquences tant d'un point de vue nutritionnel que d'un point de vue risque sanitaire. En effet, certains composés tels que les acides gras polyinsaturés (acides gras essentiels) ou la vitamine E sont parmi les acteurs principaux de l'intérêt nutritionnel de l'huile d'olive, mais ils sont très sensibles à l'oxydation. Une huile oxydée aura un intérêt nutritionnel plus faible qu'une huile bien conservée (Veillet, 2010). Dans une huile, les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides (98-99%). L'hydrolyse de ces derniers libère les acides gras donc leur dosage permet d'avoir un état de l'avancement de la dégradation de l'huile (Alileche, 2014).

La figure N°04 représente la réaction d'hydrolyse et libération des acides gras



**Figure 04 :** Réaction d'hydrolyse et libération des acides gras.

Les caractéristiques physicochimiques de l'huile d'olive sont résumées dans le tableau III.

**Tableau III :** Caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive

Paramètres	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	huile d'olive courante	Huile de grignon d'olive	Références
Indice d'acidité	maximum de 0,8 g/100 g	maximum de 2 g/100 g	maximum de 3,3 g/100 g	maximum de 1 g/100g	( <a href="#">Alimentarius, 1981</a> )
Densité relative à 20°	0.910-0.916	0.910-0.916	0.910-0.916	0.910-0.916	( <a href="#">Alimentarius, 1981</a> )
indice de peroxyde (meq O2/kg)	≤20	≤20	≤20	≤15	(COI, 2015)
Indice de réfraction	1,4677-1,4705	1,4677-1,4705	1,4677-1,4705	1,4680-1,4707	( <a href="#">Alimentarius, 1981</a> )
Indice de saponification	184-196	184-196	184-196	184 -196	(COI, 2015)
Indice d'iode	75-94	75-94	75-94	75-92	(COI, 2015, <a href="#">Alimentarius, 1981</a> )

Absorbance dans l'UV à 270nm à 232nm	≤0,22 ≤2.50	≤ 0,25 ≤2.60	≤ 0,30 -	≤ 1,70 -	(COI, 2015)
--------------------------------------	----------------	-----------------	-------------	-------------	-------------

### II.3 Composition chimique de l'huile d'olive

La composition chimique de l'huile d'olive dépend de la variété de l'olivier, des conditions climatiques pendant la croissance et de la maturité des olives.

Les composés peuvent être classés en deux grands groupes ([Plard, 2014](#)).

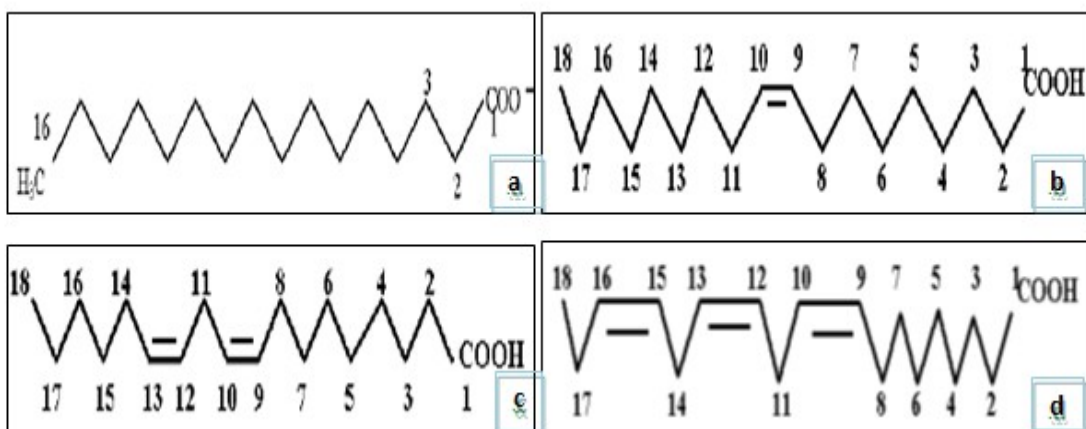
- Les substances saponifiables (triglycérides, acides gras,) (de 96 à 98% de l'huile).
- Les substances insaponifiables (de 2 à 4% de l'huile) ([Benrachou, 2013](#)).

#### II.3.1 Fraction saponifiable

##### ✓ Acide gras

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides ([Lomenech, 2010](#)). Présents dans l'huile d'olive sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre, et ce sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, dans ce cas les acides gras sont dits saturés, et elle peut contenir une double liaison mono insaturée (AGMI) ou plusieurs doubles liaisons poly insaturé(AGPI).

Pour les acides gras insaturés, ils sont souvent référencés selon la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle terminal. Il existe 2 grandes familles essentiels d'AGPI : la série en n-6 (ou oméga 6) et la série n-3 (ou oméga 3). Dans l'huile d'olive on trouve de l'acide linoléique (oméga 6) et de l'acide alpha-linolénique (oméga 3) (figure N° 5).



**Figure 05:** Différentes types d'acides gras

(a)-acide gras saturé(acide palmitique), (b)-acide gras mono insaturé, (c)-acide gras polyinsaturé (AG linoléique), (d)-acide gras polyinsaturé (AG α linoléique)(**Touitou,2005**).

Le tableau IV représente les différentes d'acides gras d'huile d'olive.

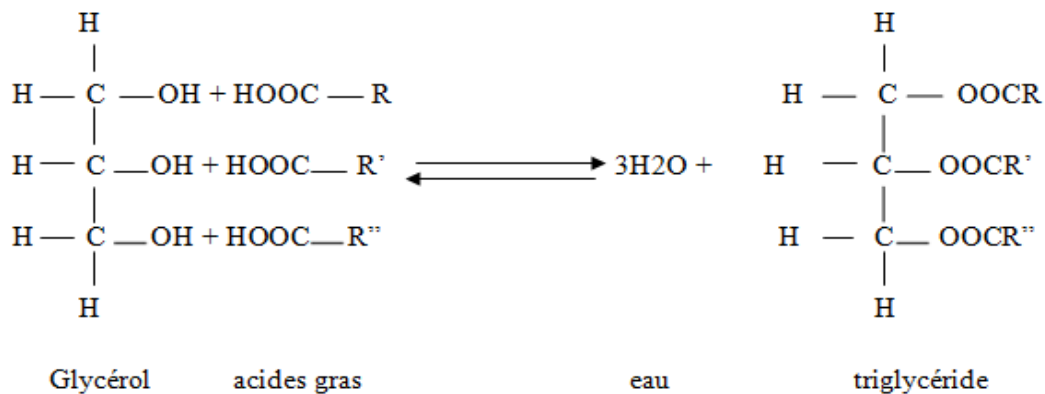
**Tableau IV :** composition en acide gras d'huile d'olive(**Pinatel et al., 2014**).

Acides gras	Formule brute
Acide palmitique (acide hexadécanoïque)	C16:0
Acide hypogéique (acide 7-hexadécénoïque)	C16 :1ω9
Acide palmitoléique (acide 9-hexadécénoïque)	C16 :1ω7
Acide margarique (acide heptadécanoïque)	C17 :0
Acide margaroléique (acide 9-heptadécénoïque)	C17 :1ω8
Acide oléique (acide 9-octadécénoïque)	C18 :1ω9
Acide Z-vaccénique (acide 11-octadécénoïque)	C18 :1ω7
Acide linoléique (acide 9,12-octadécadiénoïque)	C18 :2ω6
Acide linoléique(acide9, 12,15octadécatriénoïque)	C18 :3ω3
Acide arachidique (acide eicosanoïque)	C20 :0
Acide gondoïque (acide 11-eicosénoïque)	C20 :1ω9
Acide béhénique (acide docosanoïque)	C22 :0
Acide lignocérique (acide tétracosanoïque).	C24 :0

C<sub>x</sub> : yωz ou x est le nombre de carbones, et y le nombre de double liaisons, et ω la double liaison, z la position de double liaison.

✓ **Triglycérides**

Les triglycérides sont les constituants les plus abondants des lipides simples et constituant la masse essentielles des corps gras.Ils résultent de l'estérification des trois fonctions alcools du glycérol par trois acides gras. Ils peuvent être homogènes lorsque les molécules d'acide gras qui estérifient le glycérol sont identiques et hétérogènes ou mixte dans le cas contraire(**Lomenech, 2010**).



**Figure06:** Réaction de formation de triglycéride.

### II.3.2 fraction insaponifiable

#### ✓ Hydrocarbures :

Les hydrocarbures présents dans les huiles végétales sont à chaînes linéaires ou cycliques, saturés ou insaturés. Dans l'huile d'olive le squalène et le b-carotène sont présents en quantités importantes, la présence de squalène est considérée comme partiellement responsable des effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé et de son action chimio-préventive contre certains cancers (Smith et al., 1998).

#### ✓ Tocophérols (vitamine E)

Les tocophérols sont de bons antioxydants alimentaires (Halmi, 2015). Ils sont des substances constituées d'un noyau commun hydroxychromane et une chaîne latérale saturée phytyle à 16 carbones présentant des activités antioxydantes, la forme la plus active est le  $\alpha$  tocophérol que l'on rencontre le plus fréquemment dans la nature (figure N°07). Les  $\beta$  et  $\gamma$  tocophérols ont une activité vitaminique réduite (respectivement 40 et 15% environ de l'activité de la forme  $\alpha$ ), alors que la forme  $\delta$  est pratiquement inactive (Bougherara et Merzougui, 2015).

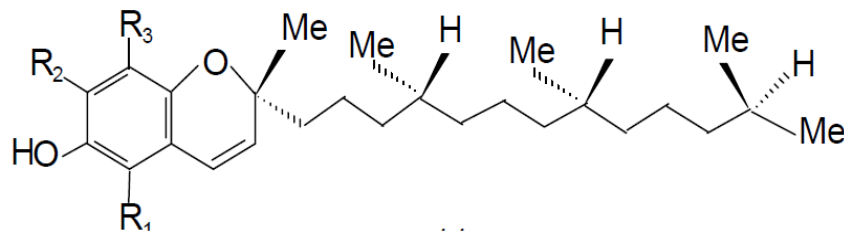


Figure 07 : la structure chimique de  $\alpha$  tocophérol (vitamine E) (Bouguerne., 2012).

#### ✓ Les pigments :

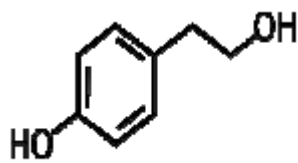
La couleur de l'huile d'olive est le résultat des teintes verte et jaune en raison de la présence de chlorophylles et caroténoïdes, respectivement. Elle est influencée par le cultivar d'olive, l'indice de maturation, la zone de production, le système d'extraction et les conditions de stockage. Par conséquent, la couleur est considérée comme un indice de qualité. (Benlemlih and Ghanam, 2012).

#### ✓ Les composés phénoliques

Les composés phénoliques dans les olives ont une grande importance, car de leur contribution à la couleur, le goût et la texture des olives, ainsi que leurs propriétés (Manallah, 2012), ils sont responsables de la bonne stabilité à l'oxydation. Outre leur propriété antioxydante (Denis et al., 2004), Les poly phénols (PP) représentent 1 à 3 % du poids frais de l'olive drupe à maturité présents en quantité variable (entre 1 et 10 g/kg d'olives) dans la

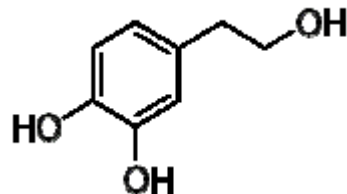
pulpe de l'olive. De plus, les procédés technologiques utilisés pour séparer les margines de la phase huileuse donnent également des teneurs différentes en polyphénols de l'huile d'olive (figure N°8),

Cette proportion varie de 2 à 50 mg/100 g pour l'huile d'olive (**Manallah,2012**).

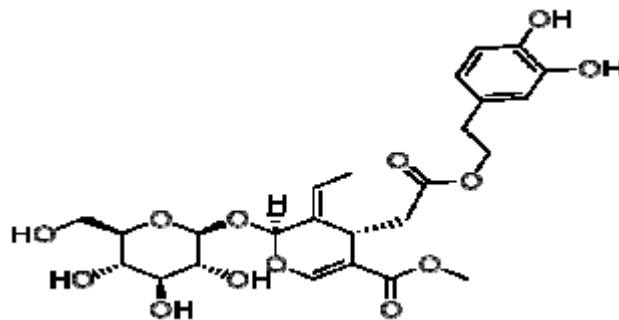


Tyrosol

2-(4-hydroxyphényl)-éthanol



2-(3,4-Di-hydroxyphényl)-éthanol



(DHEP)

Oleuropeine

Tétrahydropyran-3-yl oxy)-4H-pyran-3-carboxylic Acid, méthyl ester

**Figure 08** : Structure chimique de trois principales composées phénoliques d'huile d'olive (**Manallah, 2012**).

#### II.4 les bienfaits de l'huile d'olive

L'huile d'olive est le signe distinctif du régime méditerranéen : c'est la principale source de matière grasse de ce régime. Plusieurs études indiquent que l'huile d'olive, et en particulier l'huile d'olive vierge et plus encore l'huile d'olive vierge extra, est efficace dans la prévention et/ou la réduction de l'athérosclérose, de l'hypertension, de l'obésité, du diabète de type II et des processus inflammatoire (**Moreno Esteban and Solís.D.A, 2015**).

L'huile d'olive riche en antioxydants (comme la vitamine E et les polyphénols) qui permettent de prévenir les maladies cardio-vasculaires, les cancers et le vieillissement. De plus, elle est riche en acides gras mono-insaturés qui, contrairement aux acides gras saturés (présents dans le beurre, la viandes, le fromage...) réduisent le taux de mauvais cholestérol, celui qui risque de boucher les vaisseaux sanguins. Elle contient en particulier des acides oléiques qui stimulent la production de bile et assurent le bon fonctionnement de la digestion ([Benlemlih and Ghanam, 2012](#)).

## **OBJECTIFS**

Ce travail avait pour but d'étude des caractéristiques physicochimiques et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de trois huiles d'olives obtenues par différentes méthodes d'extraction issue des régions de Kadiria et Lakhdaria de la Wilaya de Bouira. Cette étude a été réalisée conjointement au niveau du laboratoire de contrôle de qualité de SAIDAL de Dar El-Beida qui divise en deux laboratoires ; le laboratoire de physico-chimie et de



microbiologie, et le laboratoire de Technologie Alimentaire de l'Institut National Supérieur d'Agronomie « L'INSA » d'El-Harrach et le laboratoire de biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales au département de biotechnologie de la faculté de science de la nature et de la vie de l'Université Saad Dahlabde Blida.

Les objectifs du travail étaient :

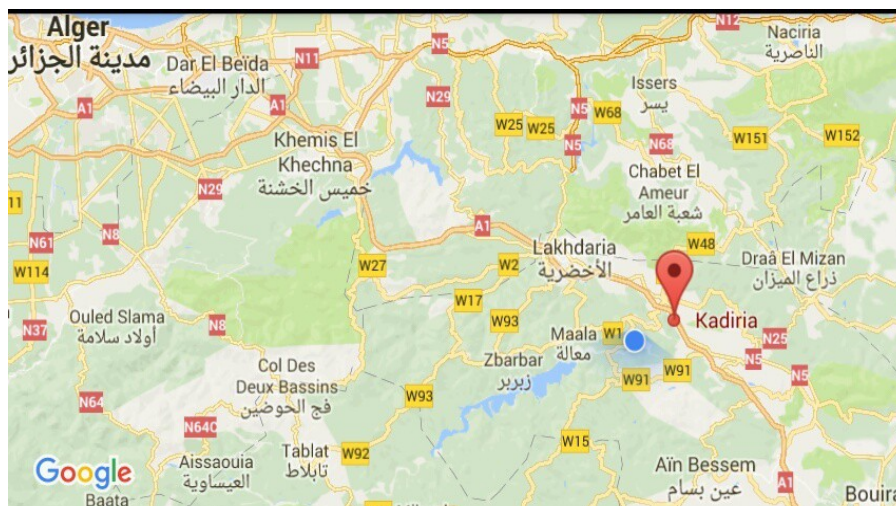
- Une étude physico-chimique des huiles (le laboratoire de physico-chimie de SAIDAL à Dar El-Beida).
- Une étude chromatographique en phase gazeuse (CPG) (le laboratoire de Technologie Alimentaire de l'Institut National Supérieur d' Agronomie « l'INSA »d'El-Harrach).
- Une évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques des huiles d'olives considérées (le laboratoire de physico-chimie de SAIDAL).
- Une évaluation de l'activité antibactérienne au niveau du laboratoire de microbiologie à SAIDAL.
- Une étude de l'indice de réfraction (le laboratoire de biotechnologie des plantes aromatiques et médicinale au département de biotechnologie à l'université de Blida).

## **I Matériel et méthodes**

### **I.1 Matériel**

#### **I.1.1 Matériel biologique**

Le matériel utilisé consiste en trois échantillons d'huile d'olive issus de deux régions de la Wilaya de Bouira (Kadiria et Lakhdaria) (figure N°09).



**Figure 09** : Localisation des régions d'étude (**Google map**).

Le tableau V représente les caractéristiques des échantillons d'huile d'olive.

**Tableau V** : les échantillons de l'huile d'olive.

Les échantillons	Localisation	Temps de stockage	Méthode d'extraction
Huile d'olive1 (HO1)	Kadiria	20 jours	Traditionnel manuel.
Huile d'olive2 (HO2)	Kadiria	20 jours	Traditionnel d'huilerie.
Huile d'olive3 (HO3)	Lakhdoria	20 jours	Moderne.

### I.1.2 Matériel non biologique

Le matériel utilisé dans cette étude représenté par des réactifs, (des produits et appareillages) est représenté en annexes.

- Matériel biochimiques (**annexe 1**).
- Matériel microbiologique (**annexe II**).

## I.2. Méthodes

Dans cette partie, nous décrivons les méthodes d'extraction, les méthodes d'analyses physicochimiques et les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne.

### I.2.1 Les méthodes d'extraction

L'extraction de l'huile d'olive se fait à partir des fruits récoltés pendant la fin de saison de cueillette du fruit du mois de janvier 2017. Le choix a été porté sur des fruits dont le stade de pigmentation avancé pour éviter les autres stades précoces (fruit semi-noire, vert ou rouge) qui pourraient influencer le rendement de production de l'huile et sa conservation.

L'objectif idéal de toutes méthodes d'extraction consiste à produire la plus grande quantité d'huile possible sans altération de sa qualité d'origine.

Selon la méthode adoptée par la région de Kadiria (Ouest de Bouira), les méthodes d'extraction sont classées ainsi :

#### **I.2.1.1 Méthode d'extraction traditionnelle manuelle**

L'échantillon de l'**HO<sub>1</sub>** est extrait par la méthode traditionnelle manuelle :

- Tri et effeuillage : Cette opération a été effectuée manuellement, elle consiste à se débarrasser des rameaux et des feuilles.
- Lavage : On lave les fruites avec l'eau courante pour l'élimination des impuretés.
- Séchage : Les fruites sont lavés séchés sur une paillasse dans un endroit aéré et ensoleillé pour éviter l'humidité.
- Broyage par les pieds : Les fruits sont écrasés par les pieds jusqu'à l'obtention d'une pâte noirâtre onctueuse.
- Extraction de l'huile : On ramasse la pâte onctueuse d'une façon inclinée de l'excipient. Juste après, on remarque la sortie de la 1<sup>ère</sup> huile d'une propriété nette et pure.
- Stockage et conservation : L'huile obtenue a été stockée dans une bouteille en verre bien ferme, elle était gardée au frais (afin d'éviter sa polymérisation) à l'abri de la lumière et l'air (pour éviter l'oxydation).

#### **I.2.1.2 Méthode d'extraction traditionnelle par presse (huile d'olive d'huilerie traditionnelle)**

L'échantillon de l'**HO<sub>2</sub>** étudié est extrait par la méthode traditionnelle par presse.

Après la récolte des olives, six étapes essentielles sont suivies pour extraire l'huile :

- Nettoyage des fruits (défoliation, lavage des olives).
- Préparation de la pâte (broyage et malaxage).
- Répartition des pâtes sur les disques (scourtins).
- Séparation des phases solides (grignon), et liquide (margine et l'huile).
- Séparation de la phase liquide (l'huile et margine).

### **I.2.1.3 Méthode d'extraction classique (huile d'olive d'huilerie moderne)**

L'extraction classique de L'HO<sub>3</sub> comprend cinq opérations principales après la récolte des olives :

- Nettoyage des fruits (défoliation, lavage des olives).
- Préparation de la pâte (broyage et malaxage).
- Séparation des phases solides (grignons) et liquides (margine + l'huile).
- Séparation de la phase liquide (l'huile et margine).

### **I.2.2 Analyses sensorielles**

C'est l'examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens. Il est réalisé par un groupe de dégustateurs ayant fait l'objet d'une sélection et d'un entraînement spécifique, qui se réunissent pour effectuer, sous des conditions contrôlées, l'analyse sensorielle du produit (COI, 2007).

Notre jury était composé de 20 personnes ; 10 travailleurs de huilerie et 10 autres personnes habitant la région de Kadiria et vieux connaisseurs de l'huile d'olive sur le plan organoleptique.

### **I.2.3 Analyses physico-chimiques**

#### **I.2.3.1 Les indices chimiques**

##### **g. Indice d'acide (I.A)**

L'indice d'acide (I.A.) correspond à la teneur en acides gras libres contenus dans l'huile. L'acidité est exprimée en % d'acide oléique.

##### **o Principe**

Cette méthode repose sur la quantité de KOH nécessaire pour neutraliser l'acidité contenue dans 1 g de corps gras (Bereau, 2001).

##### **o Mode opératoire**

Cet indice a été déterminé sur une prise d'essai de 1g d'huile d'olive dissoute dans 50 ml d'éthanol (96% d'alcool). Le mélange a été titré par une solution d'hydroxyde de potassium 0,1 N en présence de phénolphtaléine ([Boulfane et al., 2015](#)).

$$\text{L'acidité (\%)} = \frac{V \times M \times N}{10m}$$

V : Volume de solution de KOH.

M : 56.1, masse Molaire de KOH.

N : Normalité de KOH.

m : Masse en gramme de prise d'essai.

#### **h. Indice de peroxyde (I.P)**

L'indice de peroxyde est une grandeur qui fournit des informations sur la qualité de l'huile ([Abdullah esmail, 2012](#)).

##### **o Principe**

Cette méthode repose sur le traitement d'une prise d'essai en solution dans un mélange d'acide acétique et chloroforme puis l'ajout d'une solution d'iodure de potassium. L'iode libéré par les peroxydes est déterminé visuellement à l'aide d'un indicateur d'amidon et d'une solution étalon de thiosulfate de sodium ([Essiari et al., 2014](#)).

##### **o Mode opératoire**

Faire dissoudre 5g d'huile d'olive dans un mélange de 25 ml d'acide acétique/chloroforme (3:2 V/V), la réaction est déclenché dans l'obscurité en présence de 1ml de la solution saturée d'iodure de potassium (KI). Après 30min de repos, l'iode libéré a été dosé par une solution de thiosulfate de sodium 0,01 N en présence d'empois d'amidon ; Un essai témoin (sans matières grasses) est réalisé dans les mêmes conditions ([Tanouti et al., 2009](#)).

$$\text{IP (meq.O}_2\text{/kg)} = \frac{(V \text{ éch} - V \text{ Blanc}) \times 0.01}{P \text{ huiles}} \times 1000$$

Véch: Volume en ml de la solution thiosulfate de sodium utilisé.

V Blanc : Volume en ml de la solution thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai de blanc.

P : Masse de prise d'essai.

1.1 : Normalité de thiosulfate de sodium.

#### **i. Indice de saponification (I.S)**

L'indice de saponification est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaires à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1g d'huile. Les bases fortes réagissent sur les esters du glycérol selon la réaction suivante (**Pharmacopée européenne, 2008**) :



#### o Principe

La prise d'essai est soumise à une ébullition à reflux avec une solution de KOH, puis titrée par l'acide chlorhydrique (HCl) en présence d'un indicateur coloré (phénolphtaléine).

#### o Mode opératoire

Dans un ballon à fond plat, peser 2g d'huile d'olive, ajouter 25ml de potasse alcoolique (0.5N), et porter à ébullition sous un réfrigérant à reflux pendant 30 min. Titrer dans la solution savonneuse chaude avec de l'acide chlorhydrique (0.5N) en présence de phénolphtaléine. Faire un essai à blanc dans les mêmes conditions (**Pharmacopée européenne, 2008**).

L'indice de saponification est calculé selon (**Benabid, 2009**) :

$$\text{IS} = \frac{(V_0 - V_1) \times 56.1 \times N}{m}$$

V<sub>0</sub> : Volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique (HCL) à 1mol/l pour le titrage du blanc.

V<sub>1</sub> : Volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique (HCL) à 1mol/l pour le titrage d'échantillon.

N : Normalité exacte de la solution chlorhydrique.

m : La masse d'échantillon en gramme.

#### j. Indice d'iode (I.I)

L'indice d'iode est le nombre de grammes de quantité d'halogène exprimé en iode fixe par 100g de corps gras (**Européenne, 2014**).

L'indice d'iode exprime le degré d'insaturation d'un corps gras (**Zovi, 2009**).

#### o principe

Le principe se base sur le titrage, par le thiosulfate de sodium.

### o Mode opératoire

- Préparation de bromure d'iode sous la hôte: Ajouter 0,3g de bromure d'iode dans une fiole de 100ml couverte par du papier aluminium et 15ml d'acide acétique et agiter.
- Dans une fiole à fond plat de 250ml, peser 0.25g d'huile d'olive et la dissoudre dans 15ml de chloroforme.
- Ajouter très lentement 25ml de solution de bromure d'iode dans l'essai, boucher et agiter, placer la fiole à l'obscurité pendant 30min.
- Ajouter 10ml de KI à 100g/l ,100ml d'eau distillée et 5ml d'amidon.

Titrer avec le thiosulfate de sodium à 0.1N jusqu'à disparition de la couleur jaune ([Européenne, 2014](#)).

$$II = \frac{1,269 (V_0 - V_1)}{m}$$

$V_0$  : Volume en millimètre de la solution de thiosulfate de sodium, utilisé pour l'essai à blanc.

$V_1$  : Volume en millimètre de la solution de thiosulfate de sodium, utilisé pour l'échantillon.

$m$  : Masse de l'essai en mg.

### k. Détermination de la teneur en chlorophylle

La chlorophylle est un pigment responsable de la couleur caractéristique de l'huile d'olive, elle est impliquée dans les mécanismes d'auto-oxydation et la photo-oxydation ([Benaziza and D, 2016](#)).

#### o Principe

Le dosage des pigments chlorophylliens a été réalisé selon la méthode décrite par Wolff en 1968 ([Khelif et al., 2000](#)). Elle consiste en une quantification par spectrophotométrie à des longueurs d'onde de 630, 670 et 710 nm.

#### o Mode opératoire

Dissoudre 5ml de l'huile d'olive dans 5ml de tétrachlorure de carbone (CCL<sub>4</sub>). Après homogénéisation, mesurer les absorbances à 670,630 et 710 nm. La teneur en chlorophylle est calculée selon la formule suivante ([Boulfane et al., 2015](#)) :

$$\text{Chl(ppm)} = \frac{\text{DO670} - (\text{DO630} + \text{DO710}) / 2}{0.1086 \times L}$$

Avec:

A 630: Absorbance à 630 nm par rapport à une cuve de référence contenant de tétrachlorure de carbone.

A 670: Absorbance à 670 nm.

A 710: Absorbance à 710 nm.

L: Trajet optique = 1 cm.

0,1086 : Coefficient lié à l'appareil.

### **I. Détermination de la teneur en caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux, Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante ([Boubekri, 2014](#)).

#### **o Principe**

La détermination de la teneur en ces pigments dans l'huile est basée sur une méthode spectrophotométrique, l'absorption se fait à 470 nm.

#### **o Mode opératoire**

Une prise d'essai de 7,5 g d'huile est introduite dans une fiole jaugée de 25 ml qui sera remplie, jusqu'au trait de jauge par du cyclohexane. L'absorbance de la solution obtenue est mesurée par rapport à celle du solvant à 470nm. La teneur en carotènes est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Carotène (ppm)} = (A_{470} \times 25 \times 10000) / (2000 \times 7,5)$$

### **I.2.3.2 Les indices physiques**

#### **a. Indice de réfraction**



L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est déterminé à 20 °C, et rapporté à la raie D du sodium (**Européenne, 2008**).

#### **o Mode opératoire**

Mettre en marche le réfractomètre puis régler la distance entre les oculaires pour avoir une vision nette du réticule et de l'échelle de lecture des indices de réfraction. Déposer ensuite le liquide (huile) en quantité suffisante à l'aide d'une pipette sur la face horizontale du prisme réfractométrique (**Baaziz et al. ,2005**).

#### **b. La densité relative**

La densité relative à 20°C d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C (**Européenne, 2014**).

#### **o Principe**

Avec de densimètre portable, mesurer la masse volumique de nos échantillons.

#### **c. La teneur en eau (humidité%)**

Il consiste à provoquer le départ d'eau par introduction d'une quantité connue d'huile dans une étuve (**[Benaziza and Semad, 2016](#)**).

#### **o Principe**

Basé sur le chauffage d'une prise d'essai dans l'étuve.

#### **o Mode opératoire**

- Sécher un bécher dans une étuve à 105°C pendant 30min puis laisser refroidir dans un dessiccateur et peser le bicher vide.
- Peser 20g d'huile d'olive dans le bécher et la mettre dans une étuve pendant 1h à 105°C.
- Laisser ensuite refroidir dans un dessiccateur puis peser.
- Répéter la même opération jusqu'à obtention d'un poids constant.

La teneur en eau est calculée comme suit :

$$\text{Teneur en eau} = \frac{(m_0 + m_1) - m_2}{m} \times 100$$

$m_0$  : La masse de bécher vide.

$m_1$  : La masse(g) de bécher avec la prise d'essai avant le chauffage dans l'étuve.

$m_2$  : La masse(g) du bécher avec la prise d'essai après le chauffage dans l'étuve.

$m$  : La masse de prise d'essai.

### **m. Absorbance dans l'ultraviolet (UV)**

La stabilité oxydative est un paramètre important pour l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive ([Essiari et al., 2014](#)).

#### **o Principe**

Mesure spectrophotométrique dans un domaine spécifique de longueur d'onde dans l'ultraviolet à 232nm et 270nm, de l'absorbance d'un échantillon en solution.

#### **o Mode opératoire**

Peser 0.1g d'huile d'olive et le dissoudre dans 10ml de cyclohexane et mesurer l'extinction de la solution de matière grasse à 232nm et à 270nm à l'aide d'un spectrophotomètre ([Boulfane et al., 2015](#)).

$$DO = \varepsilon \times l \times C$$

Avec  $\varepsilon$ : le coefficient d'extinction du corps gras considéré.

- Le coefficient d'extinction K232 est calculé selon la formule :  $K232 = A232 / P$ .

Avec A232 : absorbance à 232 nm et P : masse de la prise d'essai.

- Le coefficient d'extinction K270 est calculé de la même manière :  $K270 = A270 / P$ .

Avec A270 : absorbance à 270 et P : masse de la prise d'essai.

### **I.2.4 Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acide gras**

L'analyse par CPG est réalisée selon le protocole adopté par le laboratoire de Technologie Alimentaire de l'Institut National Supérieur d' Agronomie « l'INSA ».

#### **• Préparation des esters méthyliques d'acide gras**

Dans un éprouvette pesé 0.1g d'huile d'olive, ajouter 2ml d'hexane et ajouter 0.2ml de KOH méthanolique (2N), boucher à l'aide du bouchon et agiter énergétiquement pendant

1min. Laissez décanter pendant 15 min, prélevé à l'aide d'une seringue 1ml du surnageant, puis injecter automatiquement 0,2 µl et démarrer la programmation.

Les conditions opératoires pour les esters méthyliques sont résumées dans le tableau VI.

**Tableau VI** : Conditions chromatographiques pour les esters méthyliques.

Chromatographe	Chrompack CP 9002
Détecteur	FID (250°)
Injecteur	SPLIT 1/100 (250°C)
Gaz vecteur	Azote
Colonne capillaire	Cp Sil 88 CB (5%phényle+95% dimethylpolysiloxane)
Longueur	30 m
Diamètre intérieur	0.32 mm *0.25 UM
Epaisseur	0.25 µm
Injecteur	250°C
Détecteur	280°C
Four	190°C
Quantité injectée	0.8 µl
Vitesse du papier	0.5 cm/mn

## I.2.5 Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive

### I.2.5.1 Extraction liquide-liquide des composés phénoliques d'huile d'olive

Pour extraire les composés phénoliques de l'huile d'olive, nous avons adopté le protocole de **Pirisi et al. (2000)**. Peser 20g d'huile d'olive dans un tube et ajouter 10ml de n-hexane et 20ml de méthanol à 60%, après homogénéisation, centrifugé pendant 5min à 3000 tpm. Le surnageant de la phase méthanolique contenant le poly phénolest récupéré.

L'opération est répétée deux fois afin d'épuiser l'huile. Les surnagants ont été réunis et évaporés dans un étuve sous vide à 40°C jusqu'à l'obtention d'un résidu sec, récupérer ce résidu dans 10ml de méthanol à 50% (**Merouane et al., 2014**).

Le rendement de l'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (m - m_0) \times 100 / m_T$$

m : Masse de bécher après l'évaporation.

m<sub>0</sub> : Masse de bécher avant l'évaporation

m<sub>T</sub> : Masse total de prise d'essai.

### I.2.5.2 Dosage des composés phénolique

#### a) Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Une préparation de cinq concentrations d'acide gallique allant de 0 à 1 mg /ml a été réalisée à partir de la solution mère de 2 mg/ml de concentration (voire la courbe d'étalonnage des composés phénoliques en **annexe III**).

#### **b) Analyse de standard et l'extrait**

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu ([Yemeda et al., 2014](#)).

200 µl de l'extrait additionné de 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois), après ajouter 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Mélanger et incuber 30min à l'obscurité à T° ambiante. L'absorbance de l'extrait est mesurée à 760nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre ([Bougandoura and Bendimerad, 2013](#)).

#### **c) Expression des résultats**

La quantification des polyphénols a été rapportée en équivalent d'un milligramme de l'acide gallique (EAG) /g ([Kadri et al., 2015](#)).

#### **I.2.5.3 Test de la réduction de fer FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

Le pouvoir relecteur du fer (Fe<sup>+3</sup>) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par **Pulido et al. (2000)**.

250µl de l'extrait à différentes concentration (de 62.5µg /ml, 125µg/ml, 250µg/ml, 500µg/ml) est mélangé avec 250µL d'une solution tampon phosphate 0.2M (pH 6.6) et 250µl d'une solution K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%. Incuber le tout au bain Marie à 50°C pendant 20min, puis ajouter 250µl de TCA à 10%, les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Après centrifugation, on prend 50µl de surnageant, les combiner avec 200µl de l'eau distillée et 10µl d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 0.1%. La lecture de l'absorbance se fait à 700nm contre un blanc ([Goncalves et al., 2013](#)).

#### **I.2.5.4 Analyse statistiques**

Les résultats de l'activité anti oxydante ont été analysés à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2007. Le test de comparaison Khi-deux ( $\chi^2$ ) a été utilisé.

La différence est considérée comme significative si la probabilité (p) est inférieur au risque  $\alpha$  (p < 0.05).

#### **I.2.6 Evaluation de l'activité antimicrobienne**

L'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la technique de diffusion en milieu gélosé ([Bouزيد et al., 2011](#)). Les souches microbiennes utilisées sont : quatre souches bactériennes et une levure (tableau VII) qui se trouve au niveau de laboratoire microbiologique de SAIDAL.

**Tableau VII:** Les souches de référence utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles.

Souches bactériennes	Code de la souche
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

ATCC: American type of culture collection ([Européenne, 2014](#)).

### o Principe

La technique consiste à utiliser des disques en papier absorbants de 9 mm, imprégnés d'une quantité d'extrait et déposés à la surface d'une gélose inoculée et uniformémentensemencée par la suspension bactérienne à étudier. La diffusion de l'extrait dans la gélose, permet d'avoir comme résultat positif une zone d'inhibition après incubation. La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibitions, obtenues pour chacune des souches ([Européenne, 2002](#)).

### o Mode opératoire

Selon la fiche technique de SAIDAL (2002), l'activité antibactérienne est réalisée comme suit :

#### a. Repiquage des souches

Les souches utilisées ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie du complexe SAIDAL, elles sont conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 10ml de milieu de culture incliné. A partir de ces tubes à essai, un repiquage a été réalisé et les milieux sont incubés à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.

### **b. Préparation des milieux de culture**

Pour préparer le milieu Muller Hinton, suspendre 36 g de poudre de ce milieu dans un litre d'eau distillée, chauffer jusqu'à la dissolution totale, et pour le milieu 11 (antibiotique agar no.11), suspendre 30.5g dans un litre d'eau déminéralisée et en chauffant dans un bain d'eau bouillants ou dans un courant de vapeur.

Autoclaver les milieux à 121°C pendant 15min. Sous une hotte à flux laminaire, le milieu de culture gélosé est coulé en surfusion dans des boîtes de pétri stérile à raison de 15ml par boîte. Chaque boîte de pétri doit être étiquetée.

### **c. Préparation des suspensions bactériennes (l'inoculum)**

A partir d'une culture jeune, de 18 à 24h pour les bactéries et 48h pour les levures, des suspensions bactériennes, sont réalisées en prélevant quelques colonies isolées, qui seront ensuite, mises dans 10ml d'eau physiologique, ces suspensions, sont agitées aux vortex.

### **d. Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube.

L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées et en tournant la boîte.

A l'aide d'une pince stérile, un disque stérile absorbant de 9mm est prélevé. Il sera imbibé dans l'huile d'olive, par simple contact du bout du disque et l'huile, Celui-ci, est absorbé progressivement jusqu'à imprégnation totale de tout le disque.

Les disques sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24h à 37°C.

### **e. Lecture des résultats**

L'huile d'olive possède une activité antimicrobienne, si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu après incubation, dépasse le diamètre du disque absorbant([Djinane et al., 2012](#)).

Les diamètres des zones d'inhibitions, sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse.

La sensibilité des bactéries cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des zones d'inhibition : Ø 8mm : bactérie non sensible ; 9<Ø<14mm : bactérie

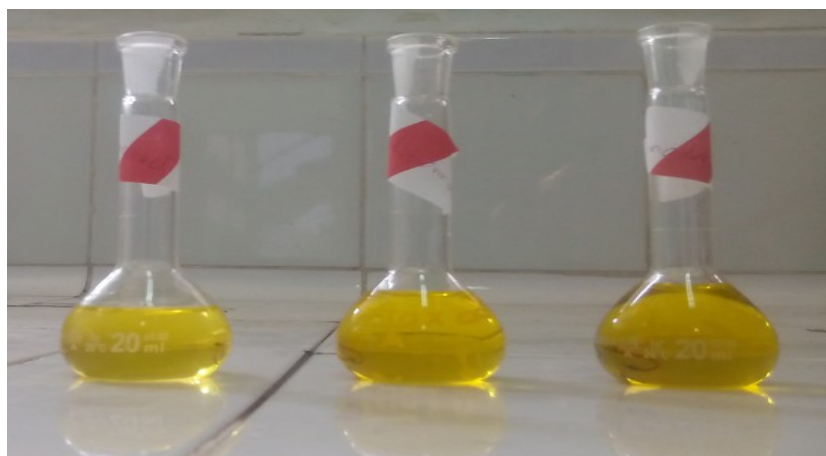
sensible ; 15∅19mm : bactérie très sensible et ∅20mm : bactérie extrêmement sensible ([Djinane et al., 2012](#)).

## I Résultats et discussion

### I.1 Tests organoleptiques et analyse physico-chimiques

#### I.1.1 Testes organoleptiques

Chaque huile d'olive possède des caractéristiques organoleptiques spécifiques, ces caractéristiques portent sur l'étude de l'odeur, de la saveur et la couleur. La figure N°10 représente la couleur de l'huile d'olive de trois types d'extraction : manuel, traditionnel, et moderne.



**Figure 10** : Différents échantillons des huiles d'olives.

A : HO manuelle, B : HO traditionnelle, C : HO moderne

Les caractéristiques organoleptiques de nos échantillons démontrent une intensité de la couleur jaune pour l'huile d'olive traditionnelle manuelle, et la couleur verdâtre pour l'huile d'olive d'huilerie traditionnelle et moderne, une saveur bonne et odeur acceptable pour les trois types des huiles (tableau VIII).

**Tableau VIII**: Caractéristiques organoleptiques de trois types d'huiles d'olives

<b>Qualité organoleptique</b>			
<b>Huile d'olive</b>	<b>Saveur</b>	<b>Odeur</b>	<b>Couleur</b>
Manuelle	Bonne	Bonne	Jaune
Traditionnelle	Bonne	Acceptable	Verdâtre
Moderne	Bonne	Acceptable	Verdâtre

## **I.2 Analyses physico-chimiques**

### **I.2.1 Indices chimiques**

#### **a. Indice d'acidité**

Nos résultats indiquent des pourcentages d'acidité de 1.4%, 0.9%, 0.8% pour l'huile d'huilerie moderne, l'huile d'olive d'huilerie traditionnelle et l'huile traditionnelle manuelle respectivement (figure N°11).

**Figure 11** : Acidité des trois types d'huile d'olive.

Les résultats obtenus pour les trois types d'huile d'olive sont conformes aux normes du Conseil Oléicole International (COI, 2015) a permis de classer l'huile d'olive traditionnel manuelle comme huile d'olive vierge extra, l'huile d'olive d'huilerie traditionnelle et l'huile d'huilerie moderne comme huiles d'olives vierges.

L'acidité libre est un facteur de qualité de l'huile d'olive. En effet, l'acidité élevée induit une oxydation qui se traduit par un rancissement de l'huile dû à la dégradation des acides gras insaturés (acide oléique, linoléique) et à la production de composé secondaire d'oxydation (Meftah et al., 2014). Pour produire une huile à faible acidité, il est nécessaire de triturer les olives saines, rapidement après récolte (Afidol, 2017).

Des facteurs affectant défavorablement la qualité d'une huile peuvent être en cause: moisissures, fermentations, maturité trop élevée, et mouche de l'olive (Afidol, 2017).

#### **b. Indice de peroxyde (IP)**

L'examen de l'indice de peroxyde des huiles étudiées a permis de montrer qu'elles ont des valeurs de 17.17mécq d'O<sub>2</sub>/Kg pour l'huile d'huilerie traditionnelle, 15.38mécq d'O<sub>2</sub>/Kg de l'huile traditionnelle manuelle et 16.66mécq d'O<sub>2</sub>/Kg de l'huile d'huilerie moderne (figure 12).

**Figure 12** : Indice de peroxyde de l'huile d'olive.



Les valeurs de l'indice de peroxyde de nos échantillons d'huile sont comprises entre 15.38 et 17.17 méq d'O<sub>2</sub>/Kg. Elles étaient conformes aux normes du ([Alimentarius, 1981](#)), et ([COI, 2015](#)) qui recommande une teneur en peroxyde inférieur à 20 méq d'O<sub>2</sub>/Kg.

L'indice de peroxyde détermine l'oxydation initiale de l'huile d'olive dans une analyse de qualité, l'huile d'olive s'oxyde lorsqu'elle entre en contact avec l'air, la lumière et la chaleur. Plus la température est élevée plus l'oxydation est augmentée ([Calligra and al, 2006](#)).

### c. Indice d'iode

Selon la figure N°13, la valeur de l'indice d'iode enregistrée pour l'huile d'olive traditionnelle manuelle est de 83,93 suivie par l'huile d'olive d'huilerie traditionnelle avec 83,75, et enfin l'huile d'olive d'huilerie moderne avec 79,18.

#### Figure 13: Indice d'iode de l'huile d'olive

Les valeurs de l'indice d'iode des trois huiles d'olive sont conformes aux normes du Codex ([Alimentarius, 1981](#)), et le conseil oléicole international ([COI, 2015](#)) avec un taux de saturation élevé par rapport aux autres huiles végétales comme l'huile de tournesol, d'arachide, et de soja.

L'huile d'olive d'huilerie traditionnelle et l'huile traditionnelle manuelle ont un indice d'iode plus élevé que celui de l'huile d'huilerie moderne à cause de sa richesse en acides gras insaturés.

### d. Indice de saponification

Nos résultats indiquent des valeurs respectives de l'indice de saponification de 196.7, 193.75, 192.77 pour l'huile d'olive traditionnelle manuelle, l'huile d'olive d'huilerie moderne et l'huile d'olive d'huilerie traditionnelle (figure 14).

#### Figure 14: Indice de saponification de l'huile d'olive

La détermination de l'indice de saponification permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne de la chaîne grasse auxquels il est inversement proportionnel (plus le poids moléculaire et la longueur moyenne de la chaîne grasse élevée plus l'indice de saponification est faible).

Les valeurs obtenues concernant l'indice de saponification appartiennent aux normes du [COI \(2015\)](#). L'huile d'olive traditionnelle manuelle a un indice de saponification plus élevé que celui de l'huile d'huilerie traditionnelle et l'huile d'huilerie moderne à cause de sa richesse en acides gras à courtes chaînes.

### e. Indice de chlorophylle

Les résultats obtenus pour cet indice sont indiqués dans la figure N°15 :

**Figure 15** : Teneur en chlorophylle exprimé en ppm.

Les résultats obtenus pour nos échantillons montrent que les teneurs en chlorophylles des huiles testées sont variables. La quantité la plus élevée est enregistrée pour l'huile d'huilerie moderne (2.03 ppm) et la plus faible valeur chez l'huile traditionnelle manuelle (0,24 ppm) et l'huile d'huilerie traditionnelle (0.41 ppm). La concentration en chlorophylles peut dépasser 80mg/kg pour des huiles obtenues à partir d'olives en stade précoce de maturité, pour chuter à des valeurs d'environ 2mg/kg lorsque le fruit est bien mûr ([Tanouti et al., 2011](#)).

Nos résultats sont semblables à ceux rapportés dans la région de la Chaouia de Maroc ([Boulfane et al., 2015](#)).

La teneur en chlorophylle dépend de la zone de production, le sol, les conditions climatiques, le degré de maturation, de type d'olive, et la durée de stockage ([Benaziza and Semad, 2016](#)).

### f. Détermination de la teneur en caroténoïdes

Les teneurs en caroténoïdes de l'huile d'olive obtenues à l'absorbance 470nm sont représentées dans le tableau IX.

**Tableau IX** : Teneur en caroténoïde de trois types d'huile d'olive exprimé en  $\beta$ - carotène en mg/kg.

Huile d'olive Caroténoïde	Traditionnelle manuelle	D'huilerie traditionnelle	D'huilerie moderne
Absorbance	0.4218	0.3925	0.4575
Teneur en caroténoïde	7.03	6.54	7.62

Les teneurs en caroténoïde de nos échantillons sont comparables à celle de ([Tanouti et al., 2011](#)).

Les carotènes sont des substances chimiques naturelles impliquées dans le mécanisme d'oxydation de l'huile et retardent le phénomène de photo-oxydation ([Bougherara Merzougui, 2015](#)). Des recherches ont démontré que les pigments caroténoïdes sont

facilement dégradés en présence de la lumière et de la température élevée ([Benrachou, 2013](#)), et liées au degré de maturité des olives ([Tanouti et al., 2011](#)).

## I.2.2 Indices physiques

### a. Indice de réfraction

Les valeurs de l'indice de réfraction pour les trois types d'huiles d'olives sont résumées dans le tableau X.

**Tableau X :** Indice de réfraction de trois types d'huile d'olive.

Huile d'olive HO	HO traditionnel manuelle	HO d'huilerie traditionnel	HO d'huilerie moderne
Indice de réfraction	1.468	1.4865	1.468

D'après les résultats obtenus de l'indice de réfraction, nous pouvons dire que l'huile d'huilerie moderne et l'huile traditionnelle manuelle sont conformes aux normes du Codex ([Alimentarius, 1981](#)) sauf pour l'huile d'olive d'huilerie traditionnelle qui a dépassé les normes (1,4677-1,4705).

L'indice de réfraction est un paramètre qui indique le degré d'insaturation des acides gras entrant dans la composition des matières grasses. Un indice de réfraction élevé permet de conclure à la présence de doubles liaisons ([Baaziz et al., 2005](#)).

### b. Teneur en eau

La teneur en eau pour l'huile d'olive manuelle est de 0.1%, l'huile d'olive traditionnelle 0.095% et l'huile d'olive moderne est 0.0674%.

L'eau et les substances volatiles sont déterminées par les pertes de poids de l'échantillon chauffé à 103°C pendant un temps suffisant pour permettre l'élimination totale de l'eau et des produits volatiles.

### c. La densité relative à 20°C

Les résultats de la densité relative sont représentés dans le tableau XI.

**Tableau XI:** Densité de nos échantillons d'huile d'olive

Huile d'olive	Traditionnelle manuelle	D'huilerie traditionnelle	D'huilerie moderne
Densité	0,9137	0,9143	0,9137

Les valeurs obtenues pour la densité de nos échantillons sont conformes aux normes du Codex ([Alimentarius, 1981](#)).

La densité des huiles est fonction de l'insaturation mais aussi de l'état de leur oxydation, plus elle augmente plus l'huile est oxydée ([Sekour, 2012](#)).

#### **d. L'absorbance dans l'ultraviolet**

Les résultats obtenus pour l'extinction spécifique E270, E232 pour les trois huiles sont représentés dans la figure 17 :

**Figure 16:** Absorbance par spectrophotomètre à 232nm et 270nm.

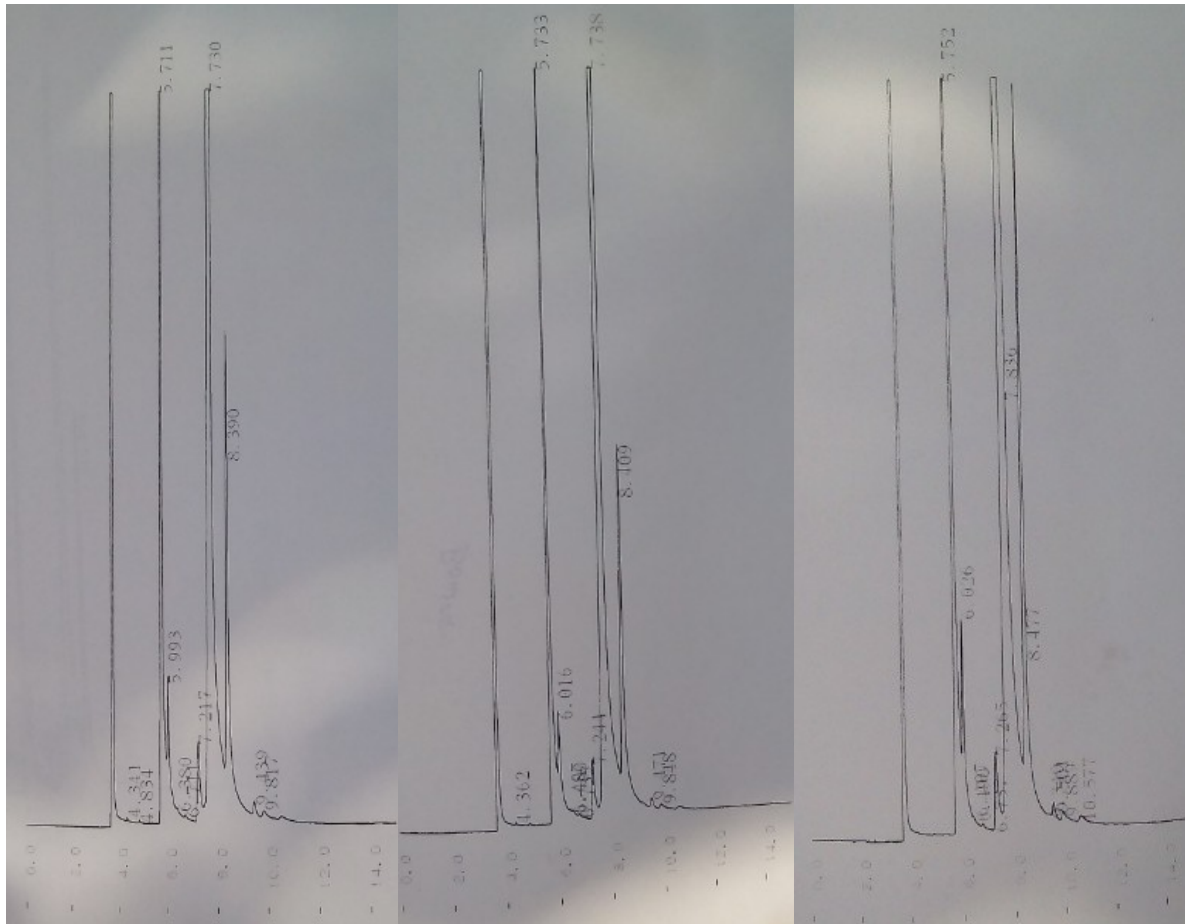
L'extinction spécifique à 232 nm et à 270 nm de nos échantillons sont dans les normes selon le (COI, 2015).

L'extinction spécifique d'un corps gras considérée comme une image de son état d'oxydation. Plus son extinction à 232nm est forte, plus il est peroxydé ; plus celle-là à 270 nm est forte, plus il est riche en produits secondaires d'oxydation ([Abdullah esmail, 2012](#))

### **I.3 Caractérisation spectrale**

#### **I.3.1 Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) des esters méthyliques d'acides gras.**

Les résultats obtenus sur les 03 échantillons (figure 18)montrent que la composition en acides gras des huiles d'olive analysées est variable, le pic le plus intense est attribué à l'acide palmitique (C16 :0), suivi par celui de l'acide palmitoléique (C16 :1 $\omega$ 7), l'acide margarique (C17 :0), l'acides stéarique (C18 :0), l'acides oléique (C18 :1), l'acides linoléiques (C18 :2 $\omega$ 6), l'acide linoléinique ( C18 :3 $\omega$ 3), l'acide arachidique (C20 :0), et l'acide gondoïque (C20 :1 $\omega$ 9).



**Figure 17 :** Chromatogramme de trois types d’huile d’olive.

a : Chromatogramme de HO d’huilerie traditionnelle

b : Chromatogramme de HO d’huilerie moderne,

c : Chromatogramme de HO traditionnelle manuelle.

La composition en acide gras de l’huile d’olive est représentée dans le tableau suivant :

**Tableau XII :** Composition en acides gras de l’huile d’olive en (%)

Acide gras	Dénomination	Echant. D’Huilerie Moderne	Echant. Huile traditionnelle manuel	Echant. D’huilerie traditionnelle
C16 :0	Acide palmitique <sup>x</sup>	17.68 %	16.87 %	17.61 %

C16 :1 $\omega$ 7	Acide palmitoléique <sup>xx</sup>	3.80 %	4.26 %	3.64 %
C17 :0	Acide margarique <sup>x</sup>	0.33 %	Trace	0.42 %
C18 :0	Acide stéarique <sup>x</sup>	2.11 %	1.67 %	2.10 %
C18 :1 $\omega$ 9	Acide oléique <sup>xx</sup>	60.87 %	62.39 %	61.89 %
C18 :2 $\omega$ 6	Acide linoléique <sup>xxx</sup>	13.33 %	14.11 %	13.43 %
C18 :3 $\omega$ 3	Acide linoléique <sup>xxx</sup>	0.98 %	0.20 %	0.28 %
C20 :0	Acide arachidique <sup>x</sup>	0.20 %	0.25 %	0.20 %
C20 :1 $\omega$ 9	Acide gondoïque <sup>xx</sup>	Trace	0.21 %	Trace

<sup>x</sup>: acide gras saturé, <sup>xx</sup>: acide gras mono insaturé, <sup>xxx</sup>: acide gras polyinsaturé.

Les résultats de l'analyse CPG réalisée sur l'échantillon de l'ester éthylique d'acide gras des huiles d'olive issues des trois types d'extraction indiquent des teneurs en différents acides gras répondant à la norme établie par le Codex ([Alimentarius, 1981](#)) sauf pour l'acide palmitoléique qui détient un pourcentage plus élevé que la norme (  $\approx$  3.5) et qui est observé au cours de la croissance et de la maturation de l'olive

L'huile d'olive est composée majoritairement d'acide palmitique, stéarique, oléique, et linoléique et l'acide linoléique. L'acide linoléique et l'acide linoléique sont appelés acides gras essentiels indispensables à la croissance et à l'activité physiologique de tous les tissus. Et ils interviennent dans la régulation des troubles cardio-vasculaires. L'augmentation du rapport acides gras insaturés /acides gras saturés confère à l'huile d'olive une plus grande stabilité à l'oxydation ([Benziza and Semad, 2016](#)).

Les variations dans la composition en acides gras de l'huile d'olive dépendent essentiellement des variétés, du climat, et du degré de maturation ([Benziza and Semad, 2016](#)).

## I.4 Evaluation de l'activité antioxydante

### 1.4 .1 Rendement en polyphénols

Après extraction, les résultats du rendement en polyphénols sont répertoriés dans le tableau XIII.

**Tableau XIII** : Rendement en polyphénols de trois huiles d'olive.

Type d'huile	Rendement (R%)
HO traditionnelle manuelle	11.55%
HO d'huilerie traditionnelle	6.45%

HO d'huilerie moderne	6.55%
-----------------------	-------

D'après nos résultats, le meilleur rendement est celui noté pour l'huile d'olive traditionnelle manuelle (11.55%), suivie par l'huile d'olive d'huilerie moderne (6.55%) et l'huile d'olive d'huilerie traditionnelle (6.45%).

#### 1.4.2 Dosage quantitative

Le dosage des composés phénoliques nécessite préalablement l'établissement d'une courbe d'étalonnage, en utilisant l'acide gallique comme étalon (**annexe I**), les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de la gamme étalonnage établi avec l'acide gallique ([Kadri et al., 2015](#) ; [Boubekri, 2014](#)).

Les valeurs obtenues sont montrées dans le tableau IVX:

**Tableau IVX:** Absorbance et concentration de l'extrait phénolique.

Huile d'olive	Longueur d'onde	absorbance	La concentration en mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait.
HO traditionnelle manuelle.	760nm	0.3518	0.528± 0,124
HO d'huilerie traditionnelle.	760nm	0.3289	0.496± 0,118
HO d'huilerie moderne.	760nm	0.2944	0.447 ± 0,107

D'après ces résultats, la teneur en extraits phénoliques de l'huile d'olive traditionnelle manuelle (0.528mg/g) et d'huilerie traditionnelle (0.496mg/g) est plus élevée que la teneur de l'extrait d'huile d'olive d'huilerie moderne (0.447mg/g).

D'une part, ces résultats corroborent avec les travaux antérieurs de **Haddam et al. (2014)** qui ont montré que la concentration de phénols totaux de l'huile d'olive de Maroc la période de 2008 à 2010 varie entre 106 et 478 mg/kg.

Ceci est bien en accord avec les valeurs trouvées dans la littérature par **Maestro et al. (1994)**, qui ont rapporté que la concentration en phénols totaux dans l'huile d'olive varie entre 100 et 800mg/kg ([Haddam et al., 2014](#)).

De ce fait, le contenu polyphénolique peut être attribué à plusieurs facteurs ([Laribi, 2015](#)) :

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux, la région, variété d'olive et la maturité.
- ✓ La période de récolte, système d'extraction de l'huile, condition d'extraction.

### 1.4.3 Test de la réduction de fer (FRAP)

Par ce test, on évalue la capacité d'un composé à transformer le  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ . La figure N° 19 et la figure N°20 montrent les résultats du test de réduction de fer.

**Figure 18 :** Pouvoir réducteur des extraits phénoliques et de standard.

Le pouvoir antioxydant par la réduction de fer ferrique des extraits phénoliques d'huile d'olive a été évalué à une concentration de (62.5µg/ml, 125µg/ml et 250µg/ml, 500µg/ml). Le pouvoir réducteur de l'extrait d'huile d'olive traditionnelle manuelle (DO maximale =0.91 à la concentration de 500µg/ml) et d'huilerie traditionnelle (DO maximale = 0.7672 à la concentration 500µg/ml) est largement supérieur par rapport à l'extrait d'huilerie moderne (DO =0.54 pour la même concentration 500µg/ml), mais il est nettement supérieur à celui d'acide ascorbique (DO = 0.4022 à 500µg/ml).

De ces figures, nous ne pouvons pas comparés directement les courbes et les histogrammes données par la cinétique des composés contenus dans les extraits. Pour cela, on a introduit le paramétré  $PR_{0.5}$  qui permet de la comparer selon la concentration pour laquelle le produit de la réduction donne une absorbance de 0.5 ([Kebbab, 2014](#)).

**Tableau VX :** Concentrations des extraits phénoliques et acide ascorbique à DO=0.5.

Echantillon	Concentration donnant une DO=0.5 à 700nm (µg/ml).
Acide ascorbique (standard)	767
Extrait phénolique d'HO1	60.1
Extrait phénolique d'HO2	190.8
Extrait phénolique d'HO3	426.55

la concentration la plus faible correspond à l'activité la plus importante ([Kebbab, 2014](#)). Donc HO1 possède une meilleure réduction par une concentration plus faible 60.1µg/ml à DO=0.5.



Dans ce test, la présence des réducteurs dans les extraits provoque la réduction de Fe<sup>3+</sup>/ complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe<sup>2+</sup> peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm ([Remila, 2015](#)).

La réduction du fer est une analyse rapide de l'activité antioxydante, reproductible et facile à exécuter. Le pouvoir réducteur est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques (noyau) qui peuvent servir comme donneur d'électron. Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydant potentielle ([Bougandoura et Bendimerad, 2013](#)).

La différence entre l'activité antioxydante des trois types d'huiles d'olive et l'acide ascorbique n'est pas statistiquement significative ( $p \geq 0.05$ ).

### I.5 Evaluation de l'activité antibactérienne

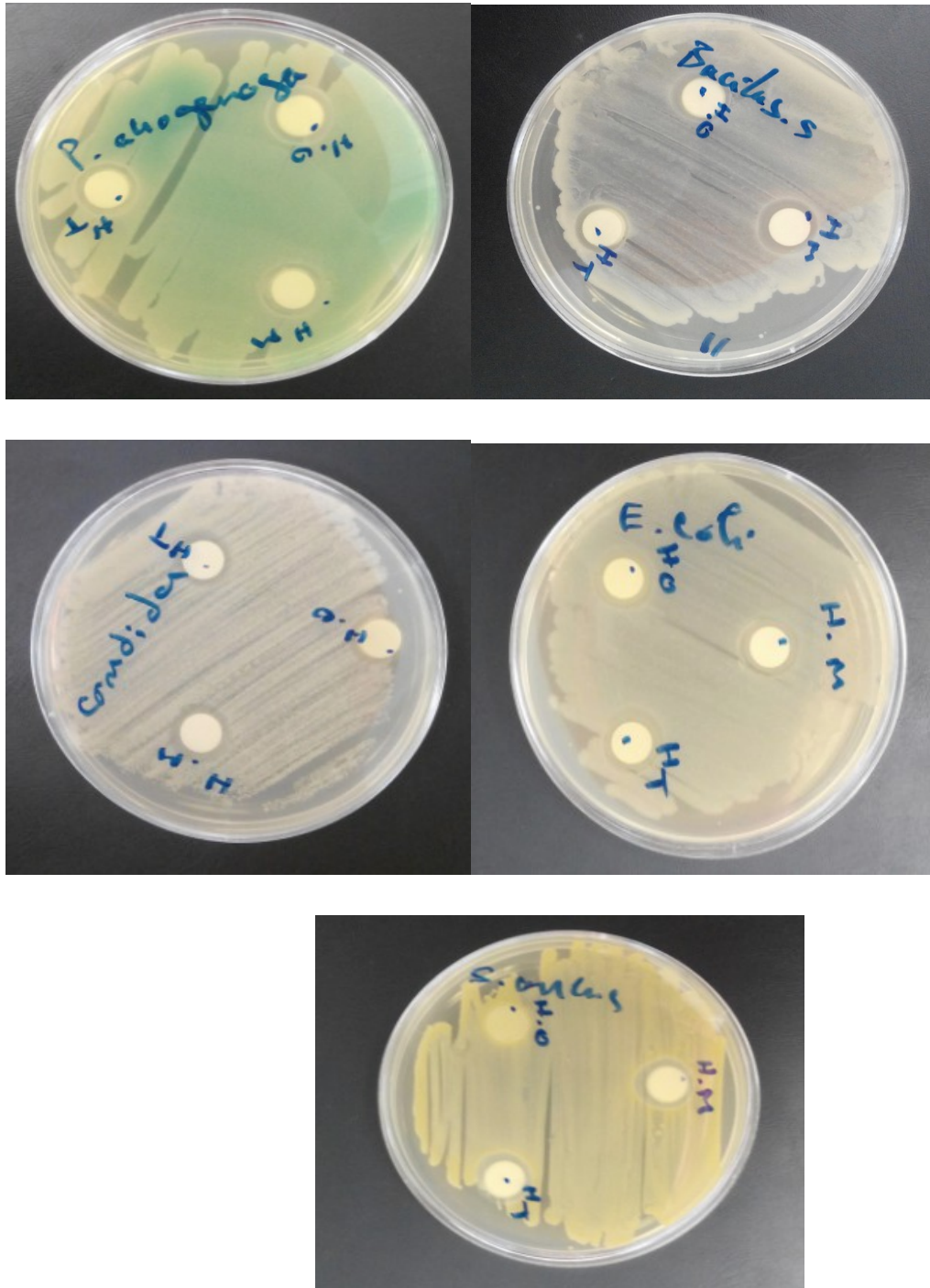
Les résultats des diamètres des zones d'inhibition des différentes huiles d'olive testées sur la gamme des bactéries pathogènes sont représentés dans le tableau XIX.

**Tableau XIX :** Diamètre (mm) des zones d'inhibition des différentes huiles d'olive.

Huile d'olive Bactéries	Gram	Traditionnelle manuelle	D'huilerie traditionnelle	D'huilerie Moderne
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	14.31mm	13.59mm	Ø
<i>Bacillus-subtilis</i>	+	14.04mm	13mm	12.07mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	14.84mm	12.81mm	13.07mm
<i>Escherichia coli</i>	-	14.23mm	13.92mm	13.84mm
<i>Candida albicans</i>	/	14.52mm	13.37mm	12.42mm

Ø : pas d'inhibition.

Les trois types d'huile d'olive ont montré une activité antibactérienne modérée avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 12.07 jusqu'à 14.84 mm, comme démontré dans la figure N°19.



**Figure 19 :** Résultats des diamètres des zones d'inhibition de l'huile d'olive testé sur les microorganismes pathogènes étudiés.

A : *Pseudomonas aeruginosa* B : *Bacillus-subtilis*

C: *Candida albicans*D: *Escherichia coli*.E: *Staphylococcus aureus*

Au regard de ces résultats, nous avons observé que l'huile d'olive possède une activité antibactérienne sur plusieurs souches.

L'huile d'olive d'huilerie moderne s'est avérée inactive contre *Staphylococcus aureus*, cette bactérie possède un potentiel de résistance très élevé.

Le test de sensibilité des souches a permis de montrer la présence d'une activité antibactérienne ([Toty et al., 2013](#)), cette sensibilité peut être reliée à la présence des composés phénoliques tel que les tannins, et les flavonoïdes comme la quercétine qui sont des substances antibactériennes importantes ([Athamena et al., 2010](#)).

Si on compare nos résultats à ceux rapportés par ([Bouhdid et al., 2006](#)) qui ont montré que les huiles essentielles de *Corydothymus capitatus* et *Thymus vulgaristhymoliferum* ont une activité antibactérienne très élevée pour les souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus* et *B. subtilis*) et une faible activité pour *Ps.aeruginosa*, ainsi, nous pouvons conclure que l'huile d'olive possède une activité antibactérienne moyenne.

L'huile d'olive occupe une position unique parmi les huiles alimentaires, en raison de son arôme délicat, de sa stabilité et de ses bienfaits sur la santé.

L'objectif de ce travail était une contribution à la caractérisation physicochimiques de trois types d'huiles d'olive provenant de deux régions (Kadiria et Lakhdaria) de la Wilaya de Bouira, ainsi que la caractérisation spectrale (CPG), l'évaluation de l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne.

L'analyse des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olive a montré qu'elles sont conformes aux normes internationales. Les valeurs d'acidité compris entre 0.8 et 1.4 % ont permis de les classer en huiles d'olive vierges pour les huiles d'olive d'huilerie traditionnelle et moderne, et extra vierge pour l'huile traditionnelle manuelle.

La conformité de l'indice de peroxyde des trois types d'huile confère la stabilité oxydative des huiles d'olive.

L'analyse par CPG a révélé que l'huile d'olive traditionnelle manuelle et l'huile d'huilerie moderne sont très riches en acide gras palmitoléique. De plus les trois types d'huiles sont riches en acides gras linoléiques et linoléiques qui sont indispensables à l'alimentation humaine.

Les pourcentages de tous les acides gras obtenus pour les trois types d'huiles, sont dans les normes de COI sauf l'acide palmitoléique pour l'huile traditionnelle manuelle et d'huilerie moderne qui est très élevé par rapport à l'huile d'huilerie traditionnelle.

Les résultats de dosage des poly phénols montrent que les trois types d'échantillons ont des teneurs en poly phénol comparables.

Les résultats de l'activité antioxydante pour les types d'huile d'olive et l'acide ascorbique ont des activités comparables.

Les résultats pour l'activité antibactérienne indiquent que l'huile d'olive a une activité antibactérienne sur plusieurs souches microbiennes.

En effet, nos perspectives se résument comme suit :

- Une recherche sérieuse d'une meilleure exploitation de cette huile dans les domaines pharmaceutiques, et en technologie Agro-alimentaire.
- L'étude de l'activité anti inflammatoire de l'huile.
- La caractérisation encore plus fine des huiles d'olive de différentes origines en employant d'autres méthodes spectroscopiques, comme la Résonance

Magnétique Nucléaire (RMN), l'infra rouge (IR) et la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).

- L'étude de l'évolution de la qualité des huiles d'olive au cours de chauffage par l'emploi de différentes méthodes analytiques et spectroscopiques, dans le but d'étudier leurs effets sur la prévention sanitaire.

## Références bibliographiques

- Abdelaziz, B., Djamila, S., 2016. Oleiculture: Caractérisation De Six Variétés D'olives Introduites Dans Le Sud-Est Algérien. *European Scientific Journal*, ESJ, 12.
- Abdullah, F., Mohammed, E., 2012. Modélisation de la répartition du transfert des métaux lourds et des oligoéléments dans les sols forestiers, l'huile d'argan et dans les différentes parties d'arganier.
- Alileche, K., 2014. analyse des caractéristiques physicochimiques et de l'activité antimicrobienne et des antioxydants des figues seches seules et imprégnées dans l'huile d'olive, *Sciences Agronomiques*. BLIDA1, p. 202.
- Alimentarius, C., 1981. Normes Codex Stan 108-1981 pour les eaux minérales naturelles modifiées en juin 1997 et juillet 2001. Geneve, Suisse.
- Association Française Interprofessionnelle de l'Olive Comité Economique agricole de l'Olivier 2017. Acidité de l'huile d'olive.
- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., Khebri, S., 2010. Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal* 11, 69-81.
- Avenard, V., 2008. L'olivier et les vertus thérapeutiques de ses feuilles.
- Baaziz, C., Baghouil, N., Guffens, N., Geerts, J., Sternotte, V., Stassin, M., Theys, A., 2005. Les matières grasses : Anges ou démons. Université Catholique de Louvain, 23.
- Belkacem, S., 2012. Phytoprotection de l'huile d'olive vierge (HOV) par ajout des plantes végétales (thym, ail, romarin). Université M'hamed Bougara de Bumerdès.

- Benabid, H., 2009. Caractérisation de l'huile d'olive Algérienne Apports des méthodes chimométriques, Technologies Agro-Alimentaires. Mentourie de Constantine, p. 139.
- Benaziza, A., Semad, D., 2016. Oleiculture : Caractérisation De Six Variétés D'olives Introduites Dans Le Sud – Est Algérien. European Scientific 12, 537-553.
- Benlemlih, M., Ghanam, J., 2012. Polyphénols d'huile d'olive, trésors santé. Macro-pietteur éd., Embourg (Belgique).
- Benrachou, N., 2013. Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien, Biochimie. Badji Mokhtar Annaba, p. 85.
- Bereau, D., 2001. huiles et fractions insaponifiables de huit espèces de palmiers amazoniens., sciences des agroressources. l'institut national polytechnique de toulouse, p. 131.
- Bolmont, R., Buessler, L., Jaubert, J., et le Chantier BT de l'ICEM., 2015. L'olivier. BT Féveier 1998, p. 19.
- Boubekri, C., 2014. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques, Sciences de la matière. Mohamed Khider – Biskra, p. 160.
- Bougandoura, N., Bendimerad, N., 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Nature & Technology, 14.
- Bouguerne, B., 2012. Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et études de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Bougherara Merzougui, I., 2015. Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia Lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques., biochimie. BADJI MOKHTAR - ANNABA, p. 69.

- Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N., Abrini, J., 2006. Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et Environnement Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 9-12.
- Boulfane, S., Maata, N., Anouar, A., Hilali, S., 2015. Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. Journal of Applied Biosciences 87, 8022-8029.
- Bouzid, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M., Ayachi, A., 2011. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'Aubepine Monogyne. Lebanese Science Journal 12, 59-69.
- Calligra, R., al, 2006. Dégradation de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge lors du stockage en condition réfrigérée. Agricultural and Chemistry 54, 535-539.
- COI., 2005. Conseil Oléicole International, Madrid (Espagne). COI/T.20/DOC.n°22. Méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge extra en appellation d'origine, p,7.
- COI., 2007. Conseil Oléicole International, Madrid (Espagne). COI/T.20/Doc.n° 4/Rev. Analyse sensorielle de l'huile d'olive norme, p,8.
- COI., 2013. Conseil Oléicole International, Madrid (Espagne). COI/T.15/NC.n°3/Rev. norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive, p, 2.
- COI., 2015. Conseil Oléicole International, Madrid (Espagne). COI/T.15/NC. n°3/R2V. norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive, p, 2.



- COI., 2016. Conseil oléicole international, Madrid (Espagne). Newsletter – marché oléicole n° 110 – novembre 2016. Bilans mondiaux de l’huile d’olive – Campagne 2015/16 et 2016/17, p, 6.
- Denis, O., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M., Artaud, J., 2004. Analyse de la fraction phénoliques des huiles d’olive vierges. Annales des falsifications, de l’expertise chimique et toxicologique, 169-196.
- Djenane, D., Yangüela, J., Derriche, F., Bouarab, L., Roncales, P., 2012. Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. Nature & Technology, 53.
- Essiari, M., Zouhair, R., Chimi, H., 2014. Contribution à l’étude de la typicité des huiles d’olive vierges produites dans la région de Sais (Maroc). Science, 8-22.
- Européenne, P., 2002. Médicaments Dérivés du Sang Humain. Stratbourg.
- Européenne, P., 2008. 6<sup>ème</sup> édition, conseil d’Europe. Stratbourg.
- Européenne, P., 2014. Pharmacopée Européenne.
- Fourasté, I., 2002. Etude botanique l’olivier. Faculté des Sciences Pharmaceutiques de toulouse, France, 16.
- Ghedira K. 2008. L'olivier. Journal de la phytothérapie. 6.83-89.
- Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, P., Romano, A., 2013. The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. Industrial Crops and Products 43, 465-471.
- Haddam, M., Chimi, H., El-Antari, A., Zahouily, M., Mouhibi, R., Zaz, A., Ibrahimi, M., Amine, A., 2014. Caractérisation physico-chimique et stabilité oxydative des huiles d’olive des variétés Picholine marocaine, Haouzia, Koroneiki et Arbéquine de la région oléicole centrale du Maroc (Chaouia-Ouardigha). Olivae 119, 23-35.

- Halmi, S., 2015. Etude botanique et phytochimique :Approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus indica, biologie et ecologie vegetale Universite des freres mentouri de constantine, p. 186.
- Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfella, S., Sobhi, W., Barragan-Montero, V., 2015. Some physicochemical characteristics of pinus (Pinus halepensis Mill., Pinus pinea L., Pinus pinaster and Pinus canariensis) seeds from North Algeria, their lipid profiles and volatile contents. Food Chemistry 188, 184-192.
- Kebbab, R., 2014. Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété chemlal:Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation, Biochimie-Microbiologie. Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p. 116.
- Khelif, M., Ayadi, M., Grati Kammoun, N., Hamdi, M.T., Rekik, H., Rekik, B., 2000. effet du systeme d'extraction sur la qualite de l'huile d'olive en cours de stockage ou conservation.
- Laribi, R., 2015. Les composés phénoliques de quelque variétés de l'huile d'olive Algerienne:identification et propriétés, biochimie. Frhat Abbas Sétif 1, p. 81.
- Lazzeri, Y., 2009. Les defis de la monialisation pour l'oleiculture mediterraneenne, l'olivier en Méditerranée, Centre culturel Francais de tlemcen-Algérie, p. 24.
- Lomenech, H., 2010. L'olivier:Intéret dans les produits cosmétiques. Nantes, p. 97.
- Loussert, R., Brousse, G., 1978. L'olivier: technique agricole et production méditerranéennes Ed. Maisonneuve et Larousse, France.
- Mannllah, A., 2012. Activité antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L, Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Ferhat Abbas-Setif, p.85.
- Meftah, H., Latrache, H., Hamadi, F., Hanine, H., Zahir, H., 2014. El louali M., Comparaison des caractéristiques physicochimiques des huiles d'olives issus de

différentes zones de la région Tadla Azilal (Maroc)[Comparison of the physico-chemical characteristics of the olive oil coming from different zones in Tadla Azilal area (Morocco)]. *J. Mater. Environ. Sci* 5, 641-646.

- Merouane, A., Noui, A., Ali, K.N.B., Saadi, A., 2014. Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International journal of biological and chemical sciences* 8, 1865-1870.
- Moreno Esteban, B., Solís.D.A, L., 2015. L'huile d'olive, pierre angulaire du régime alimentaire méditerranéen. *Journal officiel du Conseil oléicole international*, 49.
- Moufida, A,-A., 2017. Caractérisation de la composition en microconstituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache latière.
- Pinatel, C., Ollivier, D., Ollivier, V., Artaud, J., 2014. Composition en acides gras et en triglycérides d'huiles d'olive vierges de 34 variétés et 8 Appellations d'Origine françaises et de 2 variétés étrangères implantées en France : constitution d'une banque de données (première partie). *Journal officiel du Conseil oléicole international*, 36-48.
- Plard, J., 2014. Apport de la chimométrie et des plans d'expériences pour l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive au cours de différents processus de vieillissement, *Sciences chimiques*. Aix Marseille, p. 244.
- Remila, S., 2015. Evaluation des activités biologiques in vitro et in vivo des extraits de *Pistacia lentiscus*, biologie physico-chimique. Abederahmane Mira-Bejaia, p. 131.
- Selka, S., Tchouar, A., 2014. Contribution à l'étude physico-chimique et organoleptique de deux huiles d'olive d'extraction traditionnelle et industrielle de la wilaya de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude. Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen, p.114.
- Smith, T.J., Yang, G., Seril, D.N., Liao, J., Kim, S., 1998. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. *Carcinogenesis* 19, 703-706.

- Tanouti, K., Serghini-Caid, H., Chaieb, E., Benali, A., Harkous, M., Elamrani, A., 2011. Amélioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le Maroc oriental. *Technologies de Laboratoire*, 6.
- Touitou, Y., 2005. *Biocimie : structure des glucides et lipides*. Poly copie. Faculté de médecine. Université Pierre et Marie Curie. France, 48.
- Toty, A.A., Guessenn, N., Bahi, C., KRA, A.K.M., Tokore, D.A., Dosso, M., 2013. Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- Toure, D., 2015. *Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire*. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire.
- Veillet, S., 2010. *Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive: entre tradition et innovation*. Université d'Avignon
- Yemeda, L., Dibong, S.D., M.A, N., T, D., N, L., Mpondo, E., M., J., Y., J.D., W., 2014. Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Biosciences*, 7636– 7643.
- Zovi, O., 2009. *Fonctionnalisation et photopolymérisation de l'huile de lin en vue de l'élaboration de nouveaux matériaux sans émissions de composés organiques volatiles (COV)*. INSA de Rouen.

