

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Université 8 mai 1945 Guelma

Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière
Département des Sciences de la Matière

Mémoire de fin d'études
Master



Spécialité : Chimie Physique

Présenté par :

DRICI SALAH EDDINE

DRICI ADIL

**Etude de qualité de l'huile d'olive algérienne : effet des conditions de
stockage**

Sous la Direction de : Pr NIGRI Soraya

Juin 2019

Remerciements

Avant de débiter ce modeste travail, il nous est particulièrement agréable d'exprimer nos gratitudee et nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Au début nos remerciements vont en particulier à **Dieu, le tout puissant**, qui nous a donné la force et le courage pour poursuivre nos études.

On tient à exprimer toute notre reconnaissance et notre gratitude à notre encadreur de recherche Melle **Nigri soraya** d'avoir accepté de diriger ce travail, sans ses orientations et ses précieux conseils, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions jusqu'à l'obtention du diplôme de master.

Merci également à tous les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail. Nous adressons nos remerciements aux ingénieurs du laboratoire de chimie qui nous ont aidés à la réalisation de la partie pratique de notre mémoire.

Nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance vont à tous les ingénieurs des laboratoires de pédagogie et de recherche : LAIGM et LCA.

Dédicaces

*Après avoir remercié «**ALLAH**» le tout puissant qui nous a aidé d'accomplir nos études, nous tenons à dédier ce modeste travail :*

*A notre chère aimée **nassira** notre tante et notre mère qui nous a donnée beaucoup de tendresse et d'encouragement pendant le trajet scolaire*

A nos très chers parents en témoignage de L'amour, du respect et de la profonde et éternelle gratitude que nous leurs porte.

A nos très chère frère amine.

A nos très chère sœur hanane .

A nos très chères tantes samia et linda.

A nos très chers amis

A tous ceux qui nous'aimons.

Liste des tableaux

Titre du tableau	Page
Tableau I.1 : Caractéristiques de la qualité de l'huile d'olive	6
Tableau I.2 : Composition en acide gras d'une huile d'olive	8
Tableau I.3 : Principaux triglycérides de l'huile d'olive	9
Tableau I.4 : Classes majeures des composés phénoliques de l'huile d'olive vierge	13
Tableau I.5 : Rôles physiologiques et biologiques de certains composés chimiques de l'huile d'olive.	20
Tableau III.1 : Echantillons étudiés	36
Tableau III.2 : Matériels et réactifs relatifs à l'indice d'acide.	38
Tableau III.3 : matériels et réactifs relatifs à l'indice de peroxyde.	40
Tableau III.4 : Matériels et réactifs relatifs à l'indice de saponification.	41
Tableau III.5 : Matériels et les réactifs relatifs à l'indice d'iode.	43
Tableau VI.1 : Indices d'acide de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps	50
Tableau VI.2 : Indices de peroxyde de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps.	53
Tableau VI.3 : Indices saponification des huiles d'olive conservées dans différentes conditions de stockage au cours du temps	55
Tableau VI.4 : Indices d'iode des huiles d'olive conservées dans différentes conditions de stockage.	56
Tableau VI.5 : K232, K270 et ΔK de l'huile d'olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps	58
Tableau VI.6 : Caroténoïdes et chlorophylles de l'huile d'olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps.	60

Tableau VI.7 : Teneurs en polyphénols totaux des huiles d'olive stockées dans différentes conditions de stockage	64
---	-----------

Liste des figures

Figure	Page
Figure I.1 : Structure chimique générale des triglycérides.	9
Figure I.2 : Structures chimiques de quelques stérols présents dans l'huile d'olive	10
Figure I.3 : Structure générale d'un tocophérol.	11
Figure I.4 : Structure du squalène.	12
Figure I.5 : Structures chimiques des Chlorophylle a et b.	14
Figure I.6 : Structure de la β -carotène.	15
Figure II.1 : Mécanisme de formation des 8-, 9-, 10- et 11-monohydroperoxydes à partir de l'acide oléique.	31
Figure II.2 : Formation des composés secondaires d'oxydation à partir des monohydroperoxydes des acides oléiques.	32
Figure III.1 : Echantillons d'huile étudiés.	37
Figure III.2 : Spectrophotomètre UV-Visible	45
Figure III.3 : Spectromètre FTIR « Spectrum One »	48
Figure VI.1 : Évolution de l'indice d'acide de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps	51
Figure VI.2 : Évolution de l'indice peroxyde de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps	53
Figure VI.3 : Évolution de l'indice de saponification de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps	55
Figure VI.4 : Évolution de l'indice d'iode de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage	57

Figure VI.5 : Évolution des K232, K270 et ΔK de l'huile d'olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps	58
Figure VI.6 : Évolution des caroténoïdes et chlorophylles de l'huile d'olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps	61
Figure VI.7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	63
Figure VI.8: Spectres MIR d'une huile d'olive sous différentes conditions de stockage.	65
Figure VI.9 : Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 1200 à 800 cm^{-1}	66
Figure VI.10 : Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 1500 à 1000 cm^{-1}	67
Figure VI.11 : Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 2000 à 1500 cm^{-1}	68
Figure VI.12 : Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 3200 à 2600 cm^{-1}	69

Liste des abréviations

% : Pourcentage

µl : Microlitre

A : Absorbance

AGL : Acide gras libre

C : Concentration

C.C.E : commission des communautés européenne

C.O.I : Conseil Oléicole International

C° : Degré celsius

CA : Codex Alimentarius

CE : Communauté européenne

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

g : Gramme

HDL: Lipoprotéines à haute densité (Height Density Lipoproteins).

Ia : Indice d'acide

Ii : Indice d'iode

Ip : Indice de peroxyde

Is : Indice de saponification

K232 : extinction spécifique à $\lambda=232$ nm

K270 : extinction spécifique à $\lambda= 270$ nm.

Kg : Kilogramme

KOH : hydroxyde de potassium.

LDL: Lipoprotéines à basse densité (Low Density Lipoproteins).

M : Poids Molaire

meq : Milliéquivalent

mg : Milligramme

min : Minute

ml : Millilitre

N : Normalité

NaOH : hydroxyde de sodium.

nm : Nanomètre

P : Prise d'essai

PET : téréphtalate de polyéthylène

PP : polypropylène

PS : polystyrène

PVC : chlorure de polyvinyle

T : Le trajet optique = 1 cm.

UV : Ultra-violet.

V : Volume

Sommaire

INTRODUCTION	1
Chapitre I : Généralités sur l'huile d'olive	
I.1 Généralités :	3
I.2 Définition de l'huile d'olive :	3
I.3 Les différents types d'huile d'olive :	3
I.3.1 Les huiles d'olive vierges :	4
a.L'huile d'olive extra vierge :	4
b.L'huile d'olive vierge :	4
c. L'huile d'olive vierge courante :	4
I.3.2 L'huile d'olive vierge raffinée :	4
a.L'huile d'olive raffinée :	4
b.L'huile d'olive :	4
I.3.3 L'huile de grignon d'olive :	5
a.L'huile de grignon d'olive brute :	5
b.L'huile de grignon d'olive raffinée :	5
c.L'huile de grignon d'olive :	5
I.4 Composition chimique de l'huile d'olive :	6
I.4.1 La fraction saponifiable :	7
a. Les acides gras :	7
b. Cires :	8
c. Triglycérides :	8
I.4.2 la fraction insaponifiable :	10
a. Les stérols :	10
b. Tocophérols :	10
c. Les hydrocarbures :	11
d. Composés phénoliques :	12
e. Les Pigments colorants :	13

I.5 Facteurs déterminant la qualité de l'huile d'olive :	15
I.6 Conditions de stockage de l'huile d'olive :	16
I.7 Les bienfaits de l'huile d'olive :	19

Chapitre II : Oxydation de l'huile d'olive

II.1 Oxydation des lipides :	25
II.2 Types d'oxydations :	25
II.2.1 auto-oxydation :	25
II.2.2 Photo-oxydation :	27
II.2.3 Oxydation enzymatique :	27
II.3 Produits formés au cours de l'oxydation des lipides :	28
II.4 Principaux facteurs influençant l'oxydation lipidique :	28
II.4.1 L'oxygène :	28
II.4.2 La température :	29
II.4.3 La lumière :	29
II.4.4 La composition chimique de l'huile :	30
II.5. Formation et décomposition des hydroperoxydes : application à l'acides oléique (18 :1 n-9) :	31
II.5.1 Formation des hydroperoxydes :	31
II.5.2 Décomposition des hydroperoxydes et produits secondaires formés :	32

Chapitre III : Méthodes et Matériels

III.1 Echantillonnage :	36
III.2 Propriétés physicochimiques :	37
III.2.1 Indice d'acide :	37
a. Définition :	37
b. Principe :	37
c. Matériels et réactifs utilisés :	38
d. Mode opératoire :	38
e. Méthode de calcul :	38

III.2.2 Indice de peroxyde :	39
a. Définition :	39
b. Principe :	39
c. Matériels et réactifs utilisés :	39
d. Mode opératoire :	40
e. Préparation des solutions :	40
f. Méthode de calcul :	40
III.2.3 Indice de saponification	41
a. Définition	41
b. Principe	41
c. Matériels et réactifs utilisés	41
d. Mode opératoire :	41
e. Méthode de calcul :	42
III.2.4 Indice d'iode :	42
a. Définition :	42
b. Principe :	42
c. Matériel et réactifs utilisés :	42
d. Mode opératoire	43
e. Méthode de calcul	43
III.3 Méthode de caractérisation :	44
III.3.1 Analyse spectroscopique dans l'UV-visible :	44
III.3.1.1 détermination de K270 et K232 :	44
III.3.1.2 Dosage des caroténoïdes totaux :	45
III.3.1.3 Dosage quantitatif des chlorophylles :	46
III.3.1.4 Dosage des polyphénols par la méthode de folin-ciocalteu :	47
III.3.2 Analyse par infrarouge :	48

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.1 Indices chimiques :	50
IV.1.1 Détermination d'indice d'acide :	50
IV.1.2 Indice de peroxyde :.....	52
IV.1.3 Indice de saponification :.....	54
IV.1.4 Indice d'iode :.....	56
IV.2 Indices spectroscopiques :	57
IV.2.1 Extinction spécifique à 232 nm et 270 nm :	57
IV.2.2 Les caroténoïdes :	60
IV.2.3 Les chlorophylles :.....	62
IV.2.4 Dosage des Polyphénols totaux :	63
IV.2.5 Interprétation des spectres infra-rouge de l'huile analysées :.....	65
CONCLUSION	71

INTRODUCTION

L'huile d'olive est le produit méditerranéen par excellence. On la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours. Elle est la principale source de matières grasses du régime crétois ou du régime méditerranéen qui sont bien connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Ces bienfaits ont été liés à sa composition en acides gras bien-équilibrée, où l'acide oléique est le composant principal et où à la présence des biomolécules mineures, telles que les vitamines et les antioxydants naturels.

La production d'olive et sa transformation en huile ont un impact socio-économique. L'Algérie classée parmi les pays producteurs après l'Union Européenne. Il est donc impératif pour notre pays du point de vue économique de garantir des conditions optimales pour obtenir des huiles de haute qualité.

L'huile d'olive subit une oxydation pendant son stockage, résultant de l'auto-oxydation (catalysée par la température, les ions métalliques, ou les radicaux libres correspondants à des lipides déjà oxydés.) et de la photo-oxydation (catalysée par la lumière UV en présence de photosensibilisateurs.) et oxydation enzymatique (catalysée par la lipoxigénase et la cyclooxygénase). Ces oxydations produisant des hydroperoxydes. Ceux-ci vont se décomposer en une variété de produits d'oxydation secondaires. Enfin, des composés volatils sont formés conduisant l'huile à une dégradation de sa qualité nutritionnelle (couleur, odeur et goût).

Le stockage de l'huile d'olive devrait être un paramètre important à étudier afin de garantir des conditions optimales pour obtenir des huiles de haute qualité.

Chaque année sur les routes nationales, des bouteilles et des bidons d'un à cinq litres d'huile d'olive en plastique sont exposées à longueurs de journées aux rayons d'un soleil caniculaire sans aucune protection. Un état qui fait perdre à ce produit très prisé et de large consommation sa saveur, sa valeur nutritive et même thérapeutique, bien plus grave, sa consommation comporte des risques surtout quand elle est conservée dans un emballage en plastique exposée longtemps à la chaleur.

L'objectif de ce travail est d'étudier les effets de l'exposition à la lumière et le type d'emballage et les modifications qu'ils entraînent sur l'huile extra vierge au cours de l'exposition de l'huile d'olive sur route dans des bouteilles en plastique. L'intérêt d'une telle étude est de diffuser une culture des bonnes pratiques conservation de l'huile d'olive.

La conformité de l'huile à la norme COI exige la détermination de certains paramètres chimiques (indice d'acide, indice de peroxyde, indice d'iode, indice de saponification) et physiques (absorbance dans l'ultraviolet, dans le visible et dans l'infrarouge).

Le plan de notre travail est réparti comme suit :

- Le premier chapitre consiste à une synthèse bibliographique où sont présentés des généralités, les types, la composition et les conditions de stockages et les bienfaits de l'huile d'olive.
- Le deuxième chapitre évoque le phénomène de l'oxydation d'huile d'olive et ses mécanismes.
- Dans le troisième chapitre, (méthodes et matériels) les méthodes d'analyse physicochimiques et sensorielle dans le but de déterminer les paramètres de qualité de l'huile d'olive.
- Le quatrième chapitre est consacré à la discussion des résultats expérimentaux obtenus.
- Une conclusion a été présentée pour clore ce manuscrit

Chapitre I

I.1 Généralités :

L'étude de l'huile d'olive mérite une attention particulière, compte tenu de la place spécifique qu'elle occupe parmi les huiles de table, et ce pour plusieurs raisons :

- L'huile d'olive est la plus ancienne huile connue, sa consommation remonte à l'antiquité.
- Sa zone de production correspond à celle de la civilisation gréco-romaine et à travers elle, la nôtre, c'est par celle-là que la culture de l'olivier, la production et la consommation de l'huile d'olive se sont répandues dans tout le bassin méditerranéen.
- 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 plusieurs maladies. De nombreuses recherches ont été faites pour en garantir sa pureté, son authenticité et sa qualité [1].

I.2 Définition de l'huile d'olive :

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature [2].

I.3 Les différents types d'huile d'olive :

L'huile d'olive se décline en différentes qualités. Selon son procédé de fabrication et les conditions du stockage, l'huile d'olive est définie selon trois critères majeurs : l'acidité, l'indice de peroxyde et l'intensité organoleptique.

L'huile d'olive est un corps gras parfaitement réglementé tant pour sa définition que pour sa composition. Le COI [3] a clairement défini les différents types d'huile d'olive (vierge, raffinée, grignon). Le classement des huiles d'olive est le suivant :

I.3.1 Les huiles d'olive vierges :

Sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

Les huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état comportent :

a. L'huile d'olive extra vierge :

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0.8 gramme pour 100 grammes.

b. L'huile d'olive vierge :

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes. Pour 100 grammes.

c. L'huile d'olive vierge courante :

Huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3.3 grammes pour 100 grammes.

I.3.2 L'huile d'olive vierge raffinée :

En l'état dénommée huile d'olive vierge lampante est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3.3 grammes pour 100 grammes.

a. L'huile d'olive raffinée :

C'est une l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0.3 gramme pour 100 grammes.

b. L'huile d'olive :

C'est une l'huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes.

I.3.3 L'huile de grignon d'olive :

C'est une l'huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. Elle commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après :

a. L'huile de grignon d'olive brute :

C'est une l'huile obtenue par traitement au solvant de grignon d'olive. Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine ou destinée à des usages techniques.

b. L'huile de grignon d'olive raffinée :

C'est une l'huile obtenue à partir de l'huile de grignon d'olive brute par des techniques de raffinage n'entraînant pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0.3 gramme pour 100 grammes.

c. L'huile de grignon d'olive :

C'est une l'huile constituée par le coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes.

Tableau I.1 : Caractéristiques de la qualité de l'huile d'olive [26].

Types	Acidité %	Indice de peroxyde (méquiv. O ₂ /Kg)	K ₂₃₂	K ₂₇₀
Huile d'olive extra vierge	max 1.0	max 20	max 2.40	max 0.20
Huile d'olive vierge	max 2.0	max 20	max 2.50	max 0.25
Huile d'olive vierge ordinaire	max 3.3	max 20	max 2.50	max 0.25
Huile d'olive vierge lampante	> 3.3	> 20	max 3.70	> 0.25
Huile d'olive raffinée	max 0.5	max 10	max 3.40	max 1.20
Huile d'olive	max 1.5	max 15	max 3.30	max 1.00
Huile de grignon d'olive brute	min 2.0	--	--	--
Huile de grignon d'olive raffinée	max 0.5	max 10	max 5.50	max 2.50
Huile de grignon d'olive	max 1.5	max 15	max 5.30	max 2.00

I.4 Composition chimique de l'huile d'olive :

La composition de l'huile d'olive dépend de la variété du fruit, de la région de culture et des conditions climatiques. L'huile d'olive a une basse teneur en acides gras saturés et une teneur élevée en acides gras monoinsaturés. Elle contient aussi des polyphénols, de la vitamine E de flavonoïdes, de la provitamine A et des minéraux [4]. Certains de ces constituants sont des antioxydants non seulement pour le corps humain mais aussi pour l'huile d'olive. Les antioxydants protègent le corps humain contre les dommages qui proviennent de l'oxydation par les radicaux libres, mais aussi ils protègent en même temps l'huile d'olive contre l'oxydation (rancidité).

L'huile d'olive vierge est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés [5,6]. La composition de l'huile d'olive change selon la variété, les conditions climatiques et l'origine géographique. Les composés peuvent être classés en deux grands groupes :

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

I.4.1 La fraction saponifiable :

a. Les acides gras :

Comparée à d'autres huiles végétales, l'huile d'olive est caractérisée par une domination en acides gras monoinsaturés [7], l'acide gras principal est l'acide oléique qui représente 55% à 83%. L'huile d'olive est constituée aussi d'un pourcentage modéré d'acides gras polyinsaturés essentiels tels que l'acide linoléique et l'acide linoléique et d'acides gras saturés comme les acides palmitique et stéarique [8].

La composition en acide gras est très variable et dépend de la variété d'olives, la région de production et de l'année de la récolte (influence des conditions environnementales) [9]. Des normes telles que celle du Codex Alimentaires régulent cependant cette variabilité en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras (Tableau I.2).

Tableau I.2 : Composition en acide gras d'une huile d'olive [10]

Acide gras	Formule	Pourcentage %
Acide oléique	C18:1 Δ 9	55-83
Acide linoléique	C 18:2 Δ 6	35-21
Acide palmitique	C 16 :0	7,5-20
Acide stéarique	C 18 :0	0,5-5
Acide palmitoléique	C 16:1 Δ 7	0,3-3,5
Acide linoléinique	C 18:3 Δ 3	\leq 0,9
Acide arachidique	C 20 :0	\leq 0,6
Acide gadoléique	C 20:1 Δ 9	\leq 0,4
Acide margarique	C 17 :0	\leq 0,3
Acide béhénique	C 22 :0	\leq 0,2
Acide lignocérique	C 24 :0	\leq 0,2
Acide mystérique	C 14 :0	\leq 0,05

b. Cires :

La teneur en cires varie d'une huile à une autre [11]. Le profil de ces esters des acides gras et des alcools gras constitue un indicateur intéressant pour la qualité et la pureté des huiles d'olive vierges. Les cires peuvent distinguer entre les huiles d'olive raffinées et les huiles d'olive pulpes. La première catégorie contient un pourcentage élevé de C36 et C38 par rapport à la teneur en C42, C44 et C46 inversement à la deuxième catégorie. La teneur des cires pour l'huile extra vierge et vierge et ordinaire est inférieure à 250 ppm et inférieure à 350 ppm pour les autres huiles.

c. Triglycérides :

Un autre type de composé saponifiable sont les triglycérides. Ce sont des esters dérivés du glycérol. Cet alcool possède trois fonctions hydroxyles. Si une seule de ces fonctions hydroxyles

est libre, il s'agit de diglycérides et si deux des fonctions hydroxyles sont libres, on parle de monoglycérides.

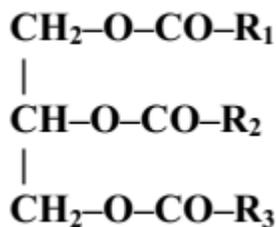


Figure I.1 : Structure chimique générale des triglycérides.

Où R₁, R₂ et R₃ sont des acides gras. Les trois acides gras ne sont pas nécessairement les mêmes [12].

Les triglycérides qui sont trouvés dans des proportions significatives dans l'huile d'olive sont représentés dans le tableau (Tableau I.3) [13].

Tableau I.3 : Principaux triglycérides de l'huile d'olive [13].

Nature	% des triglycérides	Nomination
• OOO	• 40-59	• la trioléine
• POO	• 12-20	• la dioléopalmitine
• OOL	• 12.5-20	• la dioléolinoléine
• POL	• 5.5-7	• la palmitooléolinoleine
• SOO	• 3-7	• la dioléostéarine

I.4.2 la fraction insaponifiable :

a. Les stérols :

Ce sont des hydrocarbures cycliques à quatre cycles (tétracycliques) comportant le plus souvent 27-28-ou 29 atome de carbone avec au moins une fonction alcool et plusieurs doubles liaisons [14]. La quantité totale de stérols dans l'huile d'olive extra vierge est de 1000 mg/kg [15].

Dans l'huile d'olive, le principal stérol est le β -sitostérol, représentant jusqu'à 90-95% du total, [16]. Le campestérol et le stigmastérol comptent respectivement pour 3% et 1% du total.

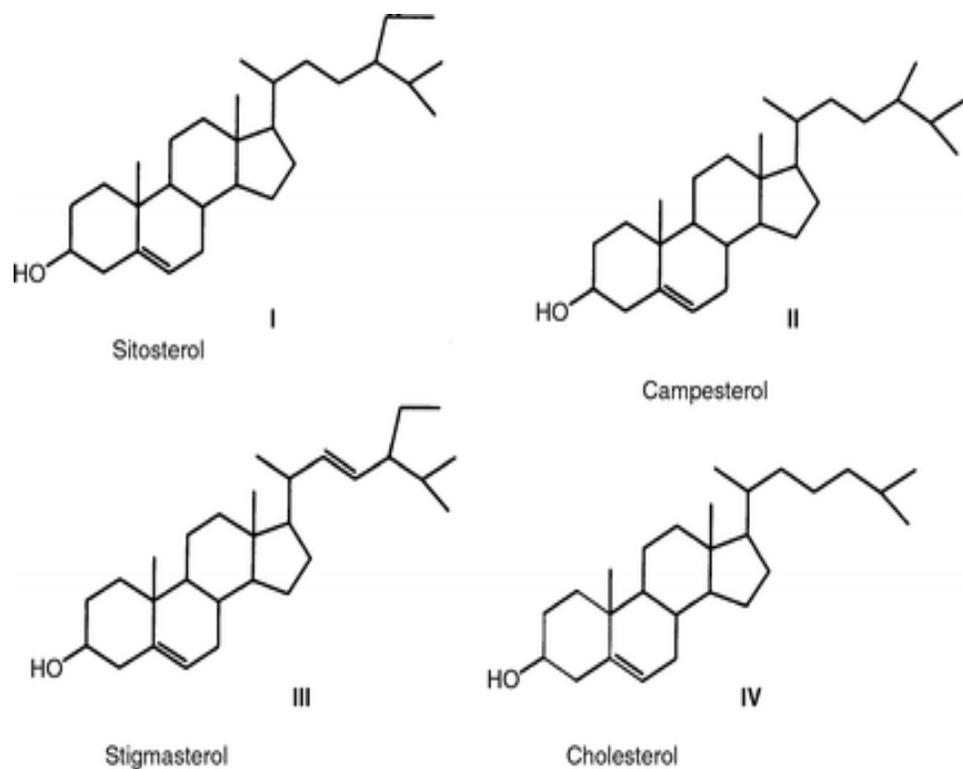


Figure I.2 : Structures chimiques de quelques stérols présents dans l'huile d'olive [17].

b. Tocophérols :

Les tocophérols (vitamine E) constituent une classe très importante de composés insaponifiables. En effet, ces composés sont des antioxydants naturels et leur présence confère une certaine stabilité à l'huile d'olive. Parmi ceux-ci, nous pouvons citer comme exemple l' α -tocophérol, le

β -tocophérol, le δ -tocophérol et le γ -tocophérols. La teneur en tocophérol dans l'huile d'olive varie entre 50 et 150 mg/kg [18].

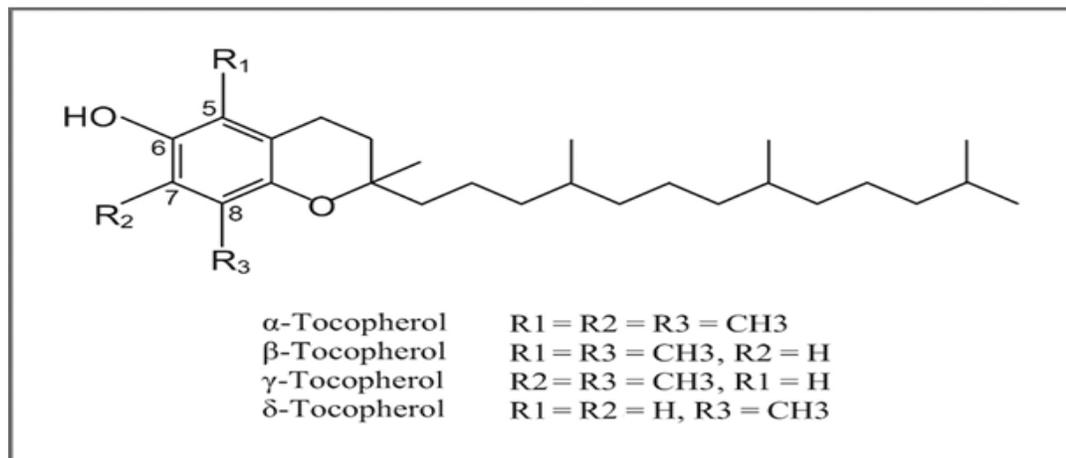


Figure I.3 : Structure générale d'un tocophérol [17].

c. Les hydrocarbures :

Une deuxième classe de composés insaponifiables est les hydrocarbures. Parmi ceux-ci, on compte des hydrocarbures saturés, des composés aromatiques. Cependant, il est possible de retrouver aussi des hydrocarbures insaturés car lors de l'étape de raffinage (décoloration...), les stérols subissent une réaction de déshydratation pouvant conduire à la formation d'hydrocarbures insaturés. Par exemple β -sitostérol produit le 3,5-stigmastadiène, le campesterol donne le 3,5-campestadiène et stigmastérol produit le 3,5,22-stigmastadiène [12].

L'huile d'olive contient des hydrocarbures dont le squalène ($\text{C}_{30} \text{H}_{50}$) qui représente 500 à 780 mg/100g de l'huile d'olive [19]. Il a des propriétés antioxydantes et effet scavenger (balayeur) des radicaux libres [20].

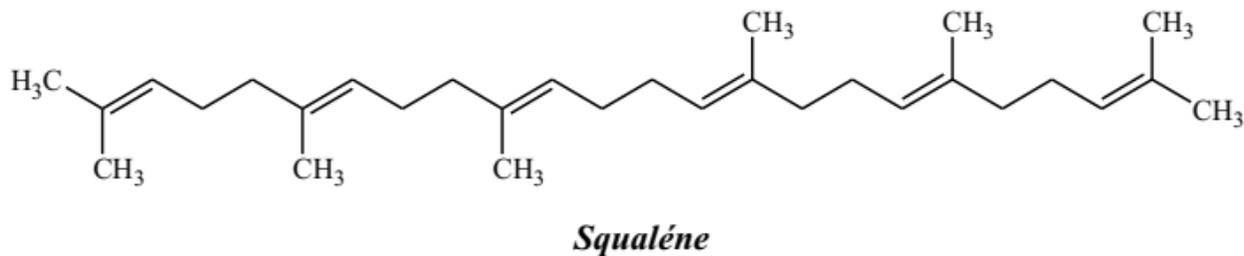
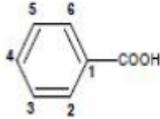
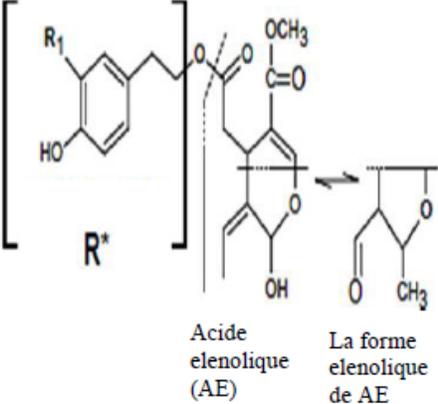
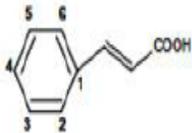
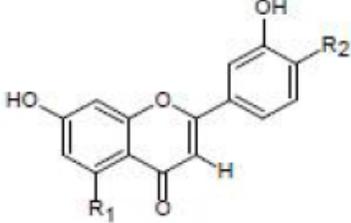
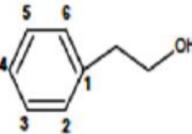
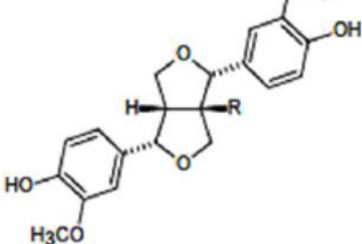


Figure I.4 : Structure du squalène [17].

d. Composés phénoliques :

L'huile d'olive renferme plus de 30 composés phénoliques. L'hydroxytyrosol et l'oleuropéine sont les principaux composés phénoliques exerçant une activité antioxydante [21], tandis que les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les hydroxy-isochromans et les flavonoïdes constituent la fraction mineure des composés phénoliques de l'huile d'olive vierge [22]. Ces composés phénoliques confèrent d'une part une grande stabilité oxydative à l'huile durant le stockage, et d'autre part, contribuent fortement au goût piquant, à l'astringence et à l'amertume des huiles [23].

Tableau I.4: Classes majeures des composés phénoliques de l'huile d'olive vierge [22,23].

Composé	Structure générale	Composé	Structure générale
Acides benzoïques Acide vanillique Acide syringique Acide gallique Acide hydroxy-benzoïque		Secoiridoïdes Oleupéine aglycone Ligstroside aglycone Oleuropéine Forme dialdéhydrique d'oleuropéine aglycone	 <p>Acide étenolique (AE) La forme étenolique de AE</p>
Acides cinamiques Acide p-coumarique Acide o-coumarique Acide caféique Acide férulique		Flavonoïdes Apigénine Lutéoline	
Alcools phénoliques Hydroxytyrosol Tyrosol (3,4-Dihydroxyphenyl) éthanol-glucoside		Lignanes (+)-1-Acétoxypinoresinol (+)-Pinoresinol	

e. Les Pigments colorants :

La couleur de l'huile d'olive est essentiellement liée à la présence des chlorophylles, de la phéophytine ainsi qu'aux caroténoïdes [24, 25]. Les pigments sont également impliqués dans les mécanismes de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation. Leur contenu dans l'huile d'olive s'étend entre 1 et 20 ppm [26], mais change selon la variété, la température et la durée du traitement thermique de l'olive [27] ainsi que la culture, le sol, le climat, et le degré de maturation du fruit [26, 28].

- **Chlorophylles :**

La fraction des chlorophylles (1 à 10 ppm) responsable de la couleur verte de l'huile englobe la chlorophylle a et b et les phéophytines [29].

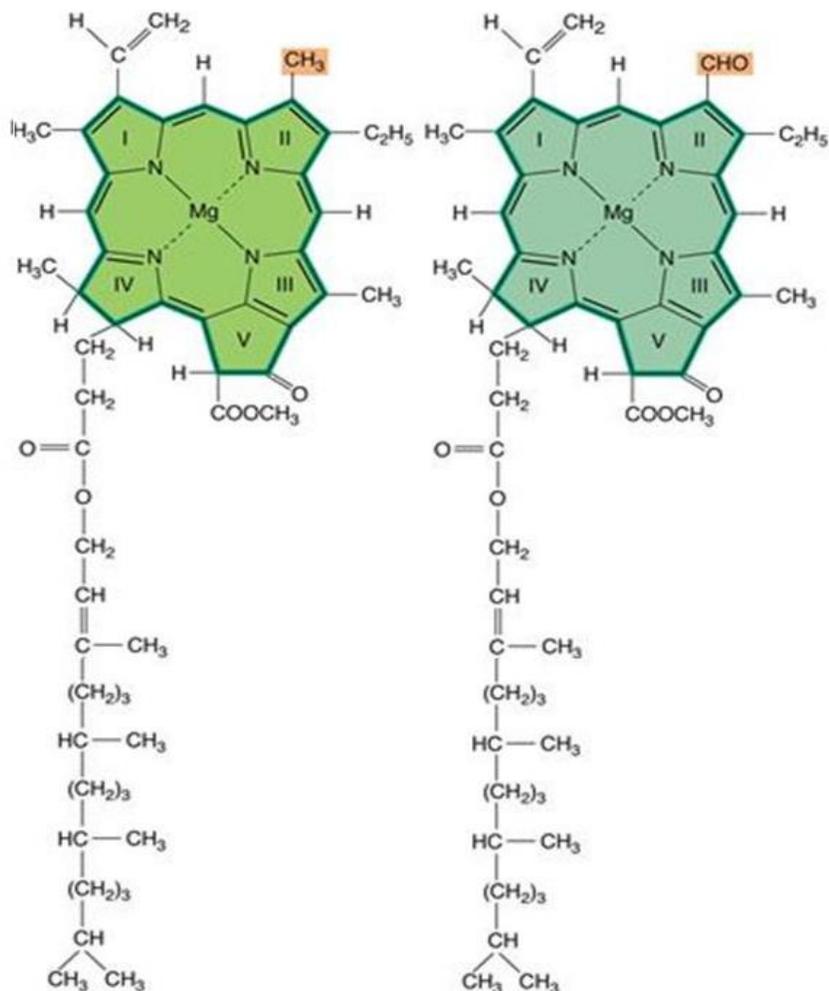


Figure I.5 : Structures chimiques des Chlorophylle a et b

- **Caroténoïdes :**

Les caroténoïdes sont des composés liposolubles associés à la fraction lipidique de l'huile d'olive, son taux est très variable, allant de 1.15 à 6.22 mg/kg [30]. Le pigment caroténoïde le plus retrouvé dans l'huile d'olive est le β -carotène (Provitamine A) [31] qui présente une action vitaminique et antioxydante [32].

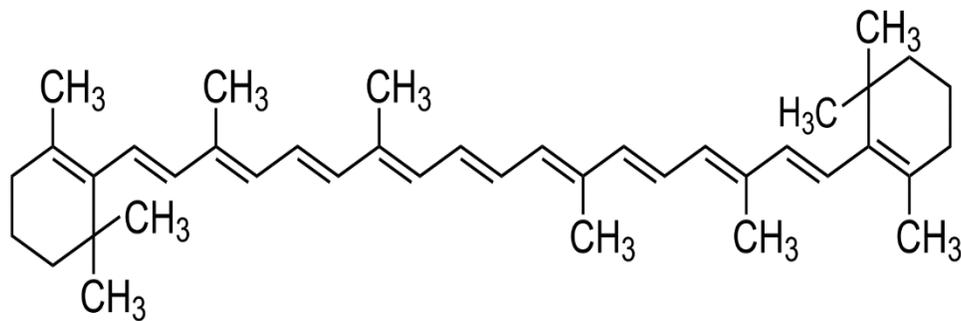


Figure I.6 : Structure de la β -carotène [33].

I.5 Facteurs déterminant la qualité de l'huile d'olive :

Etant donné l'image très positive de l'huile d'olive, le Conseil Oléicole International vise à améliorer encore la qualité du produit qui dépend de plusieurs facteurs :

- En premier lieu, la qualité des olives dépend des différentes étapes qui s'étendent de la production (labour, l'âge de l'arbre, taille des oliviers, quantité d'engrais, l'irrigation, la variété) à la cueillette des olives (l'état du fruit, son degré de maturation au moment de ramassage) et de la fabrication à la conservation de l'huile.
- Le lavage des olives après la récolte : l'olive doit subir un lavage qui permet d'éliminer les levures et les microorganismes qui se trouvent sur la pellicule des drupes. Ces organismes unicellulaires peuvent passer dans l'huile et se développer, atténuant ainsi la qualité de l'huile [34]. Au bout de quelques mois de stockage l'huile devient de goût rance et dégage des odeurs désagréables. De même, l'opération d'effeuillage est nécessaire et recommandée pour améliorer la qualité des huiles produites.
- La rapidité de traitement des olives : une fois récoltées les olives doivent être pressées le plus rapidement possible sous peine de perdre leur parfum. Du fait de sa composition en huile, l'olive s'abîme très vite une fois récoltée. Cette dégradation sera d'autant plus accentuée que le stockage sera long (plus de 48 heures) et effectué dans de mauvaises conditions. Ceci provoque des échauffements des olives et déclenche le processus de fermentation, augmentant le taux d'acidité.
- Le traitement thermique de l'olive affecte d'autres traits de la qualité, comme la stabilité oxydative, la composition en arôme et également un changement du contenu de pigment de l'huile d'olive vierge [35].

- Les différents procédés d'extraction affectent la qualité de l'huile d'olive vierge et certains composants chimiques comme les polyphénols qui sont très solubles dans l'eau. En effet, l'huile d'olive vierge extraite à partir de la méthode dite de centrifugation contient moins de polyphénols, du fait que l'eau utilisée pour diluer la pâte, est tiède. Une augmentation dans la quantité de cette eau, dissout partiellement les polyphénols et réduit leur taux, et par conséquent la stabilité de l'huile d'olive au cours du stockage [36, 37].
- La température d'extraction : l'extraction se fait à froid, car à partir de 25°C, les arômes sont modifiés. Par ailleurs, une température supérieure à 28°C au cours du broyage et du malaxage a un impact sur la qualité de l'huile. Ainsi un contact long entre la phase organique contenant l'huile et la phase aqueuse (margine), au cours de la décantation dans les procédés traditionnels, conduit à des phénomènes d'oxydation.
- Le stockage et la conservation constituent des facteurs importants dans la qualité de l'huile destinée à la consommation. En effet, une fois l'huile obtenue, il est important de la stocker, à l'abri de la lumière et, dans un endroit frais et sec avec un minimum de contacts avec l'air, de préférence dans des récipients en acier inoxydable ou en verre et non en matière en plastique qui donne un mauvais goût à l'huile. Des changements de température de conservation favorisent la dégradation de l'huile d'olive [38].

I.6 Conditions de stockage de l'huile d'olive :

L'huile d'olive peut être stockée pendant plusieurs mois. Durant son stockage, elle peut subir des changements organoleptiques caractérisés par l'augmentation de l'acidité (due à l'action des lipases) et le développement des réactions de rancissement. Pour cela, un ensemble de précautions doivent être mis en place pour le stockage de l'huile d'olive.

Dans ce qui suit, nous allons donner un aperçu sur les travaux effectués sur l'effet des conditions de stockage sur la qualité d'huile d'olive.

- ❖ Psomiadou E et Tsimidou M [39] ont étudié une huile d'olive conservée entre 12 et 18 mois à l'obscurité (Bouteilles en verre transparent : bouteilles entourées d'aluminium, placées dans un carton fermé sans espace de tête). Ils ont trouvé que les indices de peroxyde IP et K232 augmentent légèrement et que leurs valeurs sont pour certaines huiles bien supérieures à celles mesurées après une exposition à la lumière. Ces

évolutions sont peu marquées de part la faible quantité d'oxygène dissout (bouteilles fermées sans espace de tête). L'impact de la lumière est difficilement quantifiable car les durées d'exposition à la lumière (trois mois) sont plus faibles que celles réalisées à l'obscurité (12-18 mois). Ces résultats laissent supposer une photo dégradation des produits primaires d'oxydation et de certains pigments comme les phéophytines.

- ❖ De leur part Morello et al. [40] ont observé que douze mois de stockage (bouteilles en verre ambré) à l'obscurité et à température ambiante, d'une huile d'olive vierge commerciale, favorise l'augmentation du pourcentage d'acide oléique (due à la dégradation des acides linoléique et linoléique) et la diminution des teneurs en chlorophylles, en caroténoïdes et en phénols totaux jouant leur rôle d'antioxydants. Parmi les phénols simples identifiés, seules les quantités de tyrosol et d'hydroxytyrosol ont augmenté de part l'hydrolyse des dérivés sécoroïdiques alors que les lignans sont restés stables jusqu'à la fin du stockage.
- ❖ Di Giovacchino et al. [41] ont étudié le stockage de l'huile dans une bouteille sous différentes atmosphères (oxygénée ou inerte), à l'obscurité et à deux températures (20 et 40°C). Leur étude a montré que les qualités de l'huile (au travers des indices IP, IA, K232, K270 et des teneurs en phénols totaux) sont conservées plus longtemps si les bouteilles sont entièrement remplies et stockées à faible température (12-20°C).
- ❖ Caponio et al. [42] se sont intéressés à l'effet de la lumière sur l'évolution de la composition d'une huile d'olive lors de son stockage 12 mois à l'obscurité ou à la lumière à des températures variant entre 15 et 25°C. A chaque période est associé un échantillon d'huile d'olive embouteillé hermétiquement avec une quantité d'air limitée (correspondant à un espace de tête de 1 cm au-dessus du niveau de l'huile). À l'issue de cette période de stockage, aucune différence significative n'a été observée pour l'indice d'acidité. Les échantillons exposés à la lumière présentent une augmentation graduelle des valeurs des indices IP, K232 et du pourcentage de composés polaires, avec des valeurs plus élevées à la lumière qu'à l'obscurité. Les valeurs de l'indice K270 des échantillons à l'obscurité n'évoluent pas alors que celles des échantillons illuminés

augmentent de part leur teneur plus importante en produits d'oxydation secondaires. Après quatre mois de stockage à la lumière, la valeur limite autorisée pour K270 est dépassée. La teneur en phénols totaux qui ne cesse de diminuer au cours du temps.

- ❖ Del Caro et al. [43] ont basé dans leur étude sur des volumes d'huile plus restreints (57 ml) conditionnés avec une quantité d'air atmosphérique en équilibre plus importante (3 ml au-dessus du niveau de l'huile). Le profil des valeurs de l'indice IP est alors différent de celui publié par les autres auteurs puisque ce dernier augmente durant les 4 premiers mois puis diminue lentement jusqu'au 16^{ème} mois. Ce phénomène est d'ailleurs plus prononcé dans le cas des échantillons conservés à l'abri de la lumière. Les valeurs des indices spectroscopiques augmentent tout en restant toujours inférieures aux limites fixées par la Commission de l'Union Européenne. Une diminution des chlorophylles, des caroténoïdes, des phénols totaux et de l'alpha-tocophérol se révèle plus sévère sous l'effet de la lumière.

- ❖ Mendez et al. [44] ont étudié l'impact de la nature des emballages (verre, étain ou plastique) sur la conservation de quatre échantillons d'huiles commerciales. Le choix des emballages a été réalisé en fonction de leur différence de perméabilité à l'oxygène (nulle pour le verre et l'étain, un volume d'oxygène dans la bouteille plastique) et leur aptitude à filtrer ou arrêter les rayonnements UV (matériaux transparents à la lumière, colorés ou opaques). Les paramètres de qualité (IP, IA, K232, K270, phénols totaux, acides gras) mesurés à différentes périodes de stockage (0, 3 et 6 mois) ont tous évolué mais n'ont jamais dépassé les limites fixées par l'Union Européenne. Cette étude leur a permis de conclure que le traditionnel emballage plastique n'est pas le plus adéquat pour conserver l'huile car dès trois mois de stockage, l'huile subit une rapide détérioration due à l'oxygène et la lumière. Eliminer l'effet de la lumière en utilisant des emballages plastiques opaques n'augmente pas la résistance de l'huile car dans ce cas, c'est le paramètre oxygène qui est le principal moteur des réactions d'oxydation et d'hydrolyse. Cependant dans des bouteilles en verre (imperméables à l'oxygène de l'air) mais transparents, les qualités de l'huile ne sont pas conservées tout au long de sa commercialisation en raison de son exposition à la lumière.

- ❖ Pristouri et al. [45] ont récupéré les mêmes problématiques que celles étudiées par Mendez et al [44], en ajoutant l'étude d'un facteur supplémentaire : la quantité d'air au-dessus de la surface de l'huile (aussi appelé « l'espace de tête ») crée dans un emballage plastique à 22°C et à l'obscurité. Il en ressort les mêmes conclusions à savoir qu'il faut conserver l'huile dans des contenants en verre, opaques à la lumière, à une température inférieure à 22°C et qu'il faut transvaser l'huile dans une bouteille plus petite, régulièrement, pour limiter l'espace de tête riche en oxygène.

I.7 Les bienfaits de l'huile d'olive :

L'huile d'olive est un produit ancestral largement reconnu pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Sa consommation a été associée à une faible incidence de maladies cardiovasculaires, neurologiques et cancéreuses. Ces bienfaits ont été attribués aux éléments nutritifs et fonctionnels que l'on retrouve dans l'huile tels que l'acide linoléique, les vitamines, les antioxydants naturels [46]. Le tableau ci-après résume les rôles physiologiques et biologiques de certains composés chimiques de l'huile d'olive.

Tableau I.5 : Rôles physiologiques et biologiques de certains composés chimiques de l'huile d'olive.

Composés	Rôles	Références
Acide oléique	- Réduit particulièrement le taux du cholestérol total et le LDL responsable de la formation de l'athérosclérose et augmente le HDL.	[47]
	- Normalise les paramètres membranaires détériorés en cas d'hypertension, en améliorant la fluidité membranaire et l'expression de protéines impliquées dans la régulation de la pression artérielle.	[48]
Chlorophylles	- Accélèrent les processus de cicatrisation.	[29]
Polyphénols	- Exercent une activité bactéricide et fongicide.	[49]
	- Réduisent le risque coronarien et normalise la pression sanguine et prévoient l'athérosclérose en agissant comme piègeur de radicaux libres et préservent les LDL de l'oxydation in vitro et leur adhérence aux parois artérielles.	[50]
Composés Aromatiques	- Dotés d'une activité antimicrobienne.	[51]
Tocophérols	- Manifestent une activité vitaminique. - Exercent des effets bénéfiques à l'égard des maladies cardiovasculaires et contre le cancer du poumon, du col de l'utérus et de la prostate.	[52]

Références

- [1] Uzzan A. (1992) « Olive et huile d'olive » Dans « Manuel des corps gras » Karleskind A. Tome 1, Ed : Lavoisier, Paris, 221-228.
- [2] Conseil Oléicole International (2001) *Olivae* 87 : 22-24
- [3] International Olive Council (COI) (2015) Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils, Oil COI/T.15/NC No 3/Rev.9, International Organization for Standardization
- [4] Veillet S., (2010) Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation, Thèse/ Académie d'Aix-Marseille Université d'Avignon et des pays de Vaucluse– sciences des procédés – sciences des aliments.
- [5] Angerosa F., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposito S., Montedoro G.F. (2004) *Journal of Chromatography A* 1054:17-31.
- [6] Kiritsakis A.K. (1993) *Olivae* 45(2): 28-33.
- [7] Ajana H., El Antari A., Hafidi A. (1998) *Grasas y Aceites*, 49 (5-6): 405-410.
- [8] Baccouri B., Bentemime S., Campeol E., Ciori P., Daoud D., Zarrouk M. (2006) *Food Chemistry* 102: 851-856.
- [9] Daoudi F.D., Cherif A. (1981) *Revue Française des Corps gras* 5 : 236-245.
- [10] : <https://www.ocl-journal.org/articles/occl/pdf/2014/05/occl130045.pdf>
- [11] Official Journal of the Commission of the European Communities (1997) Regulation N°2472/97, L341.
- [12] Nigri S. (2007) Prédiction, simulation et application à l'analyse des composés organiques par la chromatographie en phase gazeuse, département de chimie, université Badji Mokhtar de Annaba.
- [13] Ruiz – Gutiérrez V., Morgado N., Parada J. (1998). *The Journal of Nutrition* 128 : 570-576.
- [14] Adicom S. (1997). L'huile d'olive et la santé. Edition Comité Oléicole International.

- [15] CODEX ALIMENTARIUS (1981). Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981
- [16] Awad A., Chan K., Downie A., Fink C. (2000). Nutrition and cancer 36: 238-241.
- [17] Graille J. (2003). L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine in lipides et corps gras alimentaire, Ed. Col Science et Technologie. Agro-alimentaire. Lavoisier 80- 105.
- [18] Dionisi F., Prodollit J., Tagliaferri E. (1995) Journal of American Oil Chemist's Society 72: 1505-1511.
- [19] Visioli F., Galli C. (2002) Medicinal Research Reviews 22: 65-75.
- [20] Berra B. (1998) Olivae 73: 29-30.
- [21] Tuck K.L., Hayball P.J. (2002) Journal of Nutritional Biochemistry 13:636-644.
- [22] Servili M., Selvaggini R., Esposto S., Taticchi A., Montedoro G.F., Morozzi G. (2004) Journal of Chromatography 1054: 113-127.
- [23] Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gomez-Caravaca A.M., Segura Carretero A., Fernandez-Gutiérrez A., Lercker G. (2007) Molecules 12: 1679-1719.
- [24] Gandul-Rojas B., Minguez-Mosquera M.I. (1996) Journal of the Science of Food and Agriculture 72(1): 31-39.
- [25] Minguez-Mosquera I., Rejano J.L., Gandul B., Higinio A., Garrido J. (1991) Journal of American Oil Chemist's Society 68: 669-671.
- [26] Boscou, D. (1996) Olive Oil Composition. In Olive Oil: Chemistry and Technology. AOACS Press, USA, pp 52-127.
- [27] Paull, R.E., Chen, N.J. (2000) Postharvest Biology and Technology 21: 21-37.
- [28] Criado, M.N. Motilva, M.J. Goni, M. et Romero, M.P. (2007). Food chemistry 100: 748-755.
- [29] Ryan D., Robards K. (1998) Analyst 123:41-44.

- [30] Manai-Djebali H., Krichène D., Ouni Y., Gallardo L., Sánchez J., Osorio E., Zarrouk M. (2012) *Journal of Food Composition and Analysis* 27(2): 109-119.
- [31] Kataja-Tuomola M., Sundell J.R., Männistö S., Virtanen M.J., Kontto J., Albanes D., Virtamo J. (2008) *Diabetologia*, 51(1) : 47-53.
- [32] Nieves Criado M., Paz Romero M., Casanovas M. et Motilva M. J. (2008) *Food Chemistry* 110: 873–880.
- [33] Léger C.L. (2006) *Interactions. OCL* 13 (1) :59-69.
- [34] Ouaini N. Medawar S. Daoud, R. Ouaini R. Chebib H. Rutledge D., Estephan N. (2005) *New Medit* 4(4): 31-35.
- [35] Pérez, A.G. Luaces, P. Ríos, J.J. Garcia, J.M., Sanz, C. (2003) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6544-6549.
- [36] Tsimidou, M. Papadopoulos, G. et Boskou, D. (1992) *Food Chemistry* 44 : 53-60.
- [37] Bianchi, G. et Pozzi, N. (1994) *Phytochemistry* 35: 1335-1337.
- [38] Kristott, J. (2000) *Fats and oils*. In D. Kilcast, and P. Subramaniam (Eds.), *the stability and shelf-life of food*. Boca Raton, Boston, New York and Washington, DC : CRC Press, 279-309.
- [39] Psomiadou E., Tsimidou M. (1998) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 5132-5138.
- [40] Morelló, J.R., Motilva, M.J., Tovar, M.J., Romero, M.P. (2004) *Food Chemistry* 85 (3): 357-364.
- [41] Di Giovacchino, L., Mucciarella, M.R., Costantini, N., Ferrante, M.L., Surricchio, G., Sestili, S. (2002) *Acta Horticulturae* 586 (2), 567-569.
- [42] Caponio F., TeraBilancia M., Pasqualone A., Sikorska E., Gomes T. (2005) *European Food Research and Technology* 221: 92-98.
- [43] Del Caro, A., Vacca, V., Poiana, M., Fenu, P., Piga, A. (2006)

Food Chemistry 98 (2): 311-316

[44] Mendez, A.I., Falqué E. (2007) Food Control 18, 521-529.

[45] Pristouri, G., Badeka, A., Kontominas, M.G. (2010) Food Control 21 (4): 412-418

[46] Matos L.C., Cunha S.C., Amaral J.S., Pereira J.A., Andrade P.B., Seabra R.M. et Oliveira B.P.P. (2007) Food Chemistry 102:406-414.

[47] Perez-Jimenez F., Ruano J., Perez-Martinez P., Lopez-Segura F., Lopez-Miranda J. (2007) Molecular Nutrition Food Research 51:1199-1208.

[48] Perona J.S. Alonso A., Martinez-Gonzalez M. (2010) Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention 85:807- 812.

[49] Yangui T., Dhouib A., Rhouma A., Sayadi, S. (2009) Food Chemistry 117:1-8.

[50] Al-Rewashdeh A. (2010) Pakistan Journal of Nutrition 9 (1): 15-26.

[51] Jacotot B. (1993) L'huile d'olive, de la gastronomie à la santé. Editions Artulen p 224.

[52] Shklar G., Oh S.K. (2000) Cancer Invest 18: 214-22.

Chapitre II

II.1 Oxydation des lipides :

L'oxydation des lipides a été reconnue comme un problème majeur affectant les huiles comestibles, ceci en influençant négativement leurs propriétés chimiques, nutritionnelle et sensorielle. Initialement, l'oxydation des lipides se fait de manière lente, ensuite, elle augmente soudainement, et la durée de la première étape est appelée « période d'induction » ou « temps d'induction » [1].

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'oxydation des lipides [2]. Ils peuvent être classés en :

Facteurs intrinsèques : composition en acides gras des lipides, présence d'espèces prooxydantes (ions métalliques, enzymes) ou d'antioxydants naturels (tocophérols).

Facteurs extrinsèques : température, lumière, pression partielle en oxygène, présence de prooxydants exogènes.

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

L'auto-oxydation, initiée par la température, les ions métalliques, ou les radicaux libres correspondants à des lipides déjà oxydés.

La photo-oxydation, initiée par la lumière UV en présence de photosensibilisateurs.

L'oxydation enzymatique, catalysée par la lipoxygénase et la cyclooxygénase.

II.2 Types d'oxydations :

II.2.1 auto-oxydation :

L'auto-oxydation des lipides est une réaction radicalaire en chaîne auto-catalytique.

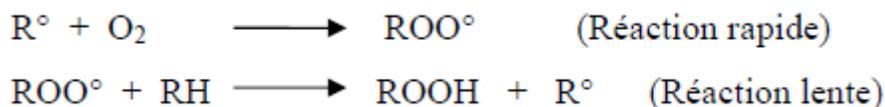
L'auto-oxydation semble donc être un mécanisme principal dans l'oxydation de lipide. Elle produit principalement les hydro-péroxydes et les composés volatils, généralement par un processus triphasé (initiation, propagation, terminaison) [3].

Initiation :

En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre centré sur le carbone (R°) (radical alkyle).

**Propagation :**

Le radical alkyle, très réactif, fixe une molécule d'oxygène, pour former un radical hydroperoxyde instable, centré sur l'oxygène. Celui-ci arrache à son tour un hydrogène labile d'un deuxième acide gras, formant un hydroperoxyde non radicalaire plus stable, mais générant une nouvelle espèce radicalaire sur le deuxième acide gras.



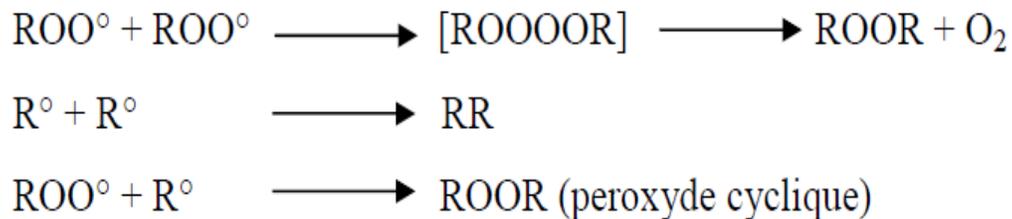
La phase de propagation peut elle-même être décomposée en deux étapes séquentielles [4] :

1- La première étape correspond à l'apparition des peroxydes, composés primaires d'oxydation, à partir des radicaux libres instables : la quantité de peroxydes formés peut être évaluée analytiquement grâce à la détermination de l'indice de peroxyde.

2- La deuxième étape se traduit par l'évolution des hydroperoxydes en composés secondaires d'oxydation.

Terminaison :

Pendant cette phase, les espèces radicalaires réagissent entre elles pour donner des espèces non radicalaires, mettant ainsi fin aux cycles réactionnels.



II.2.2 Photo-oxydation :

La photo-oxydation est une voie de peroxydation lipidique initiée par des substances photosensibilisatrices. Elle correspond à la dégradation oxydative des lipides en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photo-sensibilisateurs [5, 6, 7]. Dans ce mécanisme, les pigments et les colorants alimentaires : (chlorophylle, certains colorants, certaines vitamines), peuvent agir comme photosensibilisateur grâce à leur capacité à absorber la lumière [8]. En présence d'un photo-sensibilisateur, l'énergie lumineuse convertit l'oxygène triplet (3O_2) en oxygène singulet (1O_2), qui peut réagir directement sur les doubles liaisons insaturées des chaînes grasses [8, 9]. En effet, dans son état fondamental, la molécule d'oxygène sous son état triplet est stable et incapable de réagir avec les acides gras insaturés. Les photo-sensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes [8].

Le premier mécanisme :

Les molécules photosensibles réagissent dans leur état excité avec l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner un oxygène singulet [8]. L'oxygène singulet est très réactif et peut attaquer les acides gras insaturés pour former les hydroperoxydes.



Le deuxième mécanisme :

La molécule photosensible dans son état excité agit comme les radicaux libres initiateurs et arrache un hydrogène de l'acide gras insaturé pour former un radical libre qui est capable de réagir avec la molécule d'oxygène dans son état fondamental [8].



II.2.3 Oxydation enzymatique :

L'enzyme principalement impliquée est la lipoxygénase [10]. La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique, et aboutit à la formation d'hydroperoxydes. Elle agit spécifiquement sur les

acides gras non estérifiés. Son activité est souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases.

II.3 Produits formés au cours de l'oxydation des lipides :

Les produits primaires de l'oxydation des huiles se composent essentiellement d'hydroperoxydes

Variés : radicaux libres, diènes conjugués [11, 12].

Les hydro-peroxydes, produits primaires de la réaction, sont des molécules instables. Ils se décomposent sous l'effet de la chaleur ou des métaux en donnant naissance à des produits secondaires : aldéhydes, alcools, cétones, les composés volatils. Ces derniers volatils sont à l'origine de la modification de l'odeur des produits oxydés [11, 12].

II.4 Principaux facteurs influençant l'oxydation lipidique :

Les principaux facteurs impliqués dans l'oxydation de l'huile d'olive au cours de stockage sont : la température, la lumière, la pression partielle en oxygène, et la composition chimique de l'huile d'olive notamment en les traces métalliques. Le contrôle ou l'inhibition de l'oxydation des lipides est basé sur la maîtrise et le contrôle de ces facteurs.

II.4.1 L'oxygène :

Les travaux de Gutierrez ont montré que la quantité d'oxygène dissoute dans l'huile, qui ne peut être retirée, conditionne l'intensité de l'oxydation car la vitesse de la réaction d'oxydation est directement liée à la pression partielle en oxygène [13]. Ainsi la perméabilité en oxygène de l'emballage et le volume libre d'air en tête conditionnent la bonne conservation de l'huile au cours de son stockage [13, 14, 15].

D'après Pristouri, l'emballages plastiques, ne protègent l'huile que durant quelques mois (3-6 mois) du fait de leur perméabilité en oxygène qui varie selon le classement suivant : PVC (chlorure de polyvinyle) > PET (téréphtalate de polyéthylène) > PP (polypropylène) > PS (polystyrène). Certains de ces plastiques ont pourtant l'avantage d'être opaques mais le rôle de l'oxygène est un facteur clé plus important que la lumière dans le rancissement des huiles [15].

Pour réduire le risque d'oxydation durant le stockage, le volume en tête de l'emballage peut être aussi rempli par un gaz inerte. Di Giovacchino et al. (2002) [16] ont étudié l'influence du taux de remplissage d'une bouteille d'huile d'olive remplie à 60, 90 ou 98% avec de l'air ou de l'azote, stockée sous différentes conditions de température et ont montré que la présence d'azote ralentissait le processus d'oxydation et augmentait sa résistance à l'oxydation sans changer ses qualités organoleptiques.

II.4.2 La température :

La température est connue comme le facteur plus influençant sur la réaction d'auto-oxydation [17].

Cette dépendance vis-à-vis de la température est difficile à prévoir car un grand nombre de paramètres entrent en jeu. L'effet de la température est complexe parce qu'elle augmente la vitesse d'oxydation de l'huile tout en diminuant la solubilité de l'oxygène dans l'huile et en favorisant la décomposition des hydroperoxydes en divers produits secondaires [18, 19]. De sa part, Gómez-Alonso et al. (2004) [17] ont montré que la constante de vitesse de cette réaction augmentait exponentiellement en fonction de la température lorsqu'une huile dépourvue de pro- et d'antioxydants est placée à l'abri de la lumière.

II.4.3 La lumière :

L'exposition de l'huile de l'olive à la lumière initie l'auto-oxydation [13] et entraîne une photo-oxydation de l'huile [37]. Les huiles exposées à la lumière, même sous un faible rayonnement UV, sont moins stables que celles conservées à l'abri de la lumière. Caponio et al. (2005), Luna et al. (2006) et Kiritsakis et al. (1985) [20, 21, 22] ont montré qu'il existe une différence de comportement entre la chlorophylle a et les phéophytines (a et b) après huit heures d'illumination de l'huile d'olive : les peroxydes se forment en plus grande quantité en présence de phéophytines. De plus, l'huile enrichie en chlorophylles devient incolore, preuve de la dégradation de ceux-ci, alors que celle contenant les phéophytines conserve sa couleur.

II.4.4 La composition chimique de l'huile :

La stabilité oxydative d'une huile est due, non seulement à sa grande proportion en acides gras mono insaturés par rapport aux polyinsaturés, mais aussi à la présence des certains composés mineurs qui ont une activité anti oxydante importante [17].

L'oxydation lipidique augmente avec le degré d'insaturation des acides gras [23] et la présence d'acides gras libres aurait un effet pro-oxydant de part la présence du groupement carboxylique [24, 25, 26].

La présence des métaux de transition comme le fer et le cuivre peut inciter l'auto-oxydation en catalysant la décomposition des hydroperoxydes [27, 28].

La stabilité oxydative d'une huile est directement liée à sa composition en phénols [29] qui jouent un rôle protecteur en bloquant la phase de propagation de l'auto-oxydation des acides gras insaturés [30] en piégeant les radicaux libres et en chélatant les métaux [31]. L'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenylethanol) s'est révélé être l'antioxydant le plus efficace [32, 33, 34].

D'autres composés mineurs jouent aussi un rôle protecteur non négligeable dans la stabilité des huiles d'olive. La teneur initiale en β -tocophérol de l'huile influence beaucoup sa résistance à l'oxydation et est étroitement corrélée avec la quantité de diènes conjugués durant le stockage [30]. Sa concentration diminue si l'oxygène est régulièrement renouvelé [35] et décroît plus vite lorsque l'huile est stockée à la lumière [20]. Le β -tocophérol inhibe l'auto- et de la photooxydation.

L'effet du β -carotène diminue progressivement car les caroténoïdes sont dégradés par la lumière et la température. En présence de chlorophylles, qui sont des photosensibilisateurs transformant, sous l'effet de la lumière, l'oxygène atmosphérique en oxygène singulet très réactif, les carotènes et tocophérols sont détruits plus rapidement car ils désactivent l'oxygène singulet.

De manière générale, les effets de ces différents composés mineurs sur la stabilité d'une huile sont nettement moins significatifs à l'obscurité qu'à la lumière [36].

Caponio et al. (2005) [20] suggèrent qu'à la lumière, l'huile est protégée principalement par les tocophérols et les caroténoïdes alors que les substances phénoliques ont alors un rôle secondaire.

À l'obscurité, ce sont les phénols qui se révèlent être les composés les plus impliqués pour protéger l'huile de son auto-oxydation.

II.5. Formation et décomposition des hydroperoxydes : application à l'acide oléique (18 :1 n-9) :

Le type d'hydroperoxydes produits au cours de l'oxydation varie selon l'acide gras considéré [38, 39].

Nous allons détailler la formation des produits d'oxydation issus de l'acide oléique (18 :1 n-9)

II.5.1 Formation des hydroperoxydes :

L'initiation entraîne la libération d'un hydrogène en α , de la double liaison, qui se situe sur les carbones 8 ou 11, et donne deux radicaux allyliques. Par la suite, l'oxygène se fixe sur l'un des deux carbones terminaux de ces radicaux et les 8-, 9-, 10- et 11- monohydroperoxydes oléiques se forment (Figure II.1).

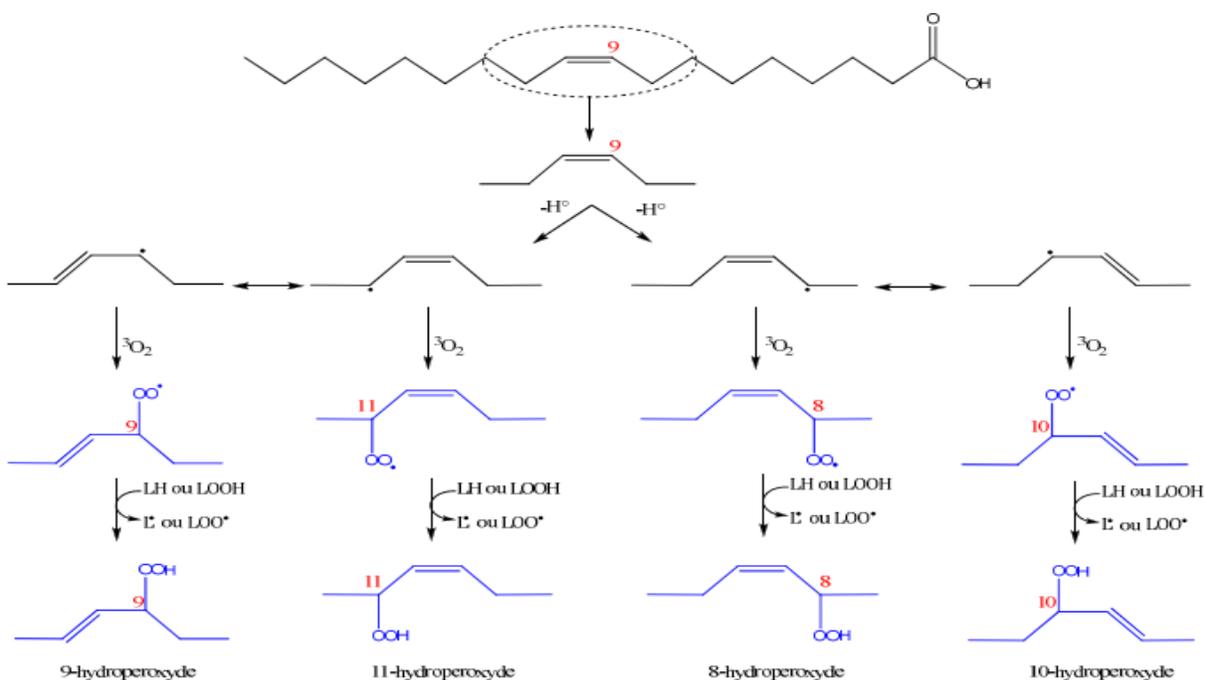


Figure II.1 : Mécanisme de formation des 8-, 9-, 10- et 11- monohydroperoxydes à partir de l'acide oléique [18].

II.5.2 Décomposition des hydroperoxydes et produits secondaires formés :

En présence de métaux ou à des températures élevées, les hydroperoxydes se décomposent pour former des composés secondaires d'oxydation, qui sont responsables de la dégradation des qualités organoleptiques des aliments. La nature de ces composés dépend de l'acide gras initial, notamment son degré d'insaturation, du type d'hydroperoxyde formé et de la localisation de la rupture homolytique. Les composés secondaires qui se forment suite à la scission des hydroperoxydes d'acides oléique est présentée dans la (Figure II.2)

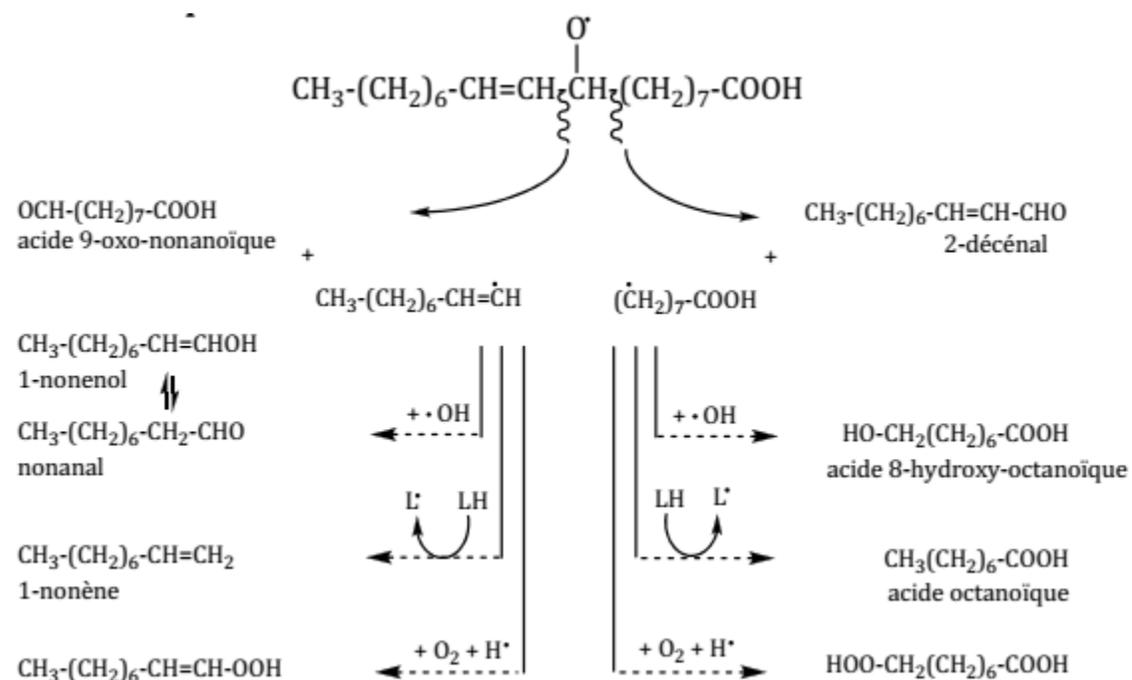


Figure II.2: Formation des composés secondaires d'oxydation à partir des monohydroperoxydes des acides oléiques [18].

Références

- [1] Joaquin V., Carmen D. (2002) *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 661-676.
- [2] Hsieh R. J., Kinsella J. E. (1989) « Oxidation of Polyunsaturated Fatty Acids Mechanisms, Products, and Inhibition with Emphasis on Fish » In *Advances in Food and Nutrition Research*, edited by Kinsella J. E., Academic Press. 33: 233-341
- [3] Laguerre M. (2007). Evaluation of the stability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research* 46(5) : 244-282.
- [4] Judde. A. (2004) *Oilseeds & fats Crops and Liquids* 11(6): 414-418.
- [5] Choe, E., Min D. B. (2006) *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5 (4):169-86.
- [6] Choe, E., Min D. B. (2009) *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8 (4):345-58.
- [7] Shahidi, F., Zhong Y. (2010) *Chemical Society Reviews* 39 (11): 4067-4079.
- [8] Frankel E. N. (2012) Chapter 3 - Photooxidation of unsaturated fats ». In *Lipid Oxidation*, edited by Frankel E. N., Oily Press Lipid Library Series. Woodhead Publishing, Cambridge, 51-66.
- [9] Hultin H. O. (1994) « Oxidation of Lipids in Seafoods ». In *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*, edited by Shahidi F., & Richard Botta J. R., Springer Science+ Business Media, Surrey: 49-74.
- [10] St Angelo. J. A (1996) *Critical reviews in food science and nutrition* 36 (3): 175-224.
- [11] Joaquín V., Carmen D. (2002) *European Journal of Lipid Science and Technology* (104): 661–676.
- [12] Villier A., Genot C. (2006) *Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des Lipides en émulsions*. Edition Médicales et Scientifiques, France (4) : 1-7.

- [13] Gutiérrez-Rosales F., Gómez-Herrera C., Gutierrez-González-Quijano, R., (1988) *Grasas y Acietes* 39 : 245-253.
- [14] Mendez A.I., Falqué E. (2007) *Food Control* 18: 521-529.
- [15] Pristouri G., Badeka A., Kontominas M.G. (2010) *Food Control* 21 (4): 412-418.
- [16] Di Giovacchino L., Mucciarella M.R., Costantini N., Ferrante M.L., Surricchio G., Sestili S. (2002) *Acta Horticulturae* 586 (2) : 567-569.
- [17] Gómez-Alonso S., Mancebo-Campos V., Salvador M.D., Fregapane G. (2004) *European Journal of Lipid Science and Technology* 106:369-375.
- [18] Frankel E.N. (1998) *Lipid oxidation*. The oily press, Dundee (UK).
- [19] Velasco J., Dobarganes C. (2002) *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 661-676.
- [20] Caponio F., Tessa Bilancia M., Pasqualone A., Sikorska E., Gomes T. (2005) *European Food Research and Technology* 221:92-98.
- [21] Luna G., Morales M.T., Aparicio R. (2006) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (13): 4790- 4794.
- [22] Kiritsakis A., Dugan L.R. (1985) *Journal of the American Oil Chemists' Society* 62 (5):892-896.
- [23] Holman R.T., Elmer O.C. (1947) *Journal of the American Oil Chemists Society* 24: 127-129.
- [24] Miyashita K., Frankel E.N., Neff W.E., Awl R.A. (1990) *Lipids* 25 (1):48-53.
- [25] Kiritsakis A., Tselipi A. (1992) *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* 69 (10) : 513-515.
- [26] Frega N., Mozzon M., Lercker G. (1999) *Journal of the American Oil Chemists' Society* 76: 325-329.
- [27] Angerosa F., Di Giacinto L. (1993) *Revue Francaise des Corps Gras* 40 (1-2) : 41-48.

- [28] Bendini A., Cerretani L., Vecchi S., Carrasco-Pancorbo A., Lercker G. (2006) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (13):4880- 4887.
- [29] Guillén M.D., Cabo N. (2002) *Journal of Food Chemistry* 77: 503-510.
- [30] Deiana M., Rosa A., Cao C.F., Pirisi F.M., Bandino G., Dessi M.A. (2002) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (15):4342- 4346.
- [31] Chimi H., Cillard J., Cillard P., Rahmani M. (1991) *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68 (5): 307-312.
- [32] Papadopoulos G., Boskou D. (1991) *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68 (9): 669-671.
- [33] Tsimidou M., Papadopoulos G., Boskou D. (1992) *Food Chemistry* 45 (2): 141–144.
- [34] Baldioli M., Servili M., Perretti G., Montedoro G.F. (1996) *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73 (11):1589-1593.
- [35] Psomiadou E., Tsimidou M. (2002) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 722-727.
- [36] Ben Tekaya I., Hassouna M. (2007). *Oléagineux Corps Gras Lipides* 14 (1): 60-67.
- [37] Jadhav S.J., Nimbalkar S.S., Kulkarni A.D., Madhavi D.L. (1996). Lipid oxidation in biological and food systems. *Food Antioxidants*. Madhavi, D.L., Deshpande S.S. Salunkhe D.K., Marcel Dekker Eds. P.5. New York, USA.
- [38] Frankel E. N., Neff W. E., Bessler T. R. (1979) *Lipids* 14 (12): 961-67.
- [39] Frankel E. N., Neff W. E., Rohwedder W. K., Khambay B. P. S., Garwood R. F., Weedon B. C.L. (1977) *Lipids* 12 (11): 901-907.

Chapitre III

Le but de cette étude est d'examiner l'effet des conditions de stockage : type d'emballage et la lumière sur la stabilité d'huile d'olive.

Ce chapitre a pour objectif de présenter les protocoles expérimentaux et les méthodes de caractérisation exploitées dans cette étude.

Les flacons sont codés comme le montre le tableau.

III.1 Echantillonnage :

50 ml de l'huile d'olive extra vierge du marché local est stocké depuis le 15 février 2019 dans trois types de flacons en : verre transparent, verre marron et plastique (PET) fermés exposés à la lumière et dans l'obscurité.

Tableau III.1: Echantillons étudiés

Code	Type d'emballage	Conditions de stockage
A1	Verre ombré (marron)	Exposé à la lumière
B1	Verre transparent	Exposé à la lumière
C1	Plastique (PET)	Exposé à la lumière
A2	Verre marron	à l'abri de la lumière
B2	Verre transparent	à l'abri de la lumière
C2	Plastique (PET)	à l'abri de la lumière

-L'étude des propriétés physicochimiques de l'huile d'olive a été réalisée sur deux périodes où chaque échantillon est soumis à deux expériences :

- La première expérience (**E₁**) : Après 45 jours de stockage.
- La dernière expérience (**E₂**) : Après 75 jours de stockage.

-La caractérisation spectroscopique de l'huile d'olive a été réalisée une seule fois après 90 jours de stockage.



Figure III.1: Echantillons d'huile d'olive étudiés.

III.2 Propriétés physicochimiques :

III.2.1 Indice d'acide :

a. Définition :

L'indice d'acide d'une huile végétale est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres (AGL) contenus dans 1 g de corps gras. Il mesure la quantité d'AGL présents dans un corps gras.

b. Principe :

Il s'agit de dissoudre la matière grasse dans l'éthanol chaud neutralisé, puis titrer les (AGL) présents au moyen d'une solution titrée de KOH en présence de phénolphtaléine comme indicateur de fin de titrage.

L'équation de la réaction est la suivante :



c. Matériels et réactifs utilisés :

Le tableau suivant rassemble le matériel et les réactifs relatifs à la détermination de l'indice d'acide :

Tableau III.2: Matériels et réactifs relatifs à l'indice d'acide.

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance analytique. • Erlenmeyer. • Pipettes. • Burette. 	<ul style="list-style-type: none"> • L'eau distillée. • Solution d'éthanol. • Solution de phénophtaléine à 1%. • Solution d'hydroxyde de sodium.

d. Mode opératoire :

- Peser 1g de corps gras dans un erlenmeyer en verre.
- Ajouter 5 ml d'éthanol à 95% et 5 gouttes de phénophtaléine (PP) à 0.2%.
- Neutraliser en agitant par une solution éthanoïque de KOH (0.1 mole /l) jusqu'à obtention d'une couleur rose persistante.

e. Méthode de calcul :

L'indice d'acide est calculé par la formule suivante [1] :

$$I_a = \frac{V \times 56.1 \times N}{P} \quad (\text{En mg de KOH / g d'huile}) \quad (\text{III.1})$$

56.1 = Masse moléculaire relative de KOH.

V : Volume de KOH (0.1 mole /l) en ml

N : Normalité de la solution de KOH (0.1mole /l)

P : Poids de la prise d'essai en g

-L'acidité libre peut être exprimée en pourcentage d'acide oléique libre selon la formule [2] :

$$\% \text{ ac. oléique} = \frac{V (\text{KOH}) \times N \times M}{P} \quad (\text{III.2})$$

V : est le volume en ml de la solution titrée de KOH utilisé,

N : est la normalité exacte, en moles /litre, de la solution titrée de KOH utilisé,

M : est le poids molaire de l'acide oléique adopté pour l'expression du résultat (282 g/mole).

P : est la prise d'essai en grammes.

III.2.2 Indice de peroxyde :

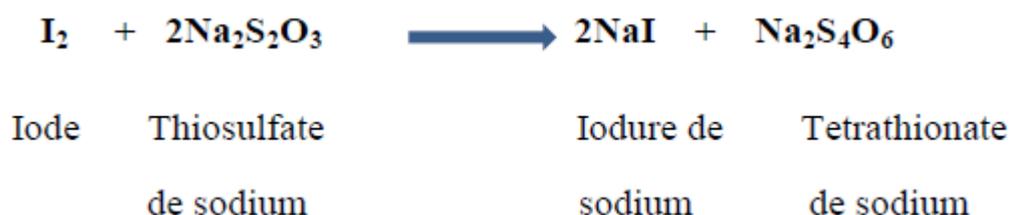
a. Définition :

L'indice de peroxyde mesure le degré de rancidité des matières grasses due à l'exposition à l'air, ce qui entraîne la formation des peroxydes à partir des acides gras non saturés.

b. Principe :

Le principe repose sur l'oxydation de l'iodure par l'oxygène actif des peroxydes contenus dans les huiles en milieu acide. L'iode libéré est ensuite dosé en retour par le thiosulfate de sodium titré.

L'équation de la réaction est la suivante :



c. Matériels et réactifs utilisés :

Le tableau suivant regroupe le matériel et les réactifs nécessaires à la détermination de l'indice de peroxyde :

Tableau III.3: Matériel et réactifs relatifs à la détermination de l'indice de peroxyde.

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance analytique • Burette • Erlenmeyer de 250ml • Pipette 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Chloroforme • Acide acétique • Empois d'amidon • Solution aqueuse saturée d'iodure de potassium. • Solution aqueuse de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.01N

d. Mode opératoire :

- Peser dans un erlenmeyer de 250 ml, 1 g d'huile d'olive.
- Ajouter 10 ml chloroforme et dissoudre rapidement la prise d'essai en agitant.
- Ajouter 15 ml d'acide acétique puis 1 ml d'une solution d'iodure de potassium (KI).
- Boucher l'erlenmeyer, bien mélanger et placer dans l'obscurité pendant 5 mn et à une température comprise entre 15 et 25 °C.
- Ajouter 75 ml d'eau distillée et bien agiter.
- Titrer l'iode libéré par le thiosulfate de sodium en présence d'amidon comme indicateur.
- Effectuer de la même façon un essai à blanc.

e. Préparation des solutions :

- **Empois d'amidon :** On pèse environ 1g d'amidon et on le dissout dans 100 ml d'eau distillée.
- **Solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 0.01N :** Dissoudre 0.4033g de ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (H_2O) dans un 250 mL d'eau distillée.

f. Méthode de calcul :

$$I_p = \frac{(V-V_0) \times N \times 1000}{P} \quad \text{(III.3)}$$

V_0 : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour l'essai à blanc.

V : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour le titrage.

N : est la normalité exacte, en mole par litre, de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisée.

P : est la prise d'essai en grammes.

III.2.3 Indice de saponification

a. Définition

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et saponifier les acides gras combinés (esters) présents dans un gramme de l'huile d'olive.

b. Principe

Il s'agit de traiter l'ester par de la potasse suffisamment concentrée et chaude, ce qui régénère suivant une réaction totale de l'alcool et le sel de potassium de l'acide en donnant naissance à un ester.

c. Matériels et réactifs utilisés

Le tableau suivant rassemble le matériels et les réactifs relatifs à la détermination de l'indice de saponification :

Tableau III.4 : Matériels et réactifs relatifs à l'indice de saponification.

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance analytique • Fiole de bouchons • Burette • Pipette jaugée 	<ul style="list-style-type: none"> • Potasse alcoolique de concentration KOH 0.5 mol/l. • Acide chlorhydrique HCL de concentration 0.5 mol/l • Phénolphtaléine • Ethanol

d. Mode opératoire :

- Peser 2g de l'huile d'olive dans un ballon puis on ajoute 25ml de potasse alcoolique de concentration 0,5 mol /l.
- Placer le ballon dans un bain marie bouillant pendant 45 à 60 minutes.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 2%.

- Doser l'excès de potasse par d'acide chlorhydrique de concentration 0.5 mol /L tout en agitant constamment jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphtaléine.
- Effectuer dans les mêmes conditions un essai à blanc.

e. Méthode de calcul :

L'indice de saponification est calculé par la formule suivante [1] :

$$IS = \frac{(V_0 - V) \times N \times 56.1}{P} \quad \text{(III.4)}$$

- V_0 : Volume en ml de HCl utilisé pour l'essai à blanc.
- V : Volume en ml de HCl utilisé pour l'échantillon à analyser.
- N : la normalité de la solution d'acide chlorhydrique 0.5N.
- P : prise d'essai en grammes.

III.2.4 Indice d'iode :

a. Définition :

L'indice d'iode, appelé aussi indice de Hubl, est la masse en gramme d'iode fixé sur les doubles liaisons présentes dans 100 g de l'huile d'olive [3].

La méthode Wijs est certainement la plus utilisée du fait que le réactif, prêt à l'emploi, est disponible dans le commerce.

b. Principe :

Il s'agit d'ajouter, à une prise d'essai, une solution de mono-chlorure d'iode dans un mélange formé d'acide acétique et de tétrachlorure de carbone. Après un temps donné de réaction, réduire l'excès de mono-chlorure d'iode par addition d'une solution d'iodure de potassium et d'eau puis titrer avec du thiosulfate de potassium.

c. Matériel et réactifs utilisés :

Le tableau suivant regroupe les matériels et réactifs relatifs à l'indice d'iode :

Tableau III.5 : Matériels et les réactifs relatifs à l'indice d'iode.

Matériel	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance analytique. • Erlenmeyer. • Pipettes. • Burette. 	<ul style="list-style-type: none"> • L'eau distillée. • Solution d'éthanol. • Réactifs de Wijs. • Solution d'empois d'amidon. • Solution d'iodure de potassium. • Solution de thiosulfate de potassium (0.1N).

d. Mode opératoire

- Peser 0.2 g de l'huile d'olive dans un flacon de 250 ml.
- Ajouter 15 ml du tétrachlorure de carbone et 15 ml du réactif de Wijs.
- Après avoir bouché et agité, envelopper avec du papier noir et laisser reposer pendant une heure.
- Ajouter 20 ml d'iodure de potassium à 10% préparé instantanément et 150 ml d'eau distillée.
- Titrer avec la solution de thiosulfate de sodium à 0.1N jusqu'à ce que la couleur jaune due à d'iode ait presque disparu.
- Ajouter quelques gouttes d'empois d'amidon et poursuivre le titrage jusqu'à la disparition de la couleur bleu violette, la solution devient alors transparente.
- Effectuer de la même façon un essai à blanc.

e. Méthode de calcul

L'indice d'iode est donné par la formule établie ci-dessous [1] :

$$I_i = \frac{(V_0 - V) \times N \times 12.69}{P} \quad \text{(III.5)}$$

- V_0 : Volume en (ml) thiosulfate de sodium à (0.1N) nécessaire pour titrer l'essai à blanc.
- V : Volume en (ml) thiosulfate de sodium à (0.1N) nécessaire pour titrer l'échantillon.
- P : prise d'essai en grammes.
- N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium à (0.1N)

III.3 Méthode de caractérisation :

III.3.1 Analyse spectroscopique dans l'UV-visible :

Les mesures par spectroscopie UV-visible sont effectuées au laboratoire de Chimie Appliquée de l'université de Guelma, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type : UV-1800 Séries équipé d'une cuve en quartz de 1 cm d'épaisseur.

III.3.1.1 détermination de K270 et K232 :

- L'oxydation de l'huile d'olive en particulier ceux contenant l'acide linoléique, conduit à la formation d'hydroxypéroxyde linoléique, diène conjugué qui absorbent au voisinage de 232 nm.
- Si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent vers 270 nm.
- L'extinction à 232 nm et à 270 nm d'un corps gras brut peut donc être considérée comme une image de son état d'oxydation.
- Plus l'extinction à 270 est forte, plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation

a. Mode opératoire :

- Peser 0.1 g d'huile d'olive dans une fiole de 50 ml.
- Ajouter 10 ml du cyclohexane.
- Introduire l'échantillon ainsi préparé dans une cuve de 1 cm et procéder à la détermination de son absorbance par rapport à celle de l'hexane ou du cyclohexane dans la cuve témoin.
- Les absorbances sont déterminées aux longueurs d'ondes 270 nm et 232 nm.
- Si l'absorbance est inférieure à 0.2 recommencer la mesure sur une solution plus concentrée.
- Si elle est supérieure à 0.8 recommencer la mesure sur une solution diluée.

b. Méthode de calcul :

Les valeurs d'extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm et le ΔK sont calculées selon Les formules suivantes :

$$E = \frac{A\lambda}{C \times L} \quad (\text{III.6})$$

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

A_λ : absorbance mesurée à la longueur d'onde λ .

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

L : longueur du trajet optique (1 cm).

$$\Delta K = K_{270} - \frac{1}{2}(K_{266} + K_{274}) \quad (\text{III.7})$$

K_{232} : extinction spécifique à $\lambda=232$ nm

K_{270} : extinction spécifique à $\lambda= 270$ nm.

K_{266} : extinction spécifique à $\lambda= 266$ nm

K_{274} : extinction spécifique à $\lambda=274$ nm.

P =Prise d'essai en g.

- ❖ La détermination de la variation de l'extinction spécifique ΔK selon l'équation suivante : $\Delta K = K_m - (K_{m-4} + K_{m+4}) / 2$ où K_m est l'extinction spécifique à la longueur d'onde d'absorbance maximale m , aux environs de 270 nm.

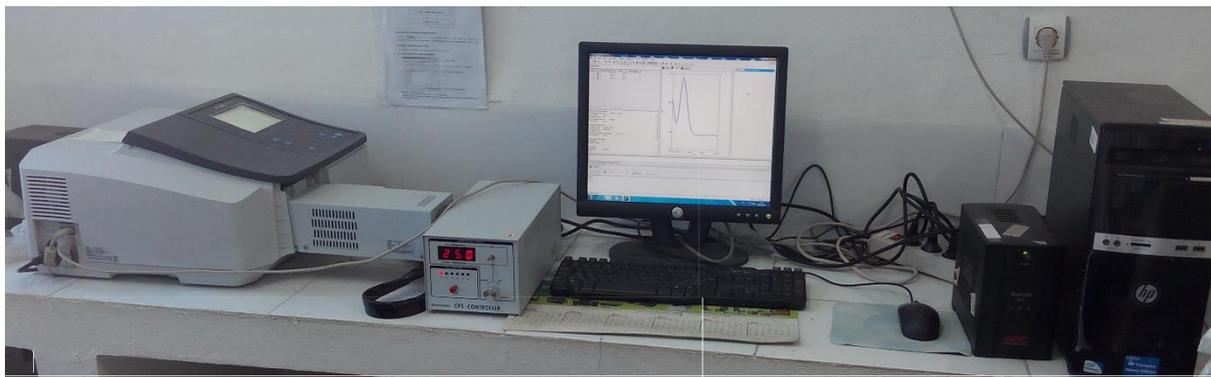


Figure III.2: Spectrophotomètre UV-Visible.

III.3.1.2 Dosage des caroténoïdes totaux :

a. Principe :

Le β -carotène, est généralement le composé le plus abondant et le plus commun dans les corps gras d'origine végétale. On se base sur le fait que les pigments caroténoïdes présentent des structures voisines et donc qu'ils ont tous la propriété d'absorber la lumière entre 400 et 500 nm.

b. Appareillage :

Nous avons utilisé un Spectrophotomètre visible de type : *PRIM* ; *SICOMAM* équipé d'une cuve de 1 cm d'épaisseur.

c. Mode opératoire :

Dissoudre 1 g d'huile dans 10 ml du cyclohexane. Déterminer l'absorbance de cette solution à 470 nm, en utilisant comme référence le cyclohexane. Caroténoïdes totaux exprimés en β -carotène en mg/kg d'huile :

$$\text{Caroténoïdes (mg/kg)} = \frac{\text{Abs } 470 \times 10^6}{2000 \times 100 \times T} \quad (\text{III.8})$$

Avec :

- **Abs 470**: Absorbance à 470 nm.
- **T**: Le trajet optique = 1 cm.
- **2000** : Coefficient d'extinction β -carotène dans l'huile.

III.3.1.3 Dosage quantitatif des chlorophylles :

a. Principe :

La teneur en chlorophylles dans les huiles est déterminée selon la méthode décrite par Wolf [1], basée sur une quantification par spectrophotométrie.

b. Appareillage :

Nous avons utilisé un spectromètre visible de type : équipé d'une cuve de 1 cm d'épaisseur.

c. Mode opératoire :

Dissoudre 1 g d'huile dans 10 ml du cyclohexane. Déterminer l'absorbance de cette solution à 670 nm, en utilisant comme référence le cyclohexane. La teneur en chlorophylle dans l'huile est exprimée en milligrammes par kilogramme de l'huile d'olive est donnée par la relation suivante :

$$\text{Chlorophylles (mg/kg)} = \frac{\text{Abs } 670 \times 10^6}{613 \times 100 \times T} \quad (\text{III.9})$$

Avec :

- **Abs 670** : absorbance à 670 nm.
- **T** : Le trajet optique = 1 cm.

- **613** : coefficient d'extinction de la chlorophylle dans l'huile.

III.3.1.4 Dosage des polyphénols par la méthode de folin-ciocalteu :

a. Principe :

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec la spectroscopie UV-Vis en utilisant l'essai de folin-Denis ou généralement folin ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif de folin) dans une solution alcaline [4].

b. Mode opératoire :

A 125 μ l de l'huile d'olive sont ajoutés 125 μ l de folin-ciocalteu, après 5 min de repos, 1250 μ l de carbonate de sodium (7 %) est additionné, et finalement ajouter 3 ml d'eau distillée.

Après une heure de la réaction, à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 760 nm, la teneur en composés phénolique est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par 100 grammes d'échantillon.

c. Préparation de la gamme d'étalonnage :

- Peser 0.5 mg d'acide gallique.
- Dissoudre cette quantité dans 50 ml d'éthanol, soit une solution (S_0) avec une concentration de 0.01 mg/ml.
- Diluer la solution mère comme suit :
- Prélever 5 ml de la solution mère puis ajouter 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution $S_0/2$ de la solution S_1 .
- Prélever 5 ml de la solution S_1 puis ajouter 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution $S_0/4$ de la solution S_2 .
- Refaire la même procédure pour les autres dilutions.

d. Traçage de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

- Prélever 125 μ l de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essais.
- Ajouter 125 μ l de réactif de folin-ciocalteu.
- Après 5 min de repos, ajouter 1250 μ l de carbonate de sodium à 7 %.
Rajouter 3 ml d'eau distillée.
- Laisser incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Le blanc est représenté par 125 μ l d'eau distillée additionnée de 125 μ l de réactif de folin-ciocalteu et 1250 μ l de carbonate de sodium à 7 % puis ajouter 3 ml d'eau distillée.
- La lecture des absorbances est faite à 760 nm, après agitation et repos d'une heure. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

III.3.2 Analyse par infrarouge :

Cette partie est été réalisée au niveau du laboratoire d'Analyse Industrielles et Génie des Matériaux (LAIGM) de l'université de Guelma.

Le spectromètre utilisé est un Spectrum one de Perkin Elmer piloté par un micro-ordinateur menu d'un logiciel d'acquisition des données Spectrum permettant l'enregistrement des spectres dans le moyen infrarouge en fonction de la combinaison source /séparatrice /détecteur utilisée.

Une goutte de chaque huile est déposée et bien étalée sur la surface centrale de la pastille en KBr à l'aide d'un tube capillaire. Le nettoyage de la cellule après chaque mesure est effectué avec le chloroforme. Après collection des données un prétraitement des spectres été réalisé :



Figure III.3: Spectromètre FTIR « Spectrum One »

Les prétraitements ont deux objectifs principaux : l'amélioration du signal, et la condensation des données. Les prétraitements visant à améliorer le signal sont évidemment en relation avec le mode ultérieur d'exploitation des données spectrales et incluent :

- 1- la réduction du bruit dans les spectres
- 2- l'élimination de l'effet des déformations de la ligne de base
- 3- l'affinage de la position des bandes d'absorption
- 4- l'élimination des variations d'intensité globale sans intérêt.

Références

- [1] Wolff J. P. (1968) Manuel d'analyses des corps gras. Ed. Aznulay, Paris.
- [2] Organisation Internationale de Normalisation : ISO 660 : (1996) Corps gras d'origines animale et végétale -Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité.
- [3] Salgarolo P. (2003) Pratique des manipulations de chimie-à l'usage des biologistes techniques et documentation-Lavoisier 229-237.
- [4] Smith B., Li B.B., Hossain MM. (2006) Seperation Purfication Technology 48 :182-188

Chapitre IV

L'huile d'olive est la résultante d'une série d'interactions entre facteurs génétiques, environnementaux et technologiques, sa composition chimique peut subir des variations dues à certains facteurs intervenant pendant les différents stades du cycle de production de l'huile, depuis sa formation dans le fruit jusqu'à son stockage.

L'étude de l'effet des conditions de stockage d'une huile d'olive extra vierge sur sa qualité et sa stabilité oxydative a été réalisée à travers le calcul des différents indicateurs chimiques et physiques.

IV.1 Indices chimiques :

IV.1.1 Détermination d'indice d'acide :

L'acidité permet d'estimer le taux de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acide gras des triglycérides. Le **Tableau IV.1** et la **Figure IV.1** présentent l'évolution de l'indice d'acide des différents échantillons.

Les résultats indiquent que Le taux d'acidité augmente au cours de temps et varie selon le type d'emballage. Cette augmentation peut être à l'origine de l'hydrolyse des triglycérides et la libération des acides gras libres.

Tableau IV.1 : Indices d'acide de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps

Conditions de stockage	Exposées à la lumière			Obscurité		
	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET
Echantillons	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Indice d'acide (mg de KOH / g) E1	9.2565	10.098	9.537	7.293	7.293	8.976
Indice d'acide (mg de KOH / g) E2	24.684	25.245	25.806	21.879	26.928	24.403

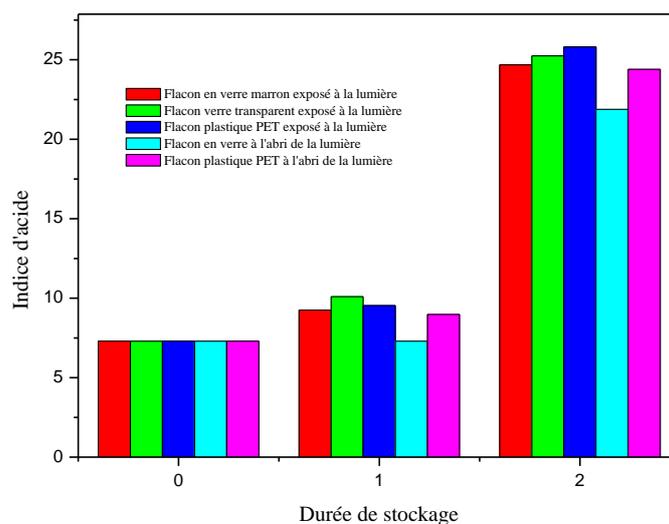


Figure IV.1: Évolution de l'indice d'acide de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps

Dans l'obscurité et stockée dans une bouteille en verre, on remarque une augmentation d'indice d'acide de l'huile d'olive (A2), si en comparant à la valeur de référence (7.293 mg de KOH / g d'huile). Cette évolution est due à la formation des acides pendant le stockage sous l'effet de l'oxygène présent dans l'espace de tête de la bouteille qui représente 2/3 du volume global de la bouteille. Cette augmentation est de l'ordre de 200%.

Pour l'huile A1, nous avons noté une augmentation des valeurs d'indice d'acide comparée avec celle de l'huile A2. Cette évolution peut être attribuée à l'action de la lumière.

Ce même échantillon a été exposé à la lumière mais conditionné dans une bouteille en verre ambré (A1) et dans une bouteille en verre transparent, noté (B1).

L'indice d'acide augmente sous l'effet de la lumière. Cette évolution est de l'ordre de 27% et 38% pour le verre ambré et transparent respectivement pour la première période de stockage.

Pour la deuxième période de stockage, cet indice varie de 166 % et 150 % pour le verre ambré et transparent respectivement. On peut dire que cette inversion de l'ordre est due à la différence du volume de l'espace de tête (quantité de l'oxygène dans la bouteille d'emballage). La quantité d'oxygène joue un rôle important pour catalyser les réactions de formation des acides.

Pour l'huile d'olive stockée dans une bouteille en plastique PET (téréphtalate de polyéthylène), On observe un développement légèrement en croissance de l'indice d'acide de l'huile C2 à partir de valeur de référence (7.293 mg de KOH/ g d'huile) au cours de stockage, ce développement est dû à la perméabilité de plastique PET (téréphtalate de polyéthylène) en l'oxygène. Sous l'effet de la lumière, les taux d'augmentation d'acidité des échantillons C1 et C2 pendant la première période de stockage sont estimés à 30 % et 23% et de 244 à 254% pour la deuxième période.

D'après ces constatations on peut conclure que le stockage de l'huile d'olive dans des bouteilles en plastique favorise et accélère la formation des acides gras.

IV.1.2 Indice de peroxyde :

L'indice de peroxyde détermine le nombre d'hydroperoxydes et constitue l'un des moyens directs pour mesurer l'auto-oxydation lipidique, il est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par Kg d'huile.

A ce sujet, la norme commerciale du C.O.I. fixe la valeur de cet indice à 20 meq d'O₂ par kilogramme d'huile d'olive. Les valeurs de cet indice varient pour les huiles conservées dans l'obscurité (A2, B2, C2) entre 9 et 13 meq d'O₂/ Kg d'huile répondent aux normes.

L'évolution de l'indice de peroxyde pour les différents échantillons au cours du temps est donnée par le **Tableau IV.2** et la **Figure IV.2**.

Tableau IV.2 : Indice de peroxyde de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps.

Conditions de stockage	Exposées à la lumière			Obscurité		
	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET
Type d'emballage	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Echantillons	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Indice de peroxyde (meq O ₂ / kg) E1	21	151	52.5	9	10	10
L'indice de peroxyde (meq O ₂ / kg) E2	55.5	227.95	82	11.5	15	13

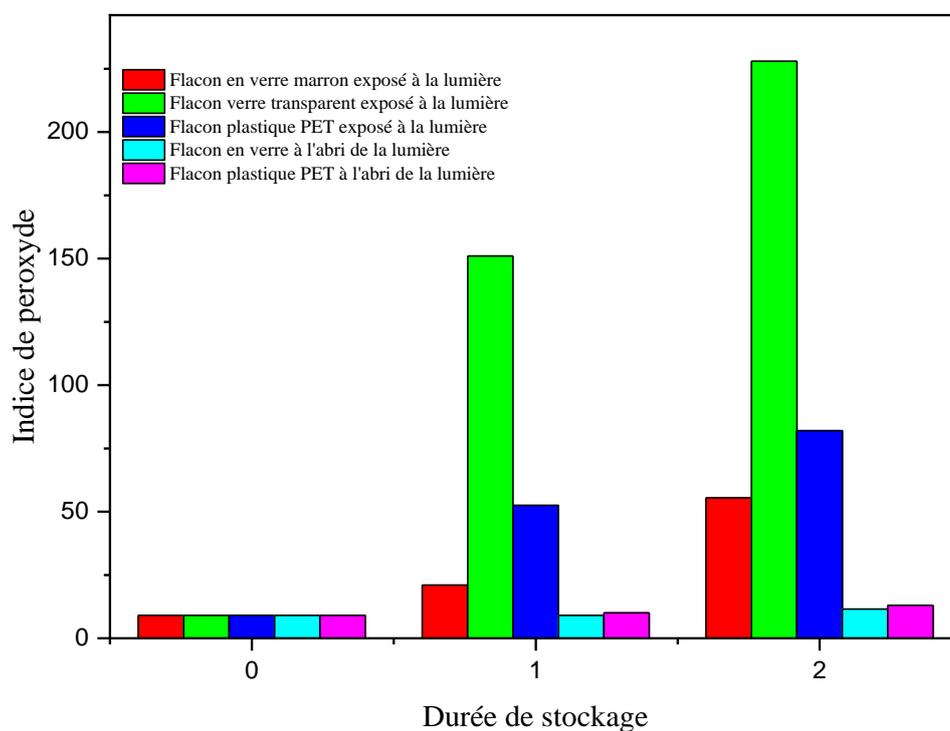


Figure IV.2: Évolution de l'indice peroxyde de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps

On remarque une légère augmentation d'indice de peroxyde de l'huile A2 de l'ordre de 11% à partir d'une valeur de référence (de 9 à 10 meq O₂/ kg) au cours de stockage. Cette augmentation peut être attribuée à la formation des premiers produits d'oxydations sous l'action de l'oxygène de l'espace de tête.

Par contre, pour le l'huile A1, nous avons noté un développement croissant de l'indice de peroxyde comparativement avec celui de A2. Cette évolution de 516 % est due à la formation des premiers produits d'oxydations sous l'action non seulement de l'oxygène de l'espace de tête mais aussi sous l'effet de la lumière (verre ambré).

Nous avons remarqué aussi une grande augmentation de l'indice de peroxyde de l'huile B1 au cours de stockage). Cette énorme augmentation (de 9 à 227.95 meq O₂/ kg) peut être expliquée par l'action de la lumière (verre transparent) et l'espace de tête.

On observe un développement modéré dans l'obscurité de l'indice de peroxyde de l'huile C2 (de 9 à 13 meq O₂/ kg). Ce développement est dû à la perméabilité de plastique PET (téréphtalate de polyéthylène) comparativement au verre (perméabilité nulle en oxygène) sans oublier bien sûr la quantité d'oxygène de l'espace de tête.

Par contre pour l'huile d'olive C1, nous avons noté une élévation importante de l'indice de peroxyde (de 9 à 82 meq O₂/ kg). Cette augmentation est due à la présence de deux réactions : photo-oxydation et auto-oxydation qui sont catalysées par l'oxygène et la lumière.

D'après ces constatations on peut conclure que le stockage de l'huile d'olive des bouteilles en plastique favorise et accélère la formation des peroxydes comparativement au verre et que cette réaction est catalysée par la lumière.

IV.1.3 Indice de saponification :

La connaissance de l'indice de saponification permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses auxquelles il est inversement proportionnel.

Les résultats de l'évolution de l'indice de saponification sont rassemblés dans le **Tableau IV.3** et illustrés par la **Figure IV. 3**.

Tableau IV.3: Indices saponification des huiles d'olive conservées dans différentes conditions de stockage au cours du temps

Conditions de stockage	Exposées à la lumière			Obscurité		
	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET	Verre mbré	Verre transparent	Plastique PET
Type d'emballage						
Echantillons	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Indice de saponification (mg de KOH / g) E1	71.527	67.32	76.436	61.908	65.125	66.618
Indice de saponification (mg de KOH / g) E2	133.938	125.173	146.86	114.303	116.742	138.146

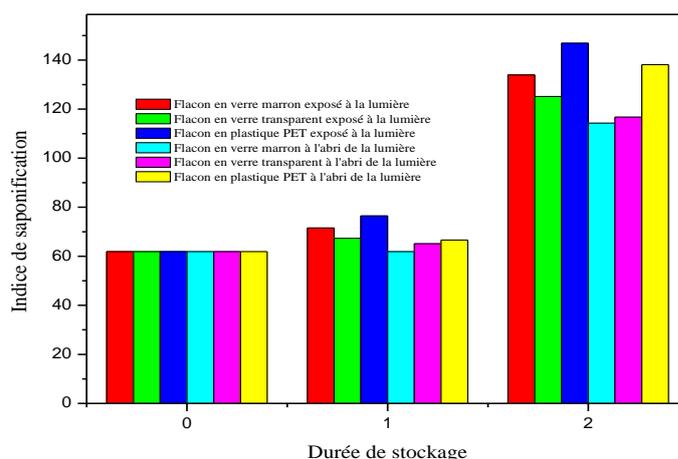


Figure IV.3: Évolution de l'indice de saponification de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage au cours du temps

On remarque une augmentation d'indice de saponification des huiles par rapport à la valeur de référence (61.908 mg KOH/g d'huile) au cours de stockage. La valeur la plus élevée est observée pour l'huile stockée dans une bouteille en PET exposée à la lumière et dans l'obscurité (C1 et C2).

On spécifie une élévation d'indice de saponification de l'huile C2 par rapport aux échantillons A2 et B2. Ce développement est dû à la perméabilité du plastique (PET) à l'oxygène.

Les taux d'augmentation d'indice de saponification entre les deux périodes de stockage de l'huile A1 et A2 sont 87.25 % et 84.46 % respectivement. Cette augmentation est attribuée à l'action de la lumière sur la longueur des chaînes des acides gras.

Pour le l'huile C1, On remarque un croisement de l'indice de saponification plus grand que l'huile C2. Cette augmentation est due à la présence de deux facteurs : la lumière et l'oxygène. Le taux d'augmentation de l'indice de saponification de l'huile C1 entre les deux périodes de stockage est de 92.13%.

En présence de la lumière et sous l'effet de l'oxygène, les acides gras se décomposent et leurs chaînes deviennent plus courtes.

IV.1.4 Indice d'iode :

La détermination de l'indice d'iode permet de déterminer le degré d'insaturation global des huiles.

Les résultats d'indice d'iode sont consignés dans le **Tableau IV.4** et expliqués par la **Figure IV.4**.

Tableau IV.4 : Indices d'iode des huiles d'olive conservées dans différentes conditions de stockage.

Conditions de stockage	Exposées à la lumière			Obscurité		
	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET
Echantillons	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Indice d'iode (meq O ₂ / kg) E1	72.919	65.353	73.015	62.815	63.453	68.843

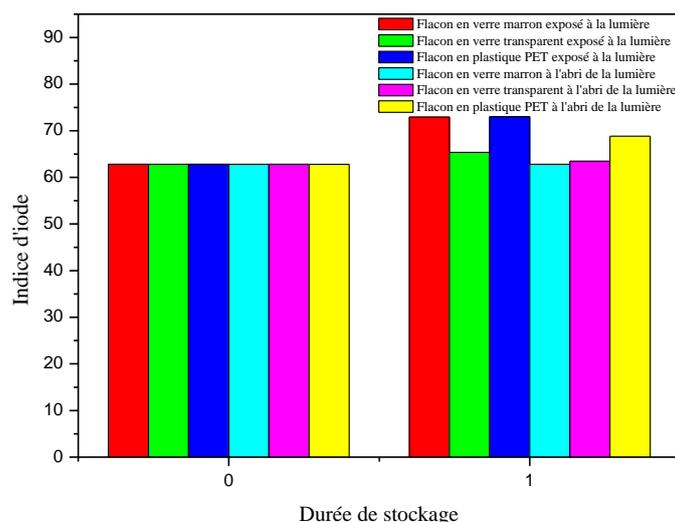


Figure IV.4 : Évolution de l'indice d'iode de l'huile d'olive dans différentes conditions de stockage

On remarque une légère augmentation de l'indice d'iode des huiles par rapport à la valeur de référence (62.815). Cette augmentation peut être attribuée à l'augmentation du nombre de doubles liaisons suite à l'altération de l'huile sous l'effet de la lumière et le type d'emballage.

IV.2 Indices spectroscopiques :

IV.2.1 Extinction spécifique à 232 nm et 270 nm :

L'extinction spécifique de l'huile dans l'ultraviolet (K232 et K270) constitue un paramètre important de sa qualité, car elle renseigne sur le degré d'oxydation de celle-ci. L'oxydation de l'huile d'olive conduit à la formation d'hydroperoxydes linoléique qui absorbent à une longueur d'onde au voisinage de 232 nm. Si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires d'oxydation ; en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent à 270 nm [1].

La détermination des absorbances au voisinage de 232 nm et au voisinage de 270 nm permet de détecter et d'évaluer les quantités des produits d'oxydation : plus l'extinction à $\lambda=232$ nm est forte, plus elle est peroxydée. De même plus l'extinction à $\lambda=270$ nm est forte, plus elle est riche en produits d'oxydation secondaires et traduit une faible aptitude à la conservation. Le **Tableau IV.5** ainsi que la **Figure IV.5** donnent l'évolution des absorbances à 232 nm pour

tous les échantillons d'huile étudiée. Le paramètre ΔK est déterminé par la mesure de l'absorption à 266 nm et 274 nm.

K232, K270 et ΔK donnent une indication sur la fraîcheur, l'authenticité, l'oxydation et les falsifications.

Tableau IV.5 : K232, K270 et ΔK de l'huile d'olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps

Conditions de stockage	Exposées à la lumière			Obscurité		
	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET
Echantillons	A1	B1	C1	A2	B2	C2
K 232	2.876	3.605	3.322	2.696	3.007	3.234
K 270	0.234	0.289	0.274	0.179	0.179	0.220
ΔK	0.0145	0.0085	0.0195	0.0145	0	0.014

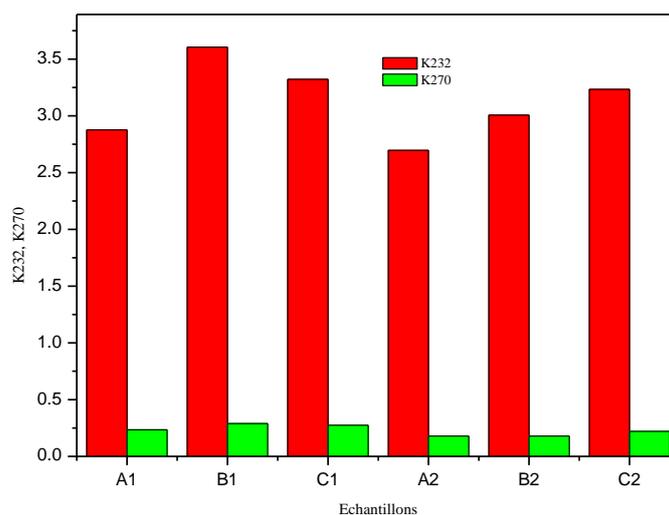


Figure IV.5 : Évolution des K232 et K270 de l'huile d'olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps

K232 :

D'après les résultats (**Figure IV.5**), on remarque que l'huile A2 possède la valeur minimale (2.696), cette valeur est due à la faible teneur en produits primaires d'oxydation (d'hydroperoxydes). On peut justifier ce résultat par l'absence de la lumière. La valeur maximale (3.605) est enregistrée pour l'huile B1, on peut expliquer ce résultat par la forte formation des produits primaires d'oxydation accélérée par la lumière (emballage en verre transparent).

Par comparaison des valeurs de K232 de deux l'huiles A1 et A2, la lumière favorise la formation des hydroperoxydes avec un taux d'augmentation de 6.67% pour un emballage en verre ambré. Ce taux saute à 33.70% dans le cas de l'emballage en verre transparent (échantillon B1).

Nous avons observé aussi que l'huile stockée dans une bouteille en plastique et exposée à la lumière du jour présente la valeur la plus élevée de K232 (C1, 3.322). Cette valeur diminue dans l'obscurité à (C2, 3.234). On peut conclure que l'emballage plastique accélère la formation des hydroperoxydes de 15.5 % à 20%.

K270 :

On ce qui concerne l'indice K270, on a constaté que les deux huiles A2 et B2 (0.179) présentent la valeur minimale de K270, cette valeur est due à la faible formation des produits secondaires d'oxydation (des dicétones et des cétones insaturés aldéhydes, alcools), on peut justifier ce résultat par l'absence de la lumière.

L'huile B1 présente la valeur maximale (K270=0.289, verre transparent). Ce résultat peut être attribué la forte formation des produits secondaires d'oxydation sous l'effet de la lumière. Le taux d'augmentation de ce paramètre est estimé à 61.45%.

Pour l'emballage en verre ambré, on remarque que la valeur de K270 de l'huile A1 (0.234, lumière) est plus grande que l'huile A2 (0.179, obscurité). Le taux d'augmentation de ce paramètre est estimé à 30.72 %. On peut conclure que le verre ambré diminue l'effet de la lumière sur la formation des produits secondaires d'oxydation.

Pour l'emballage en plastique, la valeur de K270 de l'huile C1 (0.274) est plus grande que celle de l'huile C2 (0.220). Le taux d'augmentation de ce paramètre est estimé à 22.72 % sous

l'effet de la lumière. On peut estimer aussi l'effet de l'emballage à la formation des produits secondaires d'oxydation à 53% à 23% à la lumière et dans l'obscurité respectivement.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux obtenus par Caponio et al [2]. Où ils ont trouvé qu'après deux mois de stockage, les composés d'oxydation secondaires sont majoritaires dans les huiles stockées sous lumière diffuse, comme en témoigne le K270, tandis que dans les huiles d'olive stockées à l'obscurité, ce sont les composés d'oxydation primaire qui prédominent, comme en témoigne le K232.

IV.2.2 Les caroténoïdes :

Les carotènes sont des substances chimiques naturelles impliquées dans les mécanismes d'oxydation de l'huile, leur présence en quantité suffisante dans l'huile permet de retarder le phénomène de la photo oxydation et de préserver les paramètres de qualité de l'huile au cours du stockage [3].

Le **Tableau IV.6** ainsi que la **Figure IV.6** donnent l'évolution des caroténoïdes et chlorophylles pour tous les échantillons d'huile étudiées.

Tableau IV.6 : Caroténoïdes et chlorophylles de l'huile d'olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps.

Conditions de stockage	Exposées à la lumière			Obscurité		
	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET
Echantillons	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Teneurs en caroténoïdes totaux (mg/kg)	0.945	0.90	0.815	1.170	1.01	0.935
Teneurs en chlorophylle totaux (mg/kg)	2.805	2.773	2.496	3.295	2.936	2.522

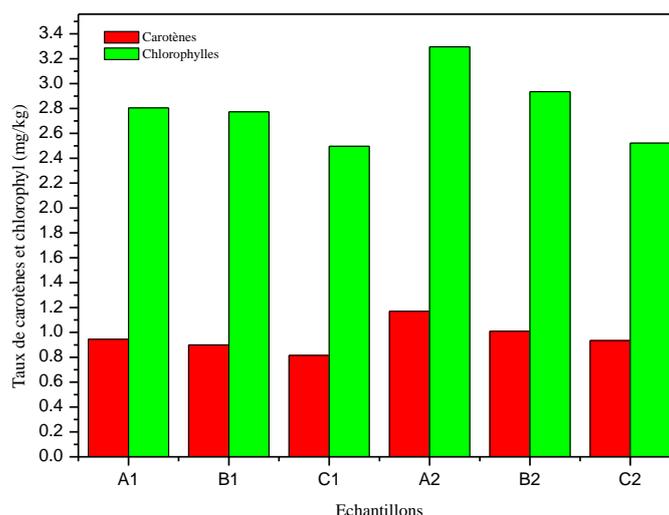


Figure IV.6 : Évolution des caroténoïdes et chlorophylles de l’huile d’olive sous différentes conditions de stockage au cours du temps

Nos échantillons présentent des teneurs faibles en caroténoïdes comprises entre 0.815 et 1.170 mg/kg. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Boufoudi et Yakoubi (2006) [4] sur des variétés locales (Bouchouk Sidi-Aïch, Bouchouk Guegour, Aguenao, Nebdjemel, Zaltini, Bouichert, Chemlal, Roujette de Mitidja et Abbani) qui présentent des teneurs qui varient entre 0,17 à 1,183mg/kg.

L’huile C1 présente la teneur minimale (0.815 mg/kg) qui peut être expliquée par le processus de photo-oxydation sans oublier la perméabilité en oxygène de PET (téréphtalate de polyéthylène) [5], ainsi qu’à leur rôle protecteur centre en désactivant l’oxygène singulier produit par les chlorophylles, et de ce fait c’est un inhibiteur de la photo-oxydation [6].

Nous avons observé que l’huile C2 présente une teneur en caroténoïdes (0.935 mg/kg) peu plus grande que la teneur de l’huile C1 (0.815 mg/kg). La conservation de l’huile d’olive dans un emballage en plastique exposée à la lumière entraîne une diminution en caroténoïdes de 12.83%.

La teneur maximale en caroténoïdes est observée pour le l’huile A2 (1.170 mg/kg) qui peut être due à l’absence du rayonnement UV, ceci également dû à son stockage dans une bouteille en verre ambré et dans l’obscurité. Sous l’effet de la lumière, on a enregistré une diminution de 19.23% (cas de l’échantillon A1 avec un taux de 0.945 mg/kg).

La teneur en caroténoïdes de l'huile A2 (emballage en verre ambré) de 1.170 mg/kg est peu plus grande que celle de l'huile B₁ (verre transparent) soit 0.90 mg/kg. Le taux de diminution de cette teneur est estimé à 23 %.

Des recherches ont démontré que les pigments caroténoïdes sont facilement dégradés en présence de la lumière et de températures élevées [7, 8].

IV.2.3 Les chlorophylles :

Selon Gandul-Rojas et Mínguez-Mosquera, (1996) [9], une huile d'olive extra vierge doit présenter des teneurs en chlorophylles variant de 0 à 20 mg/Kg dont 40 à 80% sont des phéophytines.

D'après les résultats trouvés, on constate que les huiles exposées à la lumière présentent des taux faibles en chlorophylles dont la plus faible quantité est celle de C1 (2.446 mg/kg). Les chlorophylles sont des photosensibilisateurs transformant, sous l'effet de la lumière, l'oxygène atmosphérique en oxygène singulet très réactif [10]. Donc la teneur en chlorophylles diminue sous l'action de la lumière.

La teneur maximale en chlorophylles est notée pour l'huile A2 (3.295 mg/kg) qui peut être justifiée par l'absence de rayonnement UV.

Si on fait une petite comparaison entre les huiles A1 et B1 du point de vue teneurs en chlorophylles on peut conclure que : Lumière détruit 14.86 % et 15.84 % des chlorophylles d'une huile stockée dans un emballage en verre ambré (A1, 2.805 mg/kg) et transparent (B1, 2.773 mg/kg) respectivement.

Pour l'huile d'olive stockée dans un emballage en plastique (de coloration légèrement bleu), la lumière dégrade 1% des chlorophylles.

La qualité d'emballage a un effet sur la dégradation des chlorophylles 24.24% et 23.45% en présence de la lumière et dans l'obscurité.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux trouvés par Rahmani et Méndez.

Rahmani M., Méndez A. I. et Falqué E. [6, 11] ont montré que le contenu en pigments chlorophylliens diminue de plus de 30% et se dégradent au cours du stockage.

IV.2.4 Dosage des Polyphénols totaux :

Les polyphénols sont des composés ubiquistes, ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes, en effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices.

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures.

L'acide gallique est le standard (courbe d'étalonnage, **Figure IV.7**) le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu.

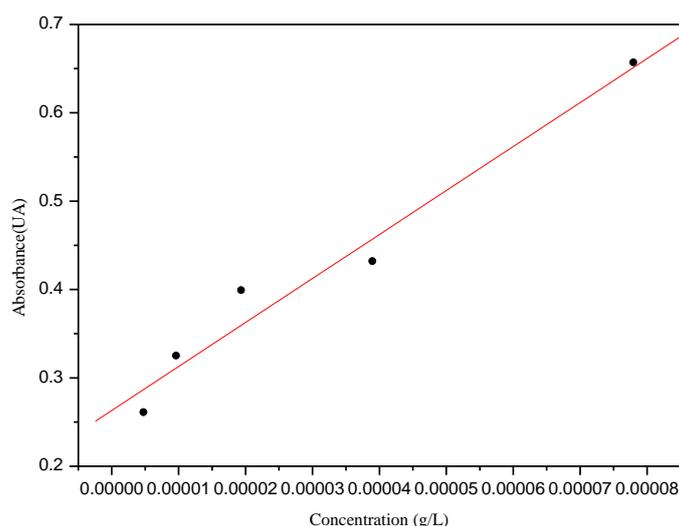


Figure IV.7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La courbe d'étalonnage obtenue présente une bonne linéarité ($y = 4977.23x + 0.263$) avec un coefficient de corrélation $R = 0.983$.

Les concentrations des polyphénols totaux présents dans nos échantillons exprimés en g/L ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux obtenus pour les six échantillons d'huile d'olive sont regroupés dans le **Tableau IV.7**.

Tableau IV.7 : Teneurs en polyphénols totaux des huiles d'olive stockées dans différentes conditions de stockage

Conditions de stockage	Exposées à la lumière			Obscurité		
	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET	Verre ambré	Verre transparent	Plastique PET
Echantillons	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Teneurs en polyphénols totaux (g/L) $\times 10^{-5}$	4.196	2.167	1.041	4.778	4.778	1.905

Nos échantillons contiennent des faibles concentrations en polyphénol comprises entre $1.041 \cdot 10^{-5}$ et $4.778 \cdot 10^{-5}$ g/l.

L'huile A2 présente la teneur maximale ($4.778 \cdot 10^{-5}$ g/l), ce résultat peut être expliqué par la faible consommation de polyphénol, donc cette huile présente une bonne résistance à l'oxydation dans l'obscurité.

Si on fait une petite comparaison entre l'échantillon A1 qui contient $4.196 \cdot 10^{-5}$ g/l de polyphénols et l'échantillon A2, on peut conclure que l'huile d'olive stockée dans des bouteilles en verre ambré a perdu 12% de sa composition en polyphénol sous l'effet de la lumière.

L'action de la lumière sur le taux de polyphénols dans l'huile d'olive peut être mise en évidence en comparant les deux échantillons B1 et B2. Cette teneur a diminué de 4.778 à 2.167 g/L. L'huile d'olive stockée dans une bouteille en verre transparent perd environ 55% de ses polyphénols.

L'huile C1 présente la teneur minimale en polyphénol ($1.041 \cdot 10^{-5}$ g/L), cela est due principalement à la grande consommation de quantité de polyphénol (grâce à leur rôle antioxydant) sous l'effet de la lumière d'une part et le type d'emballage qui est le plastique PET qui présente une perméabilité en oxygène plus grande comparé avec le verre. Dans l'obscurité, l'huile d'olive (C2) a perdu 60% de sa composition initiale en polyphénols et 78% dans la lumière (C1). Le stockage de l'huile d'olive dans des bouteilles en PET favorise la

consommation des polyphénols et par conséquent le risque d'oxydation augmente. Cette huile a perdu 45% de sa composition en polyphénols sous l'effet de la lumière.

IV.2.5 Interprétation des spectres infra-rouge de l'huile analysées :

La position, le nombre et l'intensité des bandes dans un spectre infrarouge renseignent sur la nature et la concentration relative des groupements fonctionnels (C=O, C-O, etc...) et structuraux (CH₃, CH₂, etc...) présents au sein des composés constituant l'huile d'olive

L'étude par infrarouge à transformée de Fourier est réalisée au niveau du laboratoire d'analyses industrielles et génie des matériaux (LAIGM), université de Guelma.

Les spectres obtenus de tous les échantillons sont superposés et représentés sur la **Figure IV.8**.

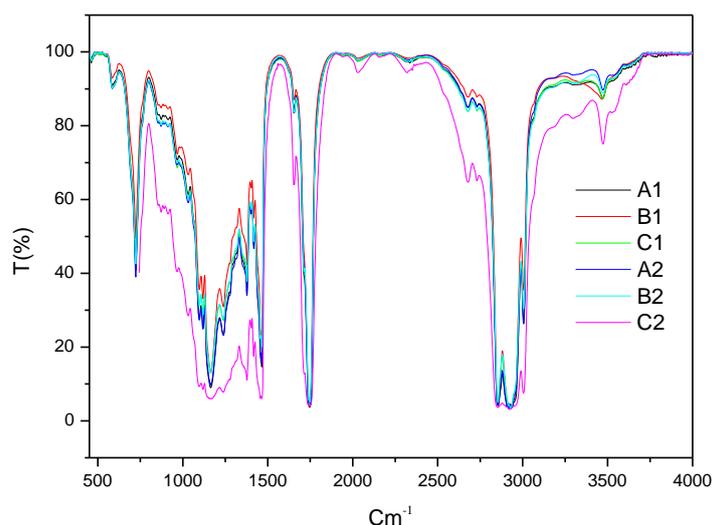


Figure IV.8: Spectres IRTF d'une huile d'olive sous différentes conditions de stockage.

Nous constatons que le profil des spectres IRTF des huiles étudiés montre une nette différence entre les bandes d'absorption.

Il est possible de différencier les fonctions chimiques dans lesquelles apparaissent :

- **722 cm⁻¹** : on observe une bande qui correspond à la zone d'absorption des composés aromatiques mono substitués.
- **1164 cm⁻¹** : cette bande est attribuable à la vibration d'élongation du groupe C–O des esters.

- **1500-1300 cm^{-1}** : les bandes à 1460 cm^{-1} et 1381 cm^{-1} sont attribuables respectivement aux vibrations de déformation des groupe CH_2 et CH_3 .
- **1746 cm^{-1}** : on observe Une bande plus intense. Cette bande est attribuable à la vibration d'élongation du groupe $\text{C}=\text{O}$, caractéristique des esters.
- **2671 cm^{-1}** : Cette bande est attribuable à une élongation de la liaison $\text{O}-\text{H}$.
- **3005 cm^{-1}** : on observe une bande de faible intensité. Cette bande est attribuable à la vibration d'élongation "cis" du groupe $=\text{C}-\text{H}$.
- **2800-3000 cm^{-1}** : on observe des bandes de faible intensité. Ces bandes sont attribuable à la vibration d'élongation du groupe $-\text{C}-\text{H}$.
- **3450 et 3600 cm^{-1}** : présente Une faible bande OH , correspond à la décomposition des alcools résiduels présents dans toutes nos huiles analysées.

Un zoom des zones où il y a des différences a été sélectionné et les agrandissements obtenus sont donnés par les **Figure IV.9**, **Figure IV.10**, **Figure IV.11** et **Figure IV.12**.

L'absorbance à 968 cm^{-1} a été utilisée pour estimer les doubles liaisons trans.

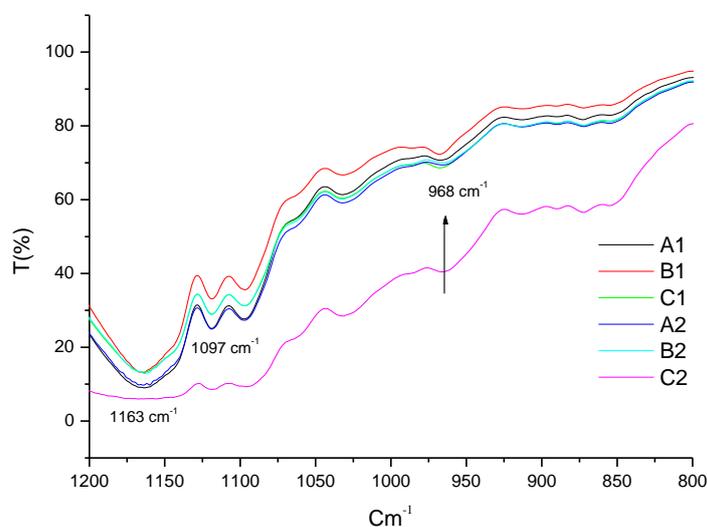


Figure IV.9: Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 1200 à 800 cm^{-1}

Nous avons constaté que l'absorbance de cette bande est plus grande pour l'huile d'olive C2 (emballage en PET) ce qui nous a permis de conclure que cette huile est plus riche en double liaison trans par rapport aux autres huiles.

Nous avons remarqué aussi une grande modification dans la zone spectrale située entre 1500 à 1000 cm^{-1} pour l'échantillon C2 (PET, obscurité). Ces modifications peuvent être expliquées par un changement dans la composition de l'huile d'olive conservée dans un emballage en PET.

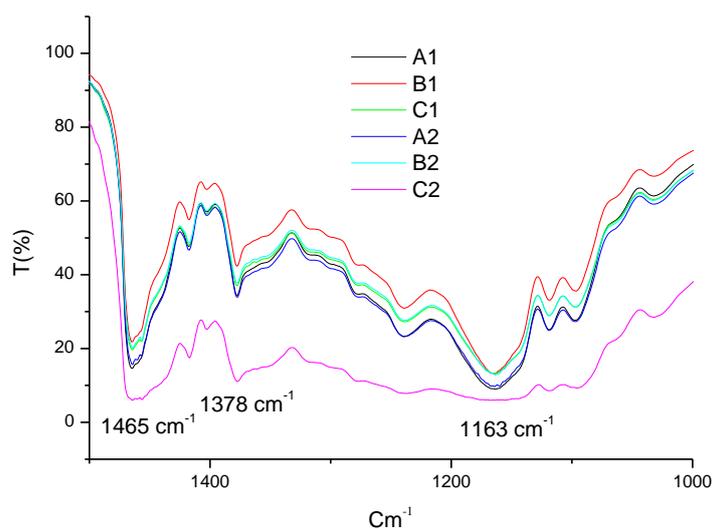


Figure IV.10: Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 1500 à 1000 cm^{-1}

Un élargissement est observé vers 1744 cm^{-1} pour l'échantillon C2, cette bande est attribuée à l'élongation symétrique du groupement C=O. Ce résultat est en bon accord avec ceux trouvés pour l'acidité libre.

D'après ces constatations on peut conclure que le stockage de l'huile d'olive des bouteilles en plastique favorise et accélère la formation des acides gras.

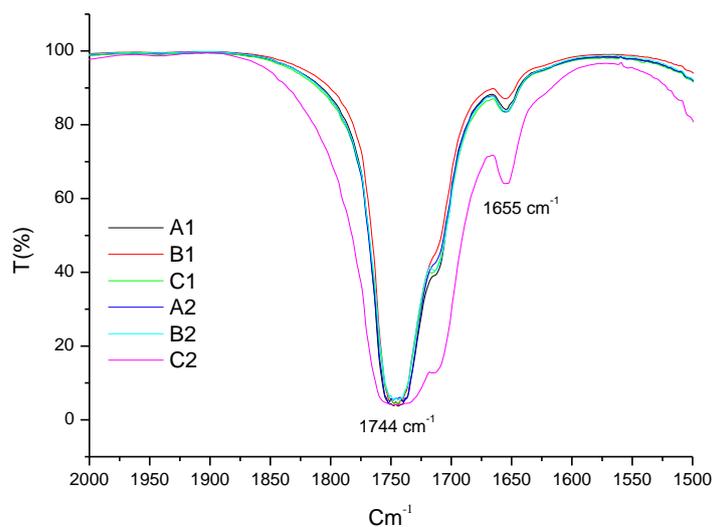


Figure IV.11: Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 2000 à 1500 cm^{-1}

Dans la zone spectrale de 3200 à 2600 cm^{-1} , les bandes qui ont subi des modifications sont :

- La bande vers 3006 cm^{-1} associée à l'élongation C=C-H *cis* (CH sp^2) est devenue plus intense pour l'huile d'olive conservée dans l'obscurité et un emballage en PET.
- La bande vers 2920 cm^{-1} associée à l'élongation asymétrique du groupement CH_2 et CH_3 .
- Une Bande d'intensité plus faible, à 2852 cm^{-1} attribuée à l'élongation symétrique des groupes CH_2 et CH_3 a été affectée pour l'échantillon C2.

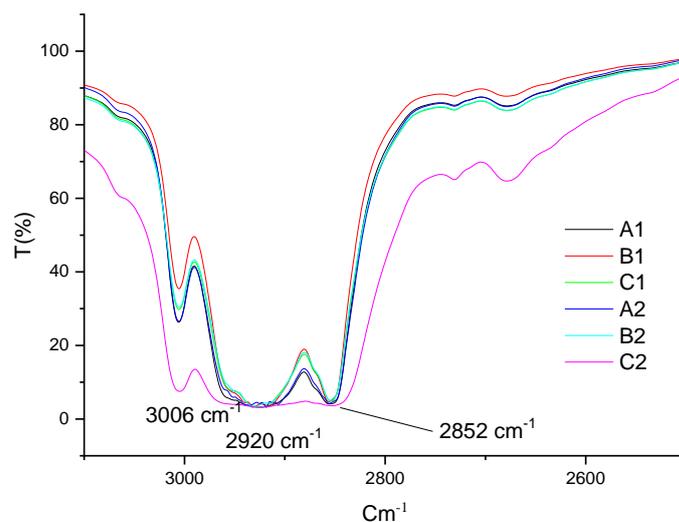


Figure IV.12 : Spectres infrarouge des échantillons étudiés de 3200 à 2600 cm^{-1}

Lors du stockage, on observe une apparition des hydroperoxydes plus ou moins rapide selon la présence de l'oxygène. La dégradation des hydroperoxydes devient rapidement par rapport à leur formation. Des composés polymères et des aldéhydes se forment, probablement, pendant cette dégradation. Ce phénomène explique les modifications importantes observées pour l'huile d'olive conservée dans un emballage en PET (perméable à l'oxygène).

Références

- [1] Gharby S., Harhar H., El Monfalouti H., Kartah B., Maata N., Guillaume D. et Charrouf Z. (2011) *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 44: 1-8.
- [2] Caponio (2005) *European Food Research and Technology* 221(1-2) : 92-98
- [3] Lazzez A., Cossentini M., Khlif M., Karray B. (2006) *Journal de la société chimique de Tunisie*. 8 : 21 – 32
- [4] Boufoudi N. et Yakoubi K. (2006) Caractérisation physico –chimique de quelques variétés locales da l’huile d’olive vierge. Mémoire d’ingénieur en contrôle de qualité et d’analyse : Université Abderrahmane mira de Bejaia.
- [5] Pristouri G., Badeka A., Kontominas M.G. (2010) *Food Control* 21 (4): 412-418.
- [6] Rahmani M. (1989) *Olivae* 26 : 30-32.
- [7] Marty C., Berset C. (1988) *Journal of Food Science* 53: 1880-6.
- [8] Minguéz-Mosquera M.I., Jaren-Galan M. (1995) *Journal of the Science of Food and Agriculture* 67: 153-61.
- [9] Gandul-Rojas B. and Minguéz-Mosquera M.I. (1996) *Journal of the Science of Food and Agriculture* 72: 31-39.
- [10] Psomiadou E., Tsimidou M. (1998) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 5132-5138.
- [11] Méndez A. I., Falqué E. (2007) *Food Control* 18 :21-529.

CONCLUSION

La présente étude nous a permis de montrer l'effet des conditions de stockage sur la qualité d'huile d'olive algérienne. Elle est commencée par la détermination des propriétés physicochimiques (l'indice d'acide, l'indice de peroxyde, l'indice de saponification et l'indice d'iode) et s'est complétée par l'analyse spectroscopique : UV-visible et l'infrarouge.

Au cours de stockage dans une bouteille en plastique PET exposée à la lumière du jour, les indices de qualité de l'huile d'olive ont tous rapidement dépassé les normes pour les huiles extra vierge.

Cette étude nous a permis de dégager les conclusions suivantes :

1. Le stockage de l'huile d'olive dans des bouteilles en plastique favorise et accélère la formation des acides gras libre.
2. Le stockage de l'huile d'olive des bouteilles en plastique favorise et accélère la formation des peroxydes comparativement au verre et que cette réaction est catalysée par la lumière.
3. En présence de la lumière et sous l'effet de l'oxygène, les acides gras se décomposent et leurs chaînes deviennent plus courtes.
4. L'emballage plastique accélère la formation des hydroperoxydes de 15.5 % à 20%.
5. Le stockage de l'huile d'olive des bouteilles en plastique augmente le taux des produits secondaires d'oxydation à 53% à 23% à la lumière et dans l'obscurité respectivement.
6. L'emballage plastique accélère la dégradation des carotènes et des chlorophylles.

Conserver l'huile d'olive dans de bonnes conditions permet donc de maintenir sa qualité nutritionnelle, en garantissant une teneur en acides gras insaturés et la préservation des vitamines, ainsi que leur qualité sensorielle, en retardant l'apparition des composés volatils responsables de la note rance et premiers signes perceptibles d'une dégradation de l'huile. Ainsi, conserver l'huile dans emballage en verre à l'abri de la lumière et la chaleur ou réduire la disponibilité de l'oxygène en inertant les huiles sous azote s'avèrent être des moyens efficaces pour lutter contre son oxydation.

Résumé:

Cette étude a été l'occasion d'étudier les effets de l'exposition à la lumière et le type d'emballage et les modifications qu'ils entraînent sur l'huile extra vierge au cours de l'exposition de celle-ci sur route dans des bouteilles en plastique. L'intérêt d'une telle étude est de diffuser une culture des bonnes pratiques de conservation de l'huile d'olive.

L'altération de l'huile utilisée a été suivie par la détermination de certains paramètres de qualité chimique (l'indice d'acide, l'indice de peroxyde, l'indice de saponification, l'indice d'iode) et de qualité physique (absorbance dans l'ultraviolet : des extinctions spécifiques à 232 et à 270 nm, et les teneurs en chlorophylles, caroténoïdes et polyphénols. Le suivi de la qualité de l'huile a été réalisé par Infrarouge à transformée de Fourier.

Les résultats obtenus ont montré que l'huile d'olive stockée dans une bouteille en plastique PET exposée à la lumière favorise et accélère : la formation des acides gras libres, la formation des produits de première d'oxydation (hydroperoxydes) de 15.5% à 20%, la formation des produits secondaires d'oxydation à 53%, la décomposition des chaînes des acides gras et la dégradation des composés anti-oxydants (des carotènes, chlorophylles et des polyphénols).

Conserver l'huile d'olive dans un emballage en verre à l'abri de la lumière et la chaleur ou réduire la disponibilité de l'oxygène s'avèrent être des moyens efficaces pour lutter contre son oxydation.

Mots clés : Stabilité oxydative, Huile d'olive extra vierge, la lumière, PET, anti-oxydants, carotènes, chlorophylles, polyphénols, K232, K270, IRTF