

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach – Alger

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة – الحراش – الجزائر

Thèse

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat 3^{ème} Cycle en Sciences Agronomiques

Option: Science et Qualité des Aliments

Thème

**Effet de l'aromatisation par des huiles
essentielles sur la stabilité photo-oxydative de
l'huile d'olive vierge pendant le stockage**

Présentée par TAOUDIAT Aldjia

Devant le jury:

Président:	M. HAZZIT	Professeur	ENSA – Alger
Directeur de thèse:	D. DJENANE	Professeur	UMMTO
Co-Directrice de thèse:	Z. FERHAT	Professeur	ENSA – Alger
Examinatrice:	K.YAHIAOUI	Maître de conférences A	Université de Boumerdes
Examineur:	M.A. FERHAT	Professeur	ENS- Kouba

Année Universitaire: 2018/2019

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie Allah pour tous les biens qu'il m'a procurés et parmi eux l'achèvement de ce travail.

Je remercie vivement mon Directeur Mr DJENANE D., Professeur à Université Mouloud MAMMARI-Tizi-Ouzou pour les orientations et les conseils qu'il n'a pas manqués de me prodiguer durant la réalisation de ce travail, pour sa patience et sa compréhension. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude et de mon respect. Merci de m'avoir accompagnée et d'assister durant tous mes travaux de recherche. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma très grande reconnaissance.

Mes remerciements les plus vifs sont adressés à ma co-directrice Mme FERHAT Z., Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger, pour sa patience et ses qualités scientifiques et humaines.

Je voudrais aussi exprimer mes remerciements sincères à Mr HAZZIT M., Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger pour ses précieux conseils, sa constante disponibilité et aussi d'avoir accepté de présider le jury.

Mes remerciements chaleureux vont à Mr FERHAT M.A., Professeur à l'Ecole Normale Supérieure d'Alger pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes reconnaissances vont à Mme YAHIAOUI K., Maître de Conférences A à l'Université M'Hamed Bouguerra de Boumerdes, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de ma gratitude et mes respects.

Mes remerciements vont particulièrement au Professeur SPIGNO G. et aux membres de son laboratoire, au niveau de Institute of Oenology and Food Engineering, Università Cattolica Sacro Cuore, Piacenza, Italy, pour l'aide précieuse qu'ils m'ont apportée et leur grande collaboration.

Je n'oublierai pas de remercier mon amie Kamelia qui m'a soutenue dans mes travaux de laboratoire.

Je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

DEDICACES

A

Mes parents,

Ma famille,

Mes ami(e)s,

Qui m'ont soutenue tout au long de mes études

Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Table de matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Listes des publications et communications	
Introduction générale	1

I. Revue bibliographique

CHAPITRE 1: Oxydation de l'huile d'olive

1. Introduction	3
2. Dénominations et définitions	3
3. Technologie des huiles d'olives	5
3.1. Préparation des olives et trituration	5
3.2. Malaxage	5
3.3. Extraction de la phase liquide	6
3.4. Séparation de l'huile et de l'eau	6
3.5. Décantation/filtration	7
4. Composition chimique de l'huile d'olive	8
4.1. Fraction saponifiable	8
4.2. Fraction insaponifiable	9
4.2.1. Pigments	9
4.2.2. Tocophérols	11
4.2.3. Composés phénoliques	12
4.2.4. Composés aromatiques	13
4.2.5. Stérols	13
4.2.6. Hydrocarbures	14

5. Critères de qualité d'une l'huile d'olive	14
6. Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive	15
7. Bienfaits de l'huile d'olive sur la santé	17
8. Oxydation de l'huile d'olive	18
8.1. Phénomène d'oxydation des lipides	18
8.2. Mécanismes de l'oxydation de l'huile d'olive	18
8.3. Réaction d'oxydation	19
8.3.1. Oxydation enzymatique	19
8.3.2. Auto oxydation	20
8.3.3. Photo-oxydation	23
8.3.4. Thermo- oxydation	24
8.4. Facteurs influençant l'oxydation	25
8.4.1. Facteurs intrinsèques	25
8.4.2. Facteurs extrinsèques	27

CHAIPTRE 2: Les huiles essentielles: application en industrie agro-alimentaire

1. Introduction	29
2. Historique des huiles essentielles	29
3. Définition	30
4. Répartition botanique et localisation des HEs dans le végétal	30
5. Composition chimique des HEs	33
5.1. Terpènes	33
5.2. Alcools	33
5.3. Phénols	33
5.4. Oxydes	33
5.5. Aldéhydes	34

5.7. Lactones	34
5.8. Coumarines	34
5.9. Composés soufrés	35
6. Modes d'obtention des HEs	35
6.1. HEs obtenues par entraînement à la vapeur d'eau	35
6.2. Hydrodistillation	36
6.3. HEs obtenues par expression	37
6.4. Extraction par solvants	37
6.5. Technique d'extraction par CO ₂ supercritique	38
7. Analyse qualitative des HEs	39
7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	39
7.2. Spectrométrie de masse	39
7.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	39
8. Conservation des HEs	40
9. Application des HEs en Agro-Alimentaire	40
10. Facteurs affectant le rendement et la composition chimique des HEs	43

CHAPITRE 3: Monographie des espèces étudiées

1. <i>Laurus nobilis</i> L.	45
2. <i>Satureja montana</i>	46
3. <i>Pistacia lentiscus</i> L.	47
4. <i>Inula graveolens</i>	49

II. Partie expérimentale

CHAPITRE 4: Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	51
2. Analyse qualitative et semi-quantitative des HEs par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)	51
3. Evaluation de l'activité antioxydante " <i>in vitro</i> " des HEs par DPPH	52
4. Activité antioxydante des HEs sur l'huile d'olive extra vierge (HOEV) pendant le " <i>Retail display</i> "	53
4.1. Matériel végétal	53
4.2. Aromatisation de HOEV par des HEs	53
4.3. Analyse sensorielle préliminaire	54
4.4. Plan expérimental	54
4.5. Caractéristiques physico-chimiques de l'HOEV durant le " <i>Retail display</i> "	56
4.5.1. Acidité	56
4.5.2. Indice de peroxyde	56
4.5.3. Extinction spécifique	57
4.5.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras	58
4.6. Dosage des polyphénols totaux	58
4.7. Dosage des pigments	59
4.8. Etude de l'activité antioxydante du complexe HOVE/HE	59
4.8.1. Activité antioxydante: test radical DPPH	59
4.8.2. Activité antioxydante: test radical ORAC	60
4.9. Test d'accélération d'oxydation (Oxitest)	60
4.10. Analyse des composés phénoliques de l'huile d'olive par la Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)	61
5. Analyse statistique	61

III. Résultats et discussion

1. Compositions chimiques des HEs	63
1.1. Composition chimique de l'HE de <i>Laurus nobilis</i>	63
1.2. Composition chimique de l'HE de <i>Satureja montana</i>	66
1.3. Composition chimique de l'HE de <i>Pistacia lentiscus</i>	68
1.4. Composition chimique de l'HE d' <i>Inula graveolens</i>	70
2. Evaluation de l'activité antioxydante des HEs: Méthode DPPH	72
3. Caractéristiques initiales de l'HOEV étudiée	75
4. Complexe HOEV/HE durant le "Retail display"	77
4.1. Acidité	77
4.2. Indice de peroxyde	80
4.3. Extinction spécifique (K_{232} et K_{270})	83
4.4. Composition en acides gras	87
4.5. Pigments: Chlorophylles et caroténoïdes	89
4.6. Composés phénoliques	93
4.7. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro du complexe HOEV/HE	95
5. Complexe HOEV/HE <i>L. nobilis</i> durant la photo-oxydation	98
5.1. Détermination de la teneur en tyrosol et en hydroxytyrosol	98
5.2. Test d'accélération d'oxydation (Oxitest)	100
5.3. Evaluation de l'activité antioxydante de l'HOEV/ <i>L. nobilis</i>	101
Conclusion générale	
Références bibliographiques	
Annexes	

Figure 1: Diagramme de technologie d'obtention de l'huile d'olive	7
Figure 2: Structure de la chlorophylle a et b	10
Figure 3: Structure de la vitamine E	11
Figure 4: Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénasique	20
Figure 5: Structures histologiques sécrétrices de l'huile essentielle	31
Figure 6: Schéma d'entraînement à la vapeur d'eau	36
Figure 7: Appariel de Clevenger	36
Figure 8: Schéma d'extraction par CO2 supercritique	38
Figure 9: <i>Laurus nobilis L.</i>	45
Figure 10: <i>Satureja montatna</i>	46
Figure11: Feuilles et fruits de <i>Pstacia lentiscus</i>	48
Figure 12: <i>Inula graveolens</i>	50
Figure 13 : Huile essentielle	51
Figure 14: Récolte manuelle des olives	53
Figure 15: Différents emballages utilisés	54
Figure 16: Plan expérimental	55
Figure 17: Chromatogramme CPG/SM de l'HE de laurier	63
Figure 18: Chromatogramme CPG/SM de l'HE de la sarriette	66
Figure 19: Chromatogramme CPG/SM de l'HE de lentisque	69
Figure 20: Chromatogramme CPG/SM de l'HE d'inule	70
Figure 21: Microplaque de fluorimètre	141
Figure 22: Biotek pour ORAC	141
Figure 23: Appareil VELEP utilisé pour oxi-test	142
Figure 24 : Evolution de l'acidité de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display "	144
Figure 25 : Evolution de l'IP de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"	145
Figure 26 : Evolution de K_{232} de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"	146
Figure 27 : Evolution de K_{270} de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"	147
Figure 28 : Evolution de la teneur en composés phénoliques de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display" (0, 30, 60, 90 jours)	148
Figure 29 : Evolution de la teneur en chlorophylles de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display" (0, 30, 60, 90 jours)	148
Figure 30 : Evolution de la teneur en caroténoïdes de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display" (0, 30, 60, 90 jours)	149
Figure 31 : Evolution de l'activité antioxydante de l'huile d'olive enrichie et non	150

enrichie en HE durant le "Retail-display"(0, 30, 60, 90 jours)	
Figure 32 : Evolution de la teneur en tyrosol et en hydroxytyrosol de complexe HOEV/ <i>L. nobilis</i> avant l'exposition (au temps zéro: t0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours	151 152
Figure 33 : Evolution de l'activité antioxydante de complexe HOEV/ <i>L. nobilis</i> avant l'exposition (au temps zéro: t0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours	153
Figure 34 : Evolution de temps d'induction de complexe HOEV/ <i>L. nobilis</i> avant l'exposition (au temps zéro: t0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours	154

Tableau 1: Différentes catégories d'huile d'olive vierge et leurs critères de qualité	4
Tableau 2: Composition en acides gras de l'huile d'olive.	9
Tableau 3: Principales familles de plantes contenant de l'HE	32
Tableau 4: Emploi des huiles essentielles en tant qu'antimicrobiens en agroalimentaire	42
Tableau 5: Conditions opératoires d'CLHP utilisées pour l'analyse des composés phénoliques dans l'huile d'olive	61
Tableau 6: Composition chimique de l'HE de <i>L. nobilis</i>	64
Tableau 7: Composition chimique de l'HE de <i>S. montana</i>	67
Tableau 8: Composition chimique de l'HE de <i>Pistacia lentiscus</i>	69
Tableau 9: Composition chimique de l'HE d' <i>Inula graveolens</i>	71
Tableau 10: Activité de piégeage du radical DPPH par les HES testées	73
Tableau 11: Caractéristiques initiales de l'huile d'olive étudiée	76
Tableau 12: Evolution de l'acidité de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"	78
Tableau 13: Evolution de l'indice de peroxyde de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display".	81
Tableau 14: Evolution de K232 de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE durant la période "Retail-display".	84
Tableau 15: Evolution de K270 de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE durant la période de "Retail-display".	86
Tableau 16: Evolution des teneurs en acides gras (AGS, AGPI, AGMI) de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE au cours de la période de "Retail-display".	88
Tableau 17: Evolution de la teneur des pigments chlorophylliens de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE au cours de "Retail-display".	91
Tableau 18: Evolution de la teneur en caroténoïdes de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE au cours de "Retail-display".	92
Tableau 19: Evolution de la teneur en composés phénoliques de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE au cours de la période de "Retail-display".	94
Tableau 20: Evolution de l'activité antioxydante de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en l'HE au cours de la période de "Retail-display".	97
Tableau 21: Evolution de la teneur en tyrosol et en hydroxytyrosol durant la photo-oxydation	99
Tableau 22: Évolution du temps d'induction et de l'activité de piégeage du radical ORAC de l'HOEV/ <i>L. nobilis</i> au cours de la photo-oxydation	102
Tableau 23: Récapitulatif de l'ANOVA de l'effet de l'huile essentielle, d'emballage et de condition et le temps de stockage	142
Tableau 24: Encodage des échantillons au cours de la période de "Retail-display"	143

Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de Normalisation
AG	Acides Gras
AGL	Acide gras libre
AGMI	Acide gras monoinsaturé
AGPI	Acide gras polyinsaturé
AH	Antioxydant
ANOVA	Analyse de la variance
APPH	2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride
BHT	Butyl-hydroxy Toluène
CPG	Chromatographie Phase Gazeuse
CPG/SM	Chromatographie Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
DPPH[•]	Le radical 2-2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
HE	Huile Essentielle
HEs	Huiles Essentielles
HOEV	Huile d'Olive Extra Vierge
HOEV/Témoin	Huile d'Olive Extra Vierge non aromatisée
HOEV/<i>L. nobilis</i>	Huile d'Olive Extra Vierge aromatisée par l'huile essentielle de laurier
HOEV/<i>S. montana</i>	Huile d'Olive Extra Vierge aromatisée par l'huile essentielle de la sarriette
IC₅₀	Concentration inhibitrice de 50% des radicaux
IP	Indice de Peroxyde
IR	Indice de Rétenion
K₂₃₂	Quantité de diènes conjugués à 232 nm
K₂₇₀	Quantité de triènes conjugués à 270 nm
Me	Médiane
mEq O₂/ Kg	Milliéquivalent d'Oxygène par Kilogramme
MO	Monoterpènes oxygénés
MT	Monoterpènes
Nm	Nanomètre
PE	Polyéthylène
ORAC	Oxygene radical absorbance capacity
PETO	Polyéthylène téréphtalate opaque
PETT	Polyéthylène téréphtalate transparent
R[•]	Radical libre d'acide gras insaturé
R-H	Acide Gras Insaturé
ROO[•]	Radical peroxy
ROOH	Radical Hydroperoxyde
Sen	Photo sensibilisateur
SM	Spectrométrie de Masse
ST	Sesquiterpènes
STO	Sesquiterpènes oxygénés
TI	Temps d'Induction à l'oxydation
TR	Temps de Rétenion
VO	Verre opaque
VT	Verre transparent

Introduction générale

Introduction générale

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 méditerranéen qui est bien connue pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Si l'huile d'olive est un produit intéressant du point de vue nutritionnel, c'est tout d'abord pour sa composition en acides gras (Boskou, 1996; Medeiros, 2001; Gimeno *et al.*, 2002).

Outre cette composition particulière en acides gras, l'huile d'olive est surtout intéressante pour ses composés minoritaires tels que les polyphénols (Velasco et Dobarganes, 2002). L'intérêt nutritionnel de ces composés phénoliques réside dans leur forte capacité antioxydante qui pourrait prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies tel que le cancer (Fernandaz-Arroyo *et al.*, 2012; Garcia-Villalba *et al.*, 2012) ainsi que les maladies cardiovasculaires (Lamy *et al.*, 2014). Optimiser leur contenu dans l'huile d'olive, présente donc un réel intérêt de santé publique. La connaissance de ces nombreux intérêts ont été à l'origine du développement de nouvelles méthodes de protection de cette huile contre la dégradation oxydative (Arcoleo *et al.*, 2009; Saavedra *et al.*, 2015; Keramat *et al.*, 2017; Keramat *et al.*, 2018).

L'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) est le résultat d'un mécanisme bien connu entraînant de nombreuses modifications chimiques indésirables telles que l'apparition de faux goûts, la perte des qualités nutritionnelles et l'apparition de produits d'oxydation dont certains sont suspectés être dangereux pour la santé humaine. De façon naturelle, l'huile d'olive contient des antioxydants comme les pigments, tocophérols et polyphénols pouvant ainsi retarder l'apparition des phénomènes d'oxydation. Cependant, les conditions de stockage que subit cette huile, entraîne la dégradation de ces molécules en réduisant leur capacité de protection des AGPI.

L'oxydation des lipides est aussi directement corrélée à la présence de la lumière (photo-oxydation), à la longueur d'onde de cette dernière, à son intensité, au temps d'exposition ainsi qu'à la température de stockage. C'est pourquoi le choix des caractéristiques du matériau d'emballage utilisé pour son conditionnement, telles que ses propriétés barrières à l'oxygène et la présence d'antioxydants dans l'aliment, sont aussi à prendre en considération pour contrôler ce phénomène.

Au cours des dernières années, l'industrie agroalimentaire s'intéresse aux antioxydants naturels des plantes et principalement aux huiles essentielles (HEs) comme alternatives aux additifs artificiels pour conserver les aliments et diminuer leur altération oxydative. Plusieurs études ont rapporté que les HEs de certaines plantes aromatiques comme le romarin, (*Rosmarinus officinalis*) le thym (*Thymus vulgaris*), le laurier (*Laurus nobilis*), et le fenouil (*Foeniculum vulgare*) sont capables de protéger l'huile d'olive de l'oxydation (Ayadi *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2015; Keramat *et al.*, 2016; Chang *et al.*, 2017).

Les objectifs de ce travail consistent à déterminer la composition chimique, les propriétés antioxydantes de l'HE du laurier (*Laurus nobilis*), de la sarriette (*Satureja montana*), du lentisque (*Pistacia lentiscus*) et d'inule (*Inula graveolens*) et d'étudier l'effet antioxydant de ces HEs sur la photo-oxydation de l'huile d'olive de la variété *Chemlal* de la région Kabyle (M'Chedallah). L'étude de l'influence de différents types d'emballage, à savoir le polytéraphthalate d'éthylène (PET) et le verre transparent et opaque sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive pendant le stockage sous la lumière et dans l'obscurité a été aussi réalisée.

*Chapitre 1: Oxydation de huile
d'olive*

1. Introduction

Parmi toutes les matières grasses alimentaires, l'huile d'olive est considérée un produit par excellence dans les traditions culinaires méditerranéennes.

Dans l'antiquité l'huile d'olive a été considérée comme l'or liquide par les Grecs, notamment. Indispensable dans de nombreux domaines, jeux olympiques, sport, médecine, éclairage etc.... ; elle procure de la richesse aux producteurs et devient un enjeu économique dans tout le pourtour méditerranéen.

L'huile d'olive était alors l'une des seules denrées alimentaires qui pouvait être transportées sur de longues distances. Pour cette raison, les peuples marchands, comme les Phéniciens, les Grecs et plus tard les Romains ont été de grands diffuseurs de la culture de l'olivier (Bervillé et Berton, 2012).

2. Dénominations et définitions

Selon le conseil oléicole international (COI, 2001), l'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea sativa Hoffm. & Link*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. Elle est commercialisée selon diverses dénominations : L'huile d'olive vierge extra, vierge, vierge courante, vierge lampante, l'huile d'olive raffinée, huile d'olive, huile de grignons d'olive brute, huile de grignons d'olive raffinée et huile de grignons d'olive.

L'appartenance à une catégorie est définie en fonction de l'évaluation de quelques paramètres de qualité de l'huile d'olive à savoir : l'acidité, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV et les caractéristiques organoleptiques. Les différentes catégories d'huile d'olive vierge ainsi que les limites des critères de qualité établies par le COI (2005), sont représentées dans le **Tableau1**.

Tableau 1: Différentes catégories d'huile d'olive vierge et leurs critères de qualité (COI, 2005)

	Huile d'olive extra vierge	Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante	Huile d'olive raffinée	Huile d'olive	Huile de grignons d'olive brute	Huile de grignons d'olive raffinée	Huile de grignons d'olive
Caractéristiques organoleptiques									
Fruité	Me > 0	Me > 0							
Défaut	Me = 0	0 < Me < 2,5	2,5 < Me < 6,0	Me > 6,0	-	-	-	-	-
Acidité libre (% d'acide oléique)	≤ 1,0	≤ 2,0	≤ 3,3	> 3,3	≤ 0,3	≤ 1,5	Non limitée	≤ 0,3	≤ 1,5
Indice de peroxyde (méc O ₂ /Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité	≤ 5	≤ 15	Non limité	≤ 5	≤ 15
Extinction spécifique (UV)									
- K ₂₇₀	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,30	Non limitée	≤ 0,16	≤ 0,15	-	≤ 2,00	≤ 1,70
- ΔK	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01					≤ 0,20	≤ 0,18

Me: Médiane

3. Technologie des huiles d'olives

3.1. Préparation des olives et trituration

Après la cueillette, les olives sont séparées des feuilles, des brindilles et des rameaux, puis lavées à l'eau froide. Elles sont ensuite broyées avec le noyau afin d'en extraire le jus constitué d'huile et d'eau contenues dans la pulpe. Pour ce faire, il existe deux méthodes.

3.1.1. Ecrasement

L'écrasement des olives sous une meule est une méthode plus ancienne. Contrairement aux idées reçues, la libération de l'huile n'est pas due directement à la masse de la meule mais aux frottements de la pulpe contre les éclats tranchants des fragments de noyaux concassés par celle-ci.

3.1.2 . Broyage

Le broyage est la méthode la plus utilisée pour traiter les gros volumes d'olives. Les broyeurs utilisés se composent généralement d'une série d'éléments métalliques tournant rapidement et munis d'arêtes vives variant en nombre et en épaisseur. Cette fois la rupture de la pulpe n'est plus causée uniquement par les fragments des noyaux mais aussi directement par les chocs des dispositifs tournant à grande vitesse. L'écrasement entraîne peu d'émulsion d'huile dans l'eau et permet donc d'obtenir un meilleur rendement qualitatif et quantitatif (Michele, 2001). Le broyage, quant à lui, entraîne un fort degré d'émulsion ce qui réduit le rendement quantitatif et rend obligatoire la phase de malaxage.

3.2. Malaxage

Quelle que soit la technique de trituration, l'étape de malaxage est indispensable avant la séparation des différentes phases de la pâte. Le malaxage a pour but d'homogénéiser la pâte d'olive, mais il va également et surtout permettre la coalescence des gouttelettes d'huile.

Le malaxage est une étape très contrôlée qui s'effectue dans un bac en acier dans lequel des pales hélicoïdales en rotation maintiennent un lent mouvement de mélange de la pâte. Les bacs de malaxage sont le plus souvent fermés, de façon à retenir les arômes de la pâte et à limiter son oxydation.

Durant cette étape, elle est légèrement chauffée afin d'obtenir une meilleure coalescence des gouttes d'huiles. Seule une huile obtenue à une température \leq à 27 °C pourra prétendre à la mention «à froid». Lorsque la température est mal régulée (ou volontairement supérieure pour obtenir un meilleur rendement), l'huile peut perdre sa qualité. De plus d'un point de vue nutritionnel, elle subit des pertes en phénols et en tocophérols et une augmentation de son degré d'oxydation, si la température est $>$ 30 °C (Michele, 2001).

3.3. Extraction de la phase liquide

Une fois la pâte d'olive homogénéisée et la coalescence effectuée, l'étape suivante consiste en la séparation de la phase solide (grignons) constituée par la pulpe broyée, les fragments de noyaux et les peaux, de la phase liquide contenant l'huile et l'eau (margines).

Deux systèmes de séparation de phases sont utilisés: un système de presse et l'autre de décantation.

3.3.1. Pression

La pression est le procédé le plus ancien. La pâte est répartie sur des disques en fibres naturelles ou synthétiques tressées appelées scourtins, qui servent à la fois d'armature et de filtre lors de la pression. Une centaine de ces disques sont empilés pour être pressés. La partie liquide, constituée d'eau de végétation (margine) et d'huile, s'écoule, alors que la partie solide (noyaux et pulpe) reste entre les scourtins : c'est ce que l'on appelle les grignons qui peuvent être récupérés de manière à obtenir de l'huile supplémentaire appelée huile de grignons après extraction par un solvant organique. C'est durant ce processus que l'oleuropéine au goût amer est éliminée dans les eaux de végétation.

3.3.2. Décantation

La décantation se fait dans un décanteur, cylindre métallique tournant à grande vitesse (4000 tours/minutes), dans lequel les différents composants de la pâte se séparent en fonction de leur densité. L'huile, plus légère que l'eau et les matières solides, se recueille séparément des autres éléments au centre du cylindre.

3.4. Séparation de l'huile et de l'eau

L'extraction permet de séparer l'huile d'une part et les grignons et margine d'autre part. L'obtention de l'huile demande de la séparer de la pulpe et de l'eau résiduelle. Deux procédés peuvent être utilisés:

- **la décantation naturelle** consiste à laisser le mélange huile-eau se séparer par leur différence de masse volumique. Cette méthode n'est pratiquement plus utilisée car difficile à exploiter aux vus des exigences qualitatives actuelles.
- **la centrifugation verticale** est utilisée dans quasiment toutes les exploitations. L'huile et l'eau sont alors séparées sous l'effet de leur différence de masse volumique et de la force centrifuge.

3.5. Décantation/filtration

A la sortie de la centrifugeuse, l'huile d'olive présente un aspect trouble et contient de l'eau et des particules en suspension. Elle peut être stockée telle quelle ou filtrée avant la mise en bouteille.

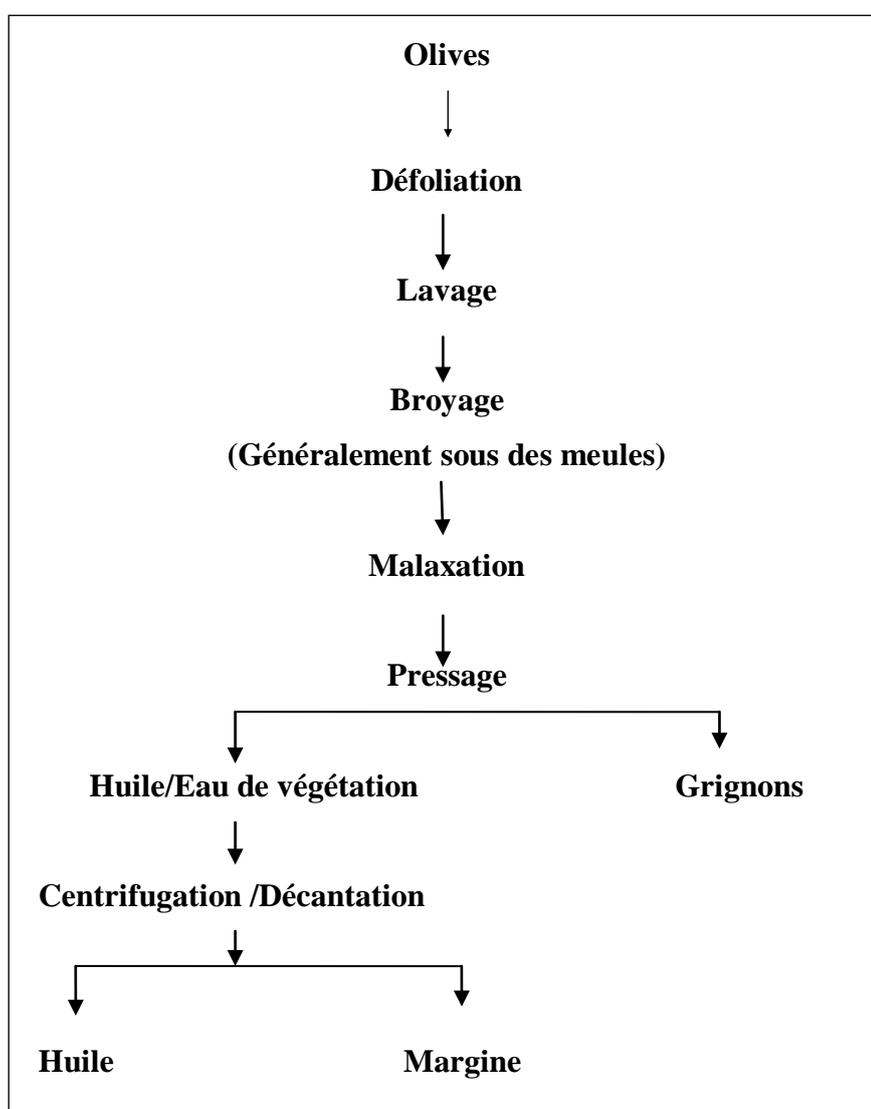


Figure 1: Diagramme de technologie d'obtention de l'huile d'olive

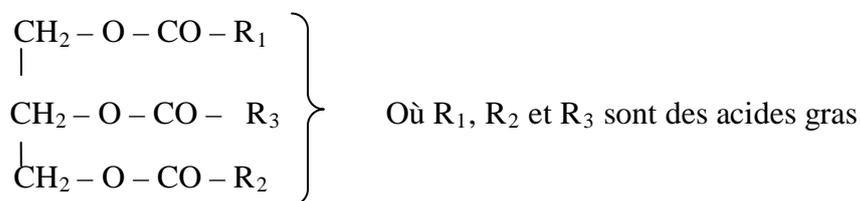
4. Composition chimique de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge est un système chimique complexe constitué de plus de 250 composés (Kiritsakis, 1993; Angerosa *et al.*, 2004). 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).

4.1. Fraction saponifiable

L'huile d'olive vierge extra est composée de 98% en lipides saponifiables dont environ 98 à 99% de triacylglycérols, le reste des lipides sont essentiellement des acides gras libres et des esters de phytostéroïdes. Les triacylglycérols sont des triesters d'acides gras et du glycérol (Aparicio et Harwood, 2013). La formule chimique générale des triglycérides est la suivante:



Les acides gras présents dans l'huile d'olive se trouvent sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre. Ce sont des monoacides linéaires à nombre pairs (majoritaires) et impairs d'atomes de carbone dont le nombre varie de 14 à 24. Leur chaîne aliphatique est soit saturée soit mono ou polyinsaturée. Ils se composent en moyenne de 72% d'acides gras mono insaturés, de 14% d'acides gras polyinsaturés et de 14% d'acides gras saturés (*Codex Alimentarius*, 1993).

L'huile d'olive est une l'huile naturelle, constituée par l'acide oléique, mais contenant une quantité d'acide linoléique (3,5 à 21%) et linoléique (acides gras polyinsaturés essentiels). Le principal acide gras de l'huile d'olive est l'acide oléique (65 à 80%). La popularité croissante de l'huile d'olive a été principalement attribuée à sa teneur élevée en acide oléique.

Les huiles d'olive sont constituées de 14 acides gras (**Tableau 2**) dont quatre acides gras principaux:

- Acide oléique (C18:1 ω 9): $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH} (\text{CH}_2)_7\text{COOH}$

- Acide palmitique (C16:0): $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
- Acide linoléique (C18:2 ω6): $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
- Acide stéarique (C18 :0): $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$

Tableau 2: Composition en acides gras de l'huile d'olive selon le *Codex Alimentarius* (1993) et Gavrilovic *et al.* (1996).

Les acides gras saturés (%)	Les acides gras insaturés (%)
Acide laurique C ₁₂ ; quantité décelable	Acide palmitoléique C ₁₆ :1; 0,3-3,5
Acide myristique C ₁₄ < 0,1	Acide oléique C ₁₈ : 1; 55-83
Acide palmitique C ₁₆ :0; 7,5-20	Acide linoléique C ₁₈ : 2; 3,5- 21
Acide stéarique C ₁₈ : 0; 0,5 – 5	Acide linolique C ₁₈ : 3; < 1,5
Acide arachidique C ₂₀ : 0; < 0,8	Acide erucique C ₂₂ : 1; quantité décelable
Acide béhénique C ₂₂ : 0; < 0,3	
Acide lignocérique C ₂₄ : 0; 0	

4.2. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable (environ 2% du poids total) est composée d'un ensemble complexe de composés mineurs, qui comprend plus de 230 composés chimiques (alcools aliphatiques et triterpéniques, les stérols, les hydrocarbures volatils, des composés phénoliques et des molécules antioxydantes) (Servili *et al.*, 2014).

4.2.1. Pigments

La couleur de l'huile d'olive est essentiellement liée à la présence des chlorophylles et les caroténoïdes (Moyano *et al.*, 2008).

La chlorophylle (C₅₅H₇₂O₅N₄Mg) de couleur verte, est le pigment photosynthétique essentiel des feuilles de plantes supérieures. Elle est comme l'hème des globines et des cytochromes (Moussard, 2002). C'est une métalloprotéine (**Figure 2**) à un noyau tétrapyrrolique (chlorine) qui contient cinq anneaux isocycliques biosynthétiquement drivés de la chaîne latérale de l'acide propionique et généralement de l'atome de magnésium (Mg) au centre (Morot et Farineau, 2011). La chlorophylle contient dans sa structure de nombreuses liaisons conjuguées qui permettent une absorption du rayonnement lumineux. Les chaînes latérales de chlorine sont variables celles ci entraînent une modification du spectre

d'absorption entre les différentes familles de chlorophylles (Rowan, 1989; Lichtnerler, 1987).

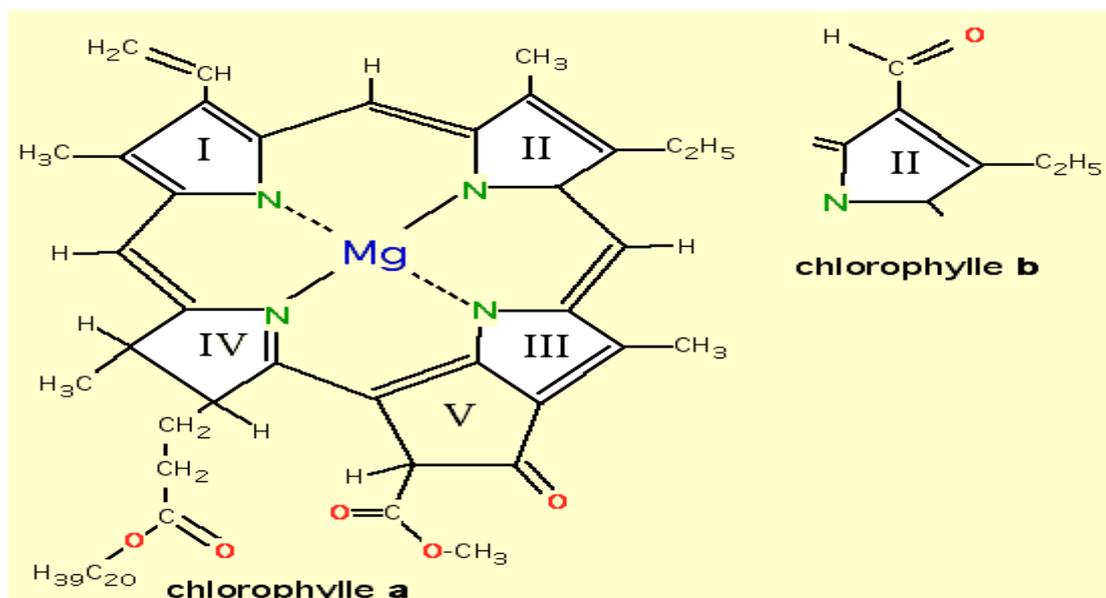


Figure 2: Structure de la chlorophylle a et b

Les principaux caroténoïdes dans l'huile d'olive sont la lutéine, le β -carotène et les xanthophylles. Leur teneur oscille entre 1 à 100 ppm, avec une prédominance de la lutéine et du β -carotène (Minguez-Mosquera *et al.*, 1991). Les caroténoïdes possèdent une activité antioxydante, ils exercent un effet inhibiteur sur la photo-oxydation en désactivant l'oxygène singulet induit par les pigments chlorophylliens (Giuffrida *et al.*, 2007).

La présence de ces pigments dans l'huile d'olive dépend de fruit (*Olea europea L*), les facteurs génétiques (la variété des olives), le degré de maturation du fruit, les conditions environnementales, les méthodes d'extraction et les conditions de stockage du produit. Les méthodes d'extraction causent la perte de ces pigments dans l'huile d'olive, principalement les chlorophylles qui se transforment en pheophytine par changement des ions de Mg^{2+} . La chlorophylle (a) et la pheophytine (a) se trouvent en majeure partie dans l'huile d'olive.

La composition et la teneur des pigments naturellement présents dans l'huile d'olive, sont des paramètres importants parce qu'elles sont corrélées à la couleur, qui est un attribut de base pour évaluer la qualité de l'huile d'olive (Criado *et al.*, 2007; Giuffrida *et al.*, 2007; Hashempour *et al.*, 2010).

Les chlorophylles et les caroténoïdes jouent un rôle très important comme antioxydants des denrées alimentaires conservées à l'obscurité mais en présence de la lumière pourraient

agir en tant que pro-oxydants favorisant ainsi la formation des radicaux libres à l'oxygène en accélérant la photo-oxydation.

4.2.2. Tocophérols

On distingue la vitamine E qui est une vitamine liposoluble de formule brute $C_{29}H_{50}O_2$ et de masse molaire 430. Elle fait partie de la famille des tocophérols, nom proposé pour la première fois en 1936 par Evans et collaborateurs. Cette famille comprend 4 substances: l' α -tocophérol, qui est la vitamine E proprement dite, le β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol qui se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (**Figure 3**). Ces composés ont, par ailleurs, beaucoup de similitudes structurales avec 4 autres molécules appartenant à la famille des tocotriénols: l' α -tocotriénol, le β -tocotriénol, le γ -tocotriénol et le δ -tocotriénol.

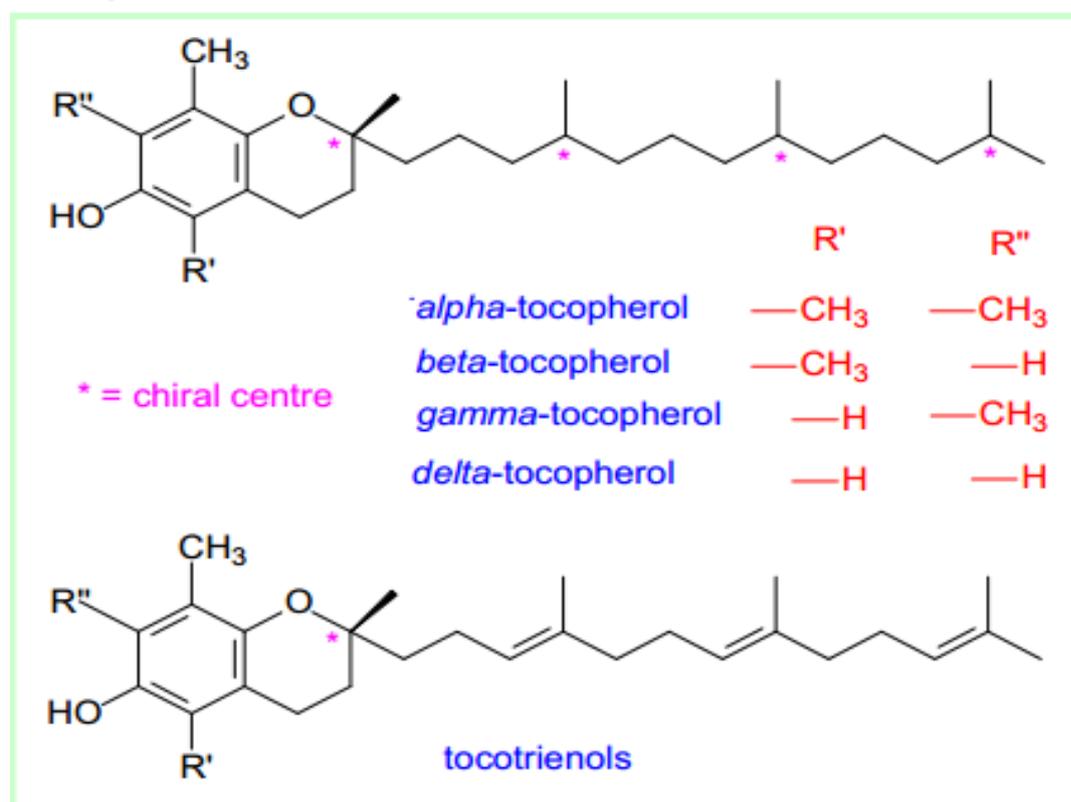


Figure 3: Structure de la vitamine E

La quantité de tocophérol dans l'huile d'olive dépend non seulement de la présence de ces composés dans l'olive mais aussi des autres facteurs impliqués: la variété d'olive et sa maturité, les conditions de stockage avant l'extraction, la durée de conservation des olives, le transport et le procédé de traitement du fruit. Dans l'huile d'olive, le rapport entre la vitamine

E et les acides gras polyinsaturés est meilleur que dans les autres huiles végétales dont l' α tocophérol qui est la forme vitaminique la plus active représentant 95% des tocophérols totaux. Cette vitamine contribue à la stabilité de l'huile d'olive obtenue pendant son stockage (Okogeri et out, 2001).

En absence d'oxygène, les tocophérols sont stables à la chaleur, à la lumière et aux alcalins (Frenot et Vierling, 2002).

La vitamine E intervient dans l'inactivation des formes réactives de l'oxygène et est donc impliquée dans la problématique du stress oxydant (Cuvelier *et al.*, 2003).

4.2.3. Composés phénoliques

L'huile d'olive de bonne qualité consommée sans raffinage, contient des composés phénoliques qui contribuent à sa stabilité.

La concentration et la composition en composés phénoliques dans l'huile d'olive vierge sont fortement affectées par de nombreux facteurs agronomiques et technologiques, comme le cultivar d'olive, la zone géographique, le climat, le degré de maturation, la saison de la récolte, l'irrigation et le processus de production (Tanouti *et al.*, 2010; Meftah *et al.*, 2014). Ouni *et al.* (2012) ont évalué la teneur en composés phénoliques dans l'huile d'olive cultivée à différentes altitudes et ont observé que cette teneur est plus élevée à des hautes altitudes qu'aux basses altitudes (817,33 g/kg à 304 m; 131,91 g/kg à 10 m).

Un grand nombre de composés phénoliques sont présents dans l'huile d'olive vierge: Les phénols simples sont répartis en deux classes. L'une regroupe les alcools phénoliques dont les plus abondants sont l'hydroxytyrosol et le tyrosol et dont la présence peut aussi être due à la dégradation de certains phénols complexes (dérivés de l'hydrolyse de l'oleuropéine et du ligstroside). L'autre classe de phénols simples regroupe les acides phénoliques dont entre autres, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique ou encore l'acide vanillique.

Les phénols complexes sont classés en trois sous-catégories: les dérivés sécoïridoïdes, les lignanes et les flavonoïdes. Dans le premier groupe se trouve l'oleuropéine, responsable de l'amertume des olives et de l'huile d'olive, qui est le composé majoritaire ainsi que le ligstroside, responsable du piquant, associés à tous leurs dérivés aglycones. Parmi les lignanes, on retrouve le pinorésinol, l'acetoxypinorésinol et l'acide élenolique. Dans le groupe des flavonoïdes, l'apigénine et la lutéoline sont les composés majoritaires.

4.2.4. Composés aromatiques

Si l'huile d'olive est intéressante d'un point de vue nutritionnel, elle est surtout appréciée pour son goût et ses arômes particuliers. Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (< 300 Da) possédant une volatilité à température ambiante. L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs (Angerosa, 2002). Ces composés volatiles sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras. D'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive, vont dégrader les acides gras par des voies de lipoxygénases et ces produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olive. A l'inverse, les produits d'oxydation chimique ou dus à des enzymes exogènes (activité microbiologique) seront généralement associés à des défauts sensoriels (Venkateshwarlu *et al.*, 2004).

Plus de 70 molécules composent la fraction volatile des huiles d'olive. Elles sont réparties en aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures et cétones. La majorité des composés à 5 ou 6 atomes de carbone et parmi eux on trouve l'hexanal, le trans-2-hexenal, l'hexan-1-ol et le 3-méthylbutan-1-ol (Aparicio *et al.*, 1997; Kiritsakis, 1998; Angerosa, 2002). Aucune de ces molécules ne peut être à elle seule responsable d'un arôme caractéristique d'une huile, cependant des corrélations positives ou négatives ont été observées entre concentration de certaines molécules et développement de certains attributs de l'huile. Ainsi le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation d'amer alors que le 3-hexen-1-ol et l'hexanal sont eux corrélés de façon négative avec l'amertume (Angerosa *et al.*, 2000). De même, concernant la sensation de piquant, le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation de piquant alors que le 2-hexenal et l'hexanal sont eux corrélés de façon négative avec le piquant (Angerosa *et al.*, 2000).

4.2.5. Stérols

Les stérols sont des constituants essentiels des membranes cellulaires, et on les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux. Ils ont le même noyau mais différent par leur chaîne latérale. La quantité totale de stérols dans l'huile d'olive vierge extra varie entre 113 à 265 mg/100 g (Kiritsakis et Markakis, 1987; Gutierrez *et al.*, 1999). Parmi les facteurs qui influent sur cette teneur, figurent la variété des olives et leur degré de maturité (Gutierrez

et al., 1999; Kiritsakis et Markakis, 1987). Dans l'huile d'olive, le principal stérol est le β -sitostérol, représentant jusqu'à 90-95% du total, et qui a une action anticarcinogène (Raicht *et al.*, 1980; Awad *et al.*, 1998; Awad *et al.*, 2000). Le campésterol et le stigmastérol comptent respectivement pour 3% et 1% du total. Il a été démontré que les quantités de phytostérols apportées par un régime riche en huile d'olive extra vierge aient un effet bénéfique sur les concentrations sériques de cholestérol (Pelletier *et al.*, 1995).

4.2.6. Hydrocarbures

Le principal hydrocarbure de l'huile d'olive est le Squalène, un triterpène qui apparaît dans la voie de la biosynthèse du cholestérol (Owen *et al.*, 2000). Sa présence dans l'huile d'olive est d'environ 136 et 708 mg/100 g (Kiritsakis, 1990). L'huile d'olive possède la plus haute teneur en squalène comparée aux autres huiles (Owen *et al.*, 2000). Outre le squalène, l'huile d'olive contient aussi d'autres hydrocarbures, comme le β -carotène (une pro-vitamine A), mais en moindres quantités (Kiritsakis et Markakis, 1987). Selon une étude effectuée sur la variété Arbequine par Morello *et al.* (2004), ces composés sont présents à un taux moyennant 10 mg/Kg. Leur teneur varie grandement selon la récolte. Les concentrations peuvent aller de 19 mg/Kg pour des olives récoltées entre Novembre et Janvier pour atteindre une concentration inférieure à 5 mg/Kg pour des olives récoltées après la seconde semaine de janvier. De même que pour les composés phénoliques, le stockage de l'huile contribue à la perte des caroténoïdes, allant jusqu'à 40% de composés en moins pour un stockage de 12 mois (passant de 19 mg/Kg à 12 mg/Kg). Ces composés caroténoïdes, et en particulier, le β -carotène, sont capables de capturer les radicaux libres oxygénés, et jouent ainsi un rôle antioxydant (Van den Berg *et al.*, 2000).

5. Critères de qualité d'une l'huile d'olive

D'une façon générale, la qualité est définie comme étant la combinaison des attributs ou des caractéristiques d'un produit qui ont une signification en déterminant le degré d'acceptabilité de ce produit par l'utilisateur final (Kalua *et al.*, 2007).

Les huiles d'olive vierges se classent en différentes catégories en fonction de leurs caractéristiques physicochimiques et organoleptiques (Règlement CEE N°2568/91; C.O.I. 2005). Cependant, l'acidité apparaît comme un moyen simple et fiable pour évaluer la qualité de l'huile. Elle traduit la qualité des olives avant la trituration, plus elle est faible plus la

qualité des olives devrait être bonne. Généralement, les producteurs d'huiles d'olive l'adoptent pour l'évaluation de la qualité de leurs produits car l'analyse est peu coûteuse, et peut même être mise en œuvre sur place avec un minimum de moyens. Ils peuvent alors s'en servir pour gérer leur production au point de vue qualitatif (Pinatel *et al.*, 2004). Toutefois une huile pourra être déclassée si ses qualités organoleptiques ne sont pas satisfaisantes, même si au niveau chimique, tous les paramètres sont bons.

6. Facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive

La qualité d'une huile d'olive est liée à sa composition chimique, sa stabilité à l'oxydation et à ses caractéristiques sensorielles. Tous ces paramètres sont affectés par:

➤ **La variété**

La variété de l'olive est l'un des principaux facteurs qui détermine la teneur et le profil en composés phénoliques de l'huile d'olive vierge (Fregapane et Salvador, 2013). Plusieurs travaux de recherche ont signalé que la composition en polyphénols de l'huile d'olive est largement influencée par le cultivar (Brenes *et al.*, 1999; Cerretani *et al.*, 2004; Ocakoglu *et al.*, 2009; Vekiari *et al.*, 2010). Cette composition constitue une propriété intrinsèque de la variété permettant la caractérisation variétale des huiles d'olives (Inglese, 1994; Cortesi *et al.*, 2000; Gómez-Alonso *et al.*, 2002; Xiang *et al.*, 2017).

Gómez-Rico *et al.* (2008) ont réalisé une étude sur six variétés espagnoles appartenant à une même oliveraie, ils ont noté que les dérivés sécoïridoïdes de l'hydroxytyrosol et du tyrosol étaient la fraction phénolique majeure dans toutes les variétés étudiées, mais leur distribution varie dans les différentes variétés étudiées. Pour Arbequina, Cornicabra, Piccolimòn et Picual, les dérivés sécoïridoïdes d'hydroxytyrosol étaient les complexes de phénols les plus importants, tandis que pour Morisca et Picudo, les dérivés sécoïridoïdes du tyrosol constituaient les composés majeurs.

➤ **Le stade de maturation**

La qualité de l'huile d'olive vierge dépend pour environ 30% de la maturité des olives. Des processus de transformation chimique et de synthèse de substances organiques intervenant à l'intérieur de l'olive, dont notamment la synthèse des glycérides qui revêt une importance particulière (Salvador *et al.*, 2001; Beltran *et al.*, 2005; Taha et Ahmed, 2018).

➤ **Le stockage**

Est une étape très importante de tout aliment, y compris l'huile d'olive. En fait, la durée de vie de l'huile d'olive peut être influencée par différents facteurs, de la qualité d'olive aux technologies de traitement, Cependant, le choix des conditions de stockage appropriées, y compris l'emballage, peut être d'une grande importance. Le type d'emballage et la lumière ont un effet sur la stabilité de l'huile d'olive.

Ben Tekaya et Hassouna, (2005) ont étudié la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage, et ont noté que les huiles d'olives qui ont été conditionnées dans des emballages en verre et en métal ont maintenu un bon degré de stabilité pendant toute la période de stockage (deux ans) en condition d'obscurité et à température ambiante. Cependant les huiles qui ont été conditionnées dans l'emballage en plastique (PET) ont montré une faible stabilité oxydative dans les mêmes conditions de stockage. En effet les mêmes auteurs ont signalés des valeurs supérieures significatives en termes de coefficients d'extinction K_{232} (3,1) et K_{270} (0,35).

➤ **La zone géographique**

La qualité de l'huile d'olive est influencée par la zone de culture. Meftah *et al.* (2014); Tanouti *et al.* (2011) ont démontré que l'acidité libre et la teneur en polyphénols totaux sont fortement influencées par l'origine des olives malgré que le système d'extraction et la variété sont les mêmes. Issaoui *et al.* (2010) ont travaillé sur deux variétés tunisiennes «Chemlali et Chetoui» dans deux régions différentes; le nord et le sud de la Tunisie, ils ont noté que les cultures du nord produisaient des huiles avec une teneur plus élevée (572,5 mg/Kg) en phénols totaux en comparaison avec les huiles issues du sud de la Tunisie (172,5 mg/Kg).

Une composition chimique très variable a été enregistrée pour les huiles d'olives produites dans plusieurs régions oléicoles de l'Algérie. Les huiles d'olives provenant de la région de Skikda renferment des teneurs considérables en α -tocophérol (28,03 mg/100g) tandis que les huiles de la région de Tizi-ouzou se distinguent par une faible quantité (10,3 mg/100g) en α -tocophérol (Benabid, 2009).

➤ **La période et méthodes de récolte des olives**

La production d'huile d'olive de qualité supérieure nécessite la maîtrise aussi bien de la période et les méthodes de récolte des olives ainsi que les étapes de transport, de conservation

et de triturations des olives. Les dommages causés aux olives durant ces étapes, se répercutent négativement sur la qualité du produit fini (Amelio, 2003; Gutiérrez et Carretero, 2009; COI, 2010). Selon Ilyasoglu *et al.* (2010), la saison de récolte peut affecter la composition chimique de l'huile d'olive, spécialement sa teneur en antioxydants. Cet effet peut être attribué aux conditions climatiques spécialement la pluviométrie et la température durant la croissance et la maturation des fruits d'olives. Ces auteurs ont signalé des différences significatives concernant la teneur en phénols totaux de deux variétés turques Ayvalik et Memecik au cours de deux saisons de récolte consécutives. Les teneurs en phénols totaux les plus élevées étaient enregistrées pendant l'année qui semblait avoir de faibles pluviométries.

El Riachy *et al.* (2018), ont signalé des différences significatives concernant la valeur de l'indice de peroxyde au cours de deux récoltes (précoce et tardive). La valeur de l'indice de peroxyde la plus élevée a été enregistrée pendant la récolte tardive.

➤ **Le procédé d'extraction**

La qualité de l'huile d'olive est fortement influencée par la qualité des olives triturées et par le procédé d'extraction utilisé (Vaz-Freire *et al.*, 2008). Au cours d'une étude menée sur l'effet de la méthode d'extraction sur la composition chimique de l'huile d'olive, Gimeno *et al.* (2002) ont signalé que la teneur des composés phénoliques la plus élevée a été enregistrée dans l'huile d'olive extraite par un système de centrifugation à deux phases. Puértolas et De Maraño, (2015) ont noté que l'extraction par le champ électrique pulsé influence positivement le rendement et la qualité physico-chimique et organoleptique de l'huile d'olive.

Bienfaits de l'huile d'olive sur la santé

Les bienfaits de l'huile d'olive sont liés à sa structure chimique, riche en acides gras insaturés, principalement l'acide oléique, en antioxydants (polyphénols), en vitamine E et autres constituants. L'huile d'olive diminue le risque des maladies cardiovasculaires, le taux du mauvais cholestérol (LDL) dans le sang et protège contre la formation de cellules cancérogènes (Scoditti *et al.*, 2014; Salazar *et al.*, 2017; Nocella *et al.*, 2018).

Des études épidémiologiques ont démontré que l'huile d'olive, est associée à une réduction de plusieurs types de cancers tels que le cancer du sein et du colon (Yousfi *et al.*, 2018; Brozi *et al.*, 2019). En effet, l'acide oléique, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'oleuropeine et le toxifoline contenant dans huile d'olive constituent l'angiogenèse par l'inhibition de

facteur de croissance de l'endothélium vasculaire ce qui permettrait d'arrêter la croissance tumorale (Lamy *et al.*, 2014).

8. Oxydation de l'huile d'olive

8.1. Phénomène d'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides est considérée comme étant l'attaque des insaturations des acides gras libre par l'oxygène atmosphérique: c'est le rancissement oxydatif, phénomène chimique, spontané, évolutif, irréversible et altératif. L'oxydation des lipides se traduit par une perte de la valeur nutritionnelle des produits gras et par la détérioration de leurs qualités sensorielles. L'oxydation rend non seulement l'aliment moins acceptable ou inacceptable par le consommateur mais aussi provoque de grandes pertes économiques à l'industrie alimentaire (Kim *et al.*, 2007).

L'oxydation des lipides comprend d'abord la formation de composés réactifs comme les radicaux peroxydes (Graille, 2003). Les peroxydes sont moins stables, capables de donner naissance, par coupure, à des molécules plus petites: hydrocarbures, aldéhydes, cétones, acides qui sont responsables de la détérioration organoleptique du produit (Moll et Moll, 1998).

Ce phénomène est reconnu comme étant le principal problème des huiles comestibles car il provoque des modifications de leurs propriétés chimiques, sensorielles et nutritionnelles.

8.2. Mécanismes de l'oxydation de l'huile d'olive

Le rancissement oxydatif est la première cause de détérioration de l'huile d'olive durant le stockage. Ceci est dû à une réaction entre les acides gras insaturés (indépendamment du fait qu'ils soient dans leur état libre ou estérifié sous forme de triglycéride), et l'oxygène, les U.V, etc... . Cette réaction pourrait être limitée en maintenant l'huile à l'abri de la chaleur et de la lumière (Kristott, 2000).

Les deux facteurs qui déterminent la susceptibilité de l'huile vis-à-vis de l'oxydation sont la composition en acides gras et les composés antioxydants.

Le type d'acides gras présents dans l'huile, et plus spécialement le nombre de doubles liaisons, détermine le type et le nombre de réactions qui vont survenir durant le stockage. L'abondance d'acide oléique (C18:1) qui est présent jusqu'à 83% dans certaines variétés d'huiles d'olive ne possède qu'une double liaison, permettant ainsi de limiter les risques d'oxydation.

L'huile d'olive vierge extra contient une quantité variable d'antioxydants. Cela inclut des caroténoïdes, tocophérols et composés phénoliques qui, selon différents mécanismes, confèrent à l'huile une défense contre l'attaque de radicaux libres. Des études ont évalué la contribution de ces composés pour lutter contre l'oxydation de l'huile (Ocakoglu *et al.*, 2009; Pejovic *et al.*, 2014; Yalcin et schreiner, 2017). On estime que la stabilité de l'huile dépend à 30% des composés phénoliques, à 27% des acides gras, à 11% de la vitamine E (α -tocophérol) et à 6% des caroténoïdes (Aparicio *et al.*, 1999).

Bien que l'huile soit de très bonne qualité lors de sa production, elle va subir comme toute autre matière organique, une altération naturelle, appelée oxydation lipidique. Ces altérations oxydatives limitent alors sa durée de conservation et la rendent impropres à la consommation de part la toxicité de certains produits d'oxydation. L'huile d'olive est sujette à des réactions d'oxydation telles que:

- L'oxydation enzymatique, due à l'activité de certaines enzymes (lipogénèses) (Morales et Przybylski, 2000; Eymard, 2003), elle a lieu au cours de la maturation du fruit, lors du procédé d'extraction et principalement lors du malaxage (Tsimidou, 2006).
- L'auto-oxydation se déroule principalement lors de la préparation de l'huile d'olive et durant son stockage. Cette réaction est catalysée par l'oxygène dissout dans l'huile ou présent dans l'air environnant.
 - La photo-oxydation initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs.
 - L'oxydation thermique lorsque l'huile est entreposée à une température trop élevée.

8.3. Réaction d'oxydation

8.3.1. Oxydation enzymatique

L'oxydation enzymatique est une réaction radicalaire qui se déroule de façon similaire à l'auto-oxydation. Ce phénomène peut être catalysé par la lipoxygénase (Prior, 2003). Cette enzyme catalyse la fixation d'une molécule d'oxygène sur un AGI provenant de l'hydrolyse enzymatique (lipases) des phospholipides et des triglycérides, qui aboutit à la formation des hydroperoxydes (Eymard, 2003).

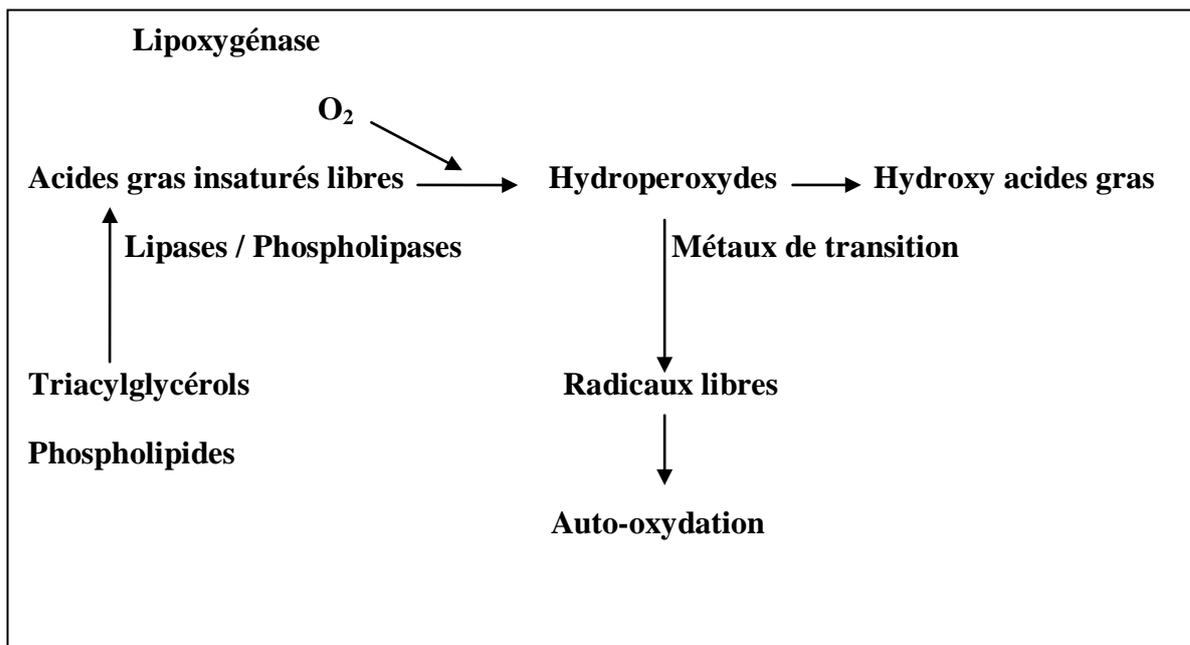


Figure 4: Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsella, 1985)

8.3.2. Auto oxydation

Bien qu'en général, l'huile d'olive soit stockée à l'abri de la chaleur et de la lumière, elle peut s'oxyder tout de même par auto-oxydation (Guillén et Goicoechea, 2008, 2009). L'auto-oxydation est une réaction très lente et dépend essentiellement du taux d'oxygène présent dans l'huile. Cet oxygène sera appelé oxygène atmosphérique et noté $^3\text{O}_2$. Il sera à distinguer de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) intervenant dans les réactions photosensibilisées (oxydation photochimique). L'auto-oxydation des lipides est depuis longtemps reconnue comme étant un enchaînement de réactions radicalaires en chaîne autocatalytique se déroulant en trois étapes: initiation, propagation et terminaison (Croguennec, 2006).

➤ Phase d'initiation

Au cours d'une première réaction ou étape d'initiation, un atome d'hydrogène d'un acide gras libre ou appartenant à un Triacylglycérol (RH) est retiré en présence de l'oxygène, pour donner naissance à un radical libre alkyl R^\bullet (Eq. 1). Cette réaction est endothermique et nécessite une énergie d'activation importante. Elle a lieu en présence de catalyseurs (métaux, lumière, radiations de hautes énergies, chaleur...) (Kanner et Osenthal, 1992; Marc *et al.*, 2004).



➤ **Phase de propagation**

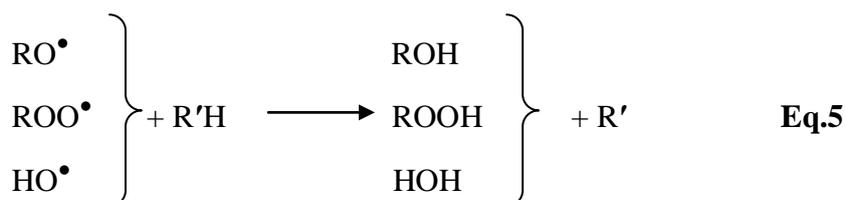
Dans les réactions de propagation, les radicaux lipidiques formés (R^\bullet) fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres de type peroxydes ROO^\bullet instables (Eq. 2) (Judde, 2004). La réaction d'un radical acide gras avec une molécule d'oxygène est très rapide lorsque la teneur en oxygène n'est pas limitante. Un seul radical libre peut initier la formation de nombreuses molécules d'hydroperoxydes ($\geq 1000/\text{min}$). Le radical libre instable pouvant réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras pour former des hydroperoxydes $ROOH$ (Eq. 3) et des produits secondaires tels que des alcools, acides, aldéhydes et cétones et de nouveaux radicaux R^\bullet qui contribuent à la propagation des réactions (Eq. 4). Les hydroperoxydes lipidiques sont des produits relativement stables à température ambiante et en absence de métaux, mais sous l'effet de la température ils vont être décomposés par clivage de la liaison O-O pour donner un radical alcoxyl RO^\bullet et un radical OH^\bullet (Eq. 2). Les radicaux alcoxyl (RO^\bullet), peroxy (ROO^\bullet) et hydroxyl (OH^\bullet) peuvent aussi initier la formation de nouveaux radicaux à partir d'autres acides gras ou/et hydroperoxydes (Eq. 5, Eq. 6, Eq. 7). La quantité d'hydroperoxydes générée correspond à la quantité d'oxygène consommée lors de l'oxydation des chaînes d'acides gras. La vitesse de formation des hydroperoxydes s'accélère au cours du temps (Croguennec, 2006).

- Réaction de propagation

Réactions en chaîne de radicaux libres:



Initiation de nouvelle chaîne

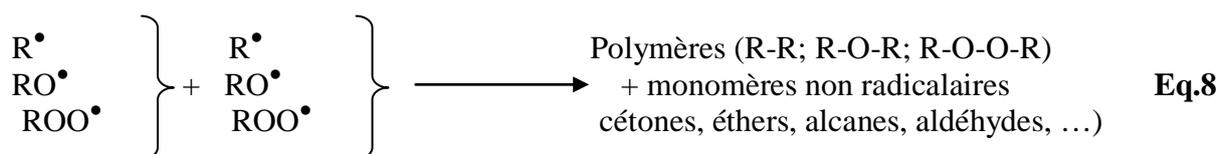


➤ **Phase de terminaison**

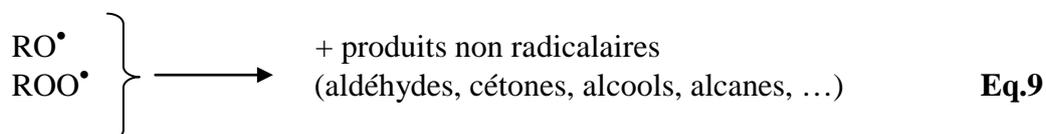
Ces propagations se terminent lorsque les radicaux formés réagissent entre eux par recombinaisons radicalaires pour donner naissance à des polymères de type RR ou ROOR ou à des monomères non radicalaires tels que des cétones, des éthers, des alcanes, des aldéhydes... (**Eq. 8**), ou lors de scissions radicalaires pour donner aussi des produits d'oxydation non radicalaires (aldéhydes, cétones, alcools, alcanes, ...) (**Eq. 9**).

- Réactions de terminaison :

Recombinaisons radicalaires



Scissions radicalaires



Ainsi le moteur de la réaction en chaîne est l'extraction d'atomes d'hydrogène répétée par les radicaux hydroxyl ROO^\bullet pour former des hydroperoxydes ainsi que des radicaux libres sur un autre acide gras. Le processus se poursuit indéfiniment, jusqu'à ce qu'aucune source d'hydrogène ne soit plus disponible ou que la chaîne soit interrompue. La réaction en chaîne des radicaux donne plusieurs caractéristiques uniques de l'oxydation des lipides (Schaich, 2005). L'oxydation des lipides est auto-catalytique; une fois débutée, la réaction s'auto-entretient et s'auto-accélère.

- Plus d'un hydroperoxyde ROOH est formé et plus d'une molécule lipidique est oxydée par un seul événement déclencheur.

- Une très faible quantité de pro-oxydant ou d'antioxydant entraîne de fortes modifications de rendement de réaction.

- Les réactions d'oxydation produisent de multiples intermédiaires réactionnels et produits d'oxydation qui changent avec les conditions et le temps d'oxydation.

Ces caractéristiques constituent des défis pour mesurer et contrôler l'oxydation des lipides, et expliquent en partie la raison pour laquelle l'oxydation des lipides est un problème majeur pour la stabilité au stockage des aliments.

Les taux d'oxydation dépendent de la nature des substrats. Les acides gras insaturés sont plus sensibles à l'oxydation que les acides gras saturés. Ceci est principalement dû au fait que l'auto-oxydation par l'oxygène triplet dans le cas des composés insaturés nécessite une énergie d'activation plus faible pour la formation des radicaux libres (Bradley et Min, 1992; David *et al.*, 2002; Di Giovacchino *et al.*, 2002).

8.3.3. Photo-oxydation

En présence de la lumière, l'oxydation photochimique peut se produire. Seule l'initiation de la réaction conduisant à la formation d'hydroperoxydes. Les réactions de propagation et de terminaison sont identiques à celles de l'auto-oxydation. Certains composés mineurs de l'huile (chlorophylles) peuvent être excités électroniquement après absorption de la lumière (dans de domaine du visible et/ou de l'Ultra Violet); ils jouent alors le rôle de photosensibilisateurs qui après excitation passent de l'état fondamental (Sens) à l'état excité triplet Sens* (**Eq. 10**) (Choe et Min, 2006).



Les photosensibilisateurs oxydent les acides gras par deux types de mécanismes (I et II), selon leur nature.

- Ceux décrivant le premier mécanisme (type I), par exemple la riboflavine (vitamine B2), agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, ils arrachent un atome d'hydrogène ou un électron d'un acide gras (RH) pour former des radicaux.

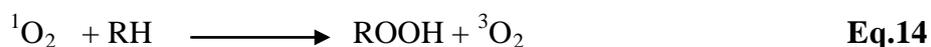
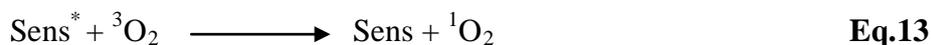


Le radical alkyle (R[•]) ainsi formé est ensuite capable de réagir avec l'oxygène triplet (³O₂) pour générer des hydroperoxydes (Eq. 12):



- Dans le mécanisme de type II, les photosensibilisateurs excités (Sens*) comme les chlorophylles et leurs produits de dégradation (phéophytines et phéophorbines), reviennent à leur état fondamental en activant l'oxygène atmosphérique qui passe alors de son état

fondamental dit « triplet » ($^3\text{O}_2$) à un état excité très réactif ($^1\text{O}_2$) (Eq. 13), état dans lequel l'oxygène a suffisamment d'énergie pour se fixer directement sur les acides gras insaturés pour engendrer des hydroperoxydes des acides gras (Eq. 14).



L'oxygène singulet formé par voie photochimique jouant le rôle d'initiateur, est plus réactif que l'oxygène triplet, ce qui rend la réaction de photo-oxydation plus rapide que l'auto-oxydation (Caponio *et al.*, 2005).

Les photosensibilisateurs accélèrent l'oxydation de l'huile (Fakourelis *et al.*, 1987; Gutierrez- Rosales *et al.*, 1992). Il a été démontré que des quantités importantes de chlorophylles compromettent la résistance à l'oxydation des huiles d'olives exposées à la lumière (Rahmani, 1989). Les phéophytines ont une plus grande activité photosensible que les chlorophylles mais plus faible que celles des phéophorbines (Endo *et al.*, 1984; Rahmani et Csallandy, 1998). Par ailleurs, bien que les chlorophylles soient de puissants pro-oxydants en présence de lumière en agissant comme photosensibilisateurs de $^1\text{O}_2$, elles réagissent comme des antioxydants à l'obscurité en donnant un hydrogène aux radicaux libres (Endo *et al.*, 1985; Gutierrez- Rosales *et al.*, 1992). En revanche, le β -carotène est un fort inhibiteur naturel de la photo-oxydation: il agit comme protecteur en désactivant l' $^1\text{O}_2$ produit par les chlorophylles, et filtrerait les longueurs d'onde actives des radiations lumineuses, protégeant ainsi l'huile contre l'activation de l'oxygène par la lumière (Rahmani et Saad, 1989). Cependant au-delà de 40 °C son activité est réduite car il se dégrade.

8.3.4. Thermo-oxydation

L'oxydation thermique des huiles alimentaires présente des mécanismes similaires à ceux de l'auto-oxydation mais plus intenses. Une série de réactions telles que l'hydrolyse, l'oxydation, la polymérisation, l'isomérisation et la cyclisation (≥ 180 °C) (Gertz *et al.*, 2000) peuvent se produire. Toutes ces réactions extrêmement complexes provoquent la formation de nombreux produits (Chiavaro *et al.*, 2010).

- **Les produits primaires:** Ce sont des produits très instables et très réactifs, ils se forment à partir de la réaction d'auto-oxydation, ce sont donc des radicaux peroxydes, des hydroperoxydes et des radicaux libres (Eymard, 2003).

- **Les produits secondaires:** La scission des produits primaires de l'oxydation conduit à la formation des composés secondaires souvent volatils tels que les aldéhydes et des composés non volatils y compris les composés polaires et non polaires (Eymard, 2003).

8.4. Facteurs influençant l'oxydation

L'oxydation des lipides, par auto-oxydation, photo-oxydation ou par oxydation enzymatique, est influencée par de multiples facteurs qui peuvent être d'origine intrinsèques et extrinsèques (Multon, 2002).

8.4.1. Facteurs intrinsèques

- **Composition chimique de l'huile**

La stabilité oxydative d'une huile est due, non seulement à sa grande proportion en acides gras monoinsaturés par rapport aux polyinsaturés, mais aussi à la présence de composés mineurs qui ont une activité anti-oxydante importante (Gomez-Alonso *et al.*, 2004). L'oxydation lipidique augmente avec le degré d'insaturation des acides gras (Holman et Elmer, 1947) et la présence d'acides gras libres aurait un effet pro-oxydant de part la présence du groupement carboxylique (Miyashita *et al.*, 1990; Kiritsakis et Tsipeli, 1992; Frega *et al.*, 1999).

La présence de métaux de transition comme le Fer (Fe) et le Cuivre (Cu) peut promouvoir l'auto-oxydation en catalysant la décomposition des hydroperoxydes (Angerosa et Di giacinto, 1993; Bendini *et al.*, 2006).

La stabilité oxydative d'une huile est directement liée à sa composition en phénols (Guillén et Cabo, 2002) qui jouent un rôle protecteurs en bloquant la phase de propagation de l'auto-oxydation des acides gras insaturés (Deiana *et al.*, 2002) en piégeant les radicaux libres et en chélatant les métaux (Chimi *et al.*, 1991). Parmi eux, l'hydroxytyrosol (3,4-dihydroxy-phenylethanol) s'est révélé être l'anti-oxydant le plus efficace (Papadopoulos et Boskou, 1991; Tsimidou *et al.*, 1992; Baldioli *et al.*, 1996). Le tyrosol et ses dérivés ont par contre une faible activité anti-oxydante, voire nulle, du fait de l'absence de groupement donneur d'électrons (Mateos, 2002; Carrasco-Pancorbo *et al.*, 2005). Les ortho-diphénols tels que l'acide caféique sont oxydés en quinones par les ions ferriques et deviennent inefficaces vis-à-vis de l'inhibition des radicaux libres (Keceli et Gordon, 2002). Chimi *et al.* (1990) ont établi

le classement suivant quant au pouvoir anti-oxydant des huiles d'olives: hydroxytyrosol > acide caféique > tyrosol.

D'autres composés mineurs jouent aussi un rôle protecteur non négligeable dans la stabilité des huiles d'olive. La teneur initiale en α -tocophérol de l'huile influence beaucoup sa résistance à l'oxydation et est étroitement corrélée avec la quantité de diènes conjugués durant le stockage (Deiana *et al.*, 2002). Sa concentration diminue si l'oxygène est régulièrement renouvelé (Psomiadou *et al.*, 2000) et décroît plus vite lorsque l'huile est stockée à la lumière (Caponio *et al.*, 2005). L' α -tocophérol possède un effet inhibiteur de l'auto- et de la photo-oxydation. À l'obscurité, il joue le rôle de donneur d'électrons en interrompant la réaction en chaîne du processus radicalaire alors qu'il devient accepteur d'électrons en présence de lumière en désactivant l' $^1\text{O}_2$ (Morello *et al.*, 2004). Mais l'ajout de ce constituant dans des échantillons d'huile exposés à la lumière n'a que très peu d'impact selon Kiritsakis et Dugan, (1985) ou n'est efficace qu'à très faibles quantités ajoutées selon Blekas *et al.* (1995). En effet, à partir d'un certain seuil, il devient pro-oxydant (Blekas *et al.*, 1995; Perrin, 1992; Satue *et al.*, 1995; Deiana *et al.*, 2002). Par ailleurs, l' α -tocophérol montre un effet synergique avec un des principaux caroténoïdes, le β -carotène (Rahmani et Saad, 1989; Perrin, 1992; Palozza et Krinsky, 1992) qui protège aussi contre l'oxydation de l'huile (Rahmani et Saad, 1989; Rahmani et Csallandy, 1998; Psomiadou et Tsimidou, 1998) en étant lui-même protégé par l' α -tocophérol. Cependant, 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 photo-sensibilisateurs transformant, sous l'effet de la lumière, l'oxygène atmosphérique en $^1\text{O}_2$ 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'en présence de la lumière (Ben Tekaya et Hssouna, 2007). Caponio *et al.* (2005) 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.

En résumé, l'oxydation lipidique conduit d'abord à la formation des peroxydes et des hydroperoxydes, produits instables qui vont évoluer en des produits secondaires d'oxydation comme des hydrocarbures, des alcools, des aldéhydes et des cétones qui peuvent également

être oxydés en acides carboxyliques (Gertz *et al.*, 2000). L'huile oxydée aura un intérêt nutritif moindre qu'une huile bien conservée (Frankel, 1984). Ainsi, pour maintenir la composition lipidique et la teneur en composés phénoliques et volatils responsables des propriétés organoleptiques et nutritionnelles, très appréciées dans l'huile d'olive, il est indispensable de contrôler tous les facteurs qui provoquent cette oxydation lipidique, favorisée par la lumière (photo-oxydation), la chaleur (oxydation thermique), la concentration en oxygène (auto-oxydation), l'humidité, la présence de métaux à l'état de traces ainsi que les lipoxydases (Kanneret Osenthal, 1992).

8.4.2. Facteurs extrinsèques

➤ **Oxygène**

La quantité d'oxygène dissoute dans l'huile, qui ne peut être retirée, conditionne l'intensité de l'oxydation puisque la vitesse de la réaction d'oxydation est directement liée à la pression partielle de l'oxygène (Gutierrez *et al.*, 1988). Ainsi la perméabilité en oxygène de l'emballage et le volume libre d'air au dessus de la surface de l'huile (espace de tête) conditionnent de fait la bonne conservation de l'huile au cours de son stockage (Gutierrez *et al.*, 1988; Mendez et Flaqué, 2007; Pristouri *et al.*, 2010).

L'emballage le plus efficace pour la conservation de l'huile se révèle être le verre, l'acier inox ou l'aluminium car ils constituent une barrière à l'oxygène bien que le verre ne protège pas l'huile des radiations lumineuses lorsqu'il est incolore. Quant aux emballages plastiques (Pristouri, *et al.*, 2010), ils 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. Pristouri *et al.* (2010) proposent alors l'utilisation du PET enrobé de résine contenant des pièges à oxygène comme alternative au verre traditionnel. D'après les travaux de Mendez et Flaqué, (2007), l'emballage Tétra-brik serait un bon compromis entre les récipients en carton plastifiés et ceux en étain qui sont les contenants les moins utilisés mais qui semblent les plus efficaces pour la conservation de l'huile durant au moins six mois.

Pour réduire le risque d'oxydation durant le stockage, l'espace de tête de l'emballage peut être aussi rempli par un gaz inerte (azote: N₂). Di Giovacchino *et al.* (2002) 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 modifier ses qualités organoleptiques. Pour éviter ce problème d'espace de tête, Pistouri *et al.* (2010) conseillent de transvaser l'huile dans un récipient adéquat ne laissant pratiquement aucun volume d'air au-dessus de la surface de l'huile. D'autres auteurs comme Garcia *et al.* (2001) soulignent l'importance d'introduire de l'azote à la production en ligne de l'huile d'olive.

➤ **Chaleur**

La chaleur est connue comme le facteur influençant le plus la réaction d'auto-oxydation. Gómez-Alonso *et al.* (2004) 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'anti-oxydants est placée à l'obscurité. L'effet de la chaleur est complexe car 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 (Frankel, 1998; Velasco et Dobargane, 2002). Mais la dépendance vis-à-vis de la chaleur est difficile à prévoir car un grand nombre de paramètres entrent en jeu.

➤ **Lumière**

L'exposition à la lumière initie l'auto-oxydation (Gutiérrez-Rosales *et al.*, 1988) et entraîne une photo-oxydation de l'huile (Jadhav *et al.*, 1996). Les huiles exposées à la lumière, même sous un faible rayonnement UV, sont moins stables que celles conservées à l'obscurité. Caponio *et al.* (2005), Luna *et al.* (2006) et Kiritsakis et Dugan, (1985) montrent 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.

*Chapitre 2: Les huiles essentielles:
application en agro- alimentaire*

1. Introduction

Les plantes supérieures synthétisent une grande diversité de métabolites secondaires pour leur défense et leur survie. Le nombre de ces métabolites dépasse actuellement 30 000 substances identifiées à l'échelle mondiale (Marouf et Tremblin, 2009). Ces métabolites secondaires sont : les pigments, les polymères, les tanins, les flavonoïdes, les vitamines, les hormones et les huiles essentielles (HEs). Ces dernières sont présentes chez les végétaux dits «plantes aromatiques» (Fragrance particulière) car elles synthétisent des essences, grâce à la présence de structures histologiques sécrétrices (Guilhem, 2006).

2. Historique des huiles essentielles

De tous temps, en tous lieux, notamment dans les pays tropicaux, les plantes aromatiques ont joué des rôles primordiaux. D'abord utilisées à l'état brut, puis infusées, digérées, sous forme d'onguent, de parfum, d'extraits alcooliques, elles ont toujours eu une place prépondérante dans la culture de nombreux peuples à travers les âges, que ce soit sur le plan religieux ou médical.

L'utilisation des HEs remonte aux plus anciennes civilisations: en Orient et Moyen Orient et par la suite en Afrique du nord et en Europe. Les hydrolats étaient utilisés en Inde il y a plus de 7000 ans. Entre 3000 et 2000 ans avant notre ère, les Égyptiens faisaient un usage important des plantes aromatiques et aussi des plantes pour soigner les malades.

L'utilisation des HEs était pratique courante chez les Grecs. Les premiers à utiliser l'hydrodistillation semblent être les Perses, 1000 ans avant notre ère.

Les Arabes ont apporté une amélioration significative dans la chimie et dans la distillation des huiles. Vers la fin du XVI^{ème} et du XVII^{ème} siècle, plus de 100 huiles essentielles sont utilisées.

Dans l'histoire moderne, les vertus thérapeutiques des HEs occupent une place de plus en plus importante. En 1928 le chimiste français René-Maurice Gattefosse a utilisé le terme aromathérapie pour décrire les propriétés curatives des HEs lorsqu'il a découvert que la lavande (*Lavandula officinalis: L. officinalis*) a guéri une brûlure à sa main.

En 1964 le docteur français Jean Valunet a connu du succès en traitant avec des HEs des patients en médecine et en psychiatrie (Franchomme et Penoel, 1990).

Actuellement, l'usage des HEs est très large dans le domaine de la pharmacologie (Champy, 2014; Millet, 2014, Baumann, 2015), la Cosmétique (Marouf et Tremblin, 2009), l'agro-alimentaire (Djenane *et al.*, 2016; Ben Miri *et al.*, 2018) et récemment l'agro-phytosanitaire et leurs propriétés thérapeutiques font l'objet de nombreuses recherches scientifiques (Elhourri *et al.*, 2014; Amzouar *et al.*, 2016).

3. Définition

L'obtention des HEs se fait soit par entraînement à la vapeur d'eau dans une opération de distillation, soit par distillation sèche, soit par expression à froid (zestes). Dans ce dernier cas, une certaine ambiguïté existe sur la dénomination d'huile essentielle (HE). Selon l'AFNOR, il faut utiliser le terme d'essence alors que la Pharmacopée française et la Pharmacopée européenne utilisent le terme d'HE. Le terme HE a été retenu par les spécialistes en pharmacognosie.

Il existe plusieurs expressions pour définir l'HE. La norme française, AFNOR NF T 75-006, donne comme définition « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation «sèche » l'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» (AFNOR, 2006).

Connues aussi sous le nom d'essences ou d'huiles éthérées, les HEs désignent un ensemble de substances volatiles avec une odeur tout à fait caractéristique que l'on extrait de certains végétaux, dits aromatiques, soit par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche, par expression, par incision de la plante, ou bien parfois par séparation à l'aide d'un solvant, ou encore par adsorption sur des graisses (enflourage) (Marouf et Tremblin, 2009).

Les HEs sont aussi définies comme étant des mélanges lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques, les HEs sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (Teuscher *et al.*, 2005).

4. Répartition botanique et localisation des HEs dans le végétal

Les HEs sont présentes en quantités appréciables chez environ 2000 espèces de plantes supérieures, réparties dans 60 familles. Le **Tableau 3** en donne quelques exemples.

Ces espèces présentent généralement des structures histologiques spécialisées responsables de la production des HEs et qui sont mises en évidence par l'observation

microscopique des coupes histologiques. Elles comportent souvent des cellules sécrétrices qui peuvent être isolées (les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes...) ou regroupées en organes sécréteurs : poils (ou trichomes), poches et canaux (**Figure 5**).

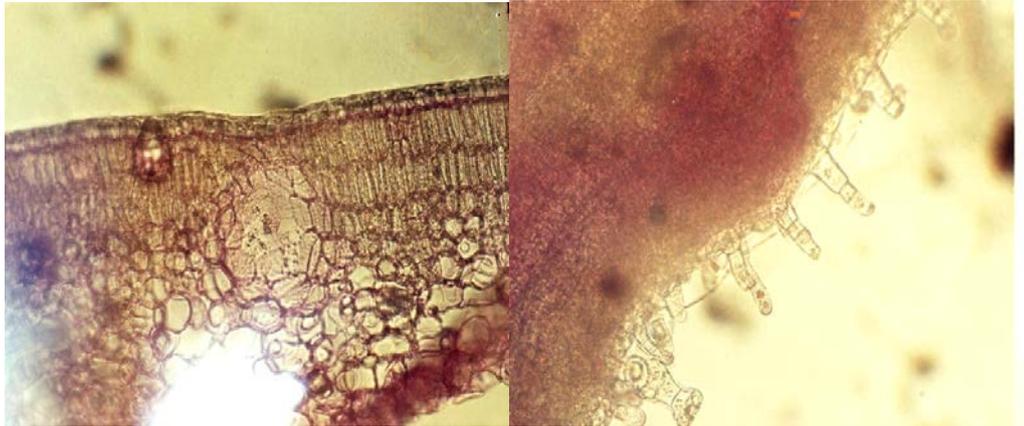


Figure 5: Structures histologiques sécrétrices de l'huile essentielle

Les HEs se trouvent en général dans les fleurs et les feuilles, mais peuvent se trouver presque dans tous les organes végétaux, suivant les familles botaniques (**Tableau 3**): les fruits, le bois, l'écorce, les racines ou les rhizomes, et les graines. Toutefois, leur composition varie dans une plante suivant l'organe utilisé. Dans le cas le plus simple, les HEs se forment dans le cytosol des cellules ou elles vont, soit se rassembler en gouttelettes lipophiles, soit s'accumuler dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du parenchyme de nombreux pétales, de même que dans les cellules oléifères.

Les végétaux sont plus riches en huiles essentielles par temps chaud; ces huiles traversent alors la paroi cellulaire et la cuticule et sont rejetées vers l'extérieur sous forme de vapeur.

Mais, souvent des cellules glandulaires ou trichomes apparaissent qui éliminent activement les HEs dans des compartiments de stockage intercellulaires, soit les rejettent directement vers l'extérieur, ou à la surface du végétal (Bruneton, 1993; Marouf et Tremblin, 2009).

Tableau 3: Principales familles de plantes contenant de l'HE (Marouf et Tremblin, 2009)

Familles	Principales espèces	Organes utilisés
Lamiaceae	Basilic (<i>Ocimum basilicum</i>); Calment (<i>Clamintha spp.</i>). Lavande (<i>Lavandula spp.</i>); thym (<i>Thymus vulgaris</i>); Sarriette (<i>Saturija montana</i>); Sauge (<i>Salvia spp.</i>). Marjolaine (<i>Origanum marjorana</i>); Menthe poivrée (<i>Mentha piperata</i>).	Feuilles
Apiaceae	Cumin (<i>Cuminum cyminum</i>); Carvi (<i>Carum Carvi</i>); Anis vert (<i>Pimpinella anisum</i>); Fenouil (<i>Foeniculum spp.</i>); Aneth (<i>Anethum graveolens</i>); Coriandre (<i>Coriandrum sativum</i>); Persil (<i>Petroselinum sativum</i>).	Graines
Anacardiaceae	Pistachier lentisque (<i>Pistachia lentiscus</i>).	Feuilles, fruits
Myrtaceae	Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>); Myrte (<i>Myrtus communis</i>); Cajepout (<i>Melaleuc cajuputi</i>); Niaouli (<i>Melaleuca quinquenervia</i>); Giroflier (<i>Syzygium aromaticum</i>)	Feuilles Fruits (clous)
Liliaceae	Oignon (<i>Allium cepa</i>).	bulbes et tiges fraîches
Myristicaceae	Muscadier (<i>Myristica fragrans</i>).	Noix
Conifères	Pin(<i>Pinus spp.</i>); Cyprès (<i>cupressus sempervirens</i>); Epicéas(<i>Picea spp.</i>); Sapin baumier (<i>Abies balsamea</i>). Genévrier (<i>Juniperus communis</i>). Cade (<i>Juniperus oxycedrus</i>); Cedre (<i>Cedrus spp.</i>).	Rameaux feuillés Rameaux à baiesbois.
Agrumes	Citronnier (<i>Citrus lemon</i>).bergamotier (<i>citrus aurantium ssp. Bergamia</i>); Mandarinier (<i>Citrus nobilis var Reticula</i>); Oranger doux (<i>Citrus sinensis</i>); Orange amer (<i>Citrus aurantium ssp aurantium</i>); Pamplemoussier (<i>Citrus paradisi</i>).	Péricarpes
Zingiberaceae	Gingembre (<i>Zingiber officinalis</i>); Curcuma (<i>Curcuma spp.</i>).	Rhizome
Oleaceae	Jasmin (<i>Jasminum officinale</i>)	Fleurs
Lauraceae	Cannalier (<i>cinnamomun spp.</i>). Sassafras (<i>Sassafras albidum</i>). Laurier (<i>Laurus nobilis</i>)	Ecorce du tronc Ecorce des racines Feuilles
Asteraceae	Très nombreuses espèces dont: Absinthe (<i>Artemisia absinthum</i>); Armoies (<i>Artemisia vulgaris</i>). Estragon (<i>Artemisia dracunculus</i>); Matricaire (<i>Chamomilla recutia</i>).	Tiges feuillés

5. Composition chimique des HEs

La composition chimique d'une HE est complexe, on y retrouve couramment plus d'une centaine de composés, parmi lesquels nombre de familles chimiques sont représentées. (Franchomme *et al.*, 2001; Morel, 2008; Lawrence, 2010).

5.1. Terpènes

Ce sont des molécules composées d'un nombre variable d'unités d'isoprène, comptant les monoterpènes, les sesquiterpènes et les diterpènes. Ils ont généralement des effets thérapeutiques assez faibles, mais ils viennent nuancer ou compléter les actions des composants plus actifs. Ils présentent généralement une toxicité cutanée modérée : irritation, rougeur et sensation de chaleur. La formule chimique des terpènes répondant dans la plupart de cas à la forme générale $(C_5H_8)_n$

5.2. Alcools

Les terpinols ($C_{10}H_{18}O$) se forment lorsque des unités composées d'un atome d'hydrogène et d'un atome d'oxygène (hydroxydes) se rattachent à des atomes de carbone. Les alcools ont généralement des propriétés antiseptiques, antivirales. Ils présentent généralement peu ou pas de toxicité (le menthol: $C_{10}H_{20}O_2$ faisant exception à cette règle).

5.3. Phénols

Les phénols (C_6H_5OH) sont des alcools dans lesquels le groupement hydroxyle est fixé à un anneau d'atomes de carbone. Ce sont de puissants antibiotiques, à large spectre d'action, ainsi que de bons virucides et antifongiques. Les HEs qui en contiennent en forte proportion doivent être utilisées avec parcimonie à cause de leurs toxicités. Fortement irritants pour la peau et les muqueuses, ils sont qualifiés de dermocaustiques. Avalés, ils provoquent des douleurs gastriques et leur emploi à court terme expose à une toxicité hépatique.

5.4. Oxydes

5.4.1. Ethers oxydes

Les ethers oxydes ($C_4H_{10}O$) sont issus des phénols méthyl-éthers, ils en possèdent le caractère positivant: ils sont stimulants des glandes exocrines, antispasmodiques et antalgiques. Ils présentent diverses toxicités: neurologique (l'apiole provoque des symptômes similaires à ceux provoqués par l'alcool, lamyristicine est hallucinogène, le safrole dopant), ils sont abortifs (myristicine et apiole), et le safrole est mutagène chez le rat (hépatocarcinome).

5.4.2. Oxydes terpéniques

Les oxydes terpéniques ($C_{10}H_{18}O$) sont fréquemment rencontrés dans de nombreuses HEs, ce sont des molécules de la sphère respiratoire: décongestionnantes des muqueuses, expectorants, mucolytiques, anti-infectieux.

5.5. Aldéhydes

Les aldéhydes ($C_nH_{2n}O_2$) sont formés par l'oxydation des alcools, ce sont des molécules très volatiles qui dégagent souvent une odeur puissante (le citronellal est un bon répulsif). Elles ont des propriétés calmantes et anti-inflammatoires. Certaines sont antivirales (géraniol). Leur toxicité entraîne une légère agressivité de la peau et des muqueuses (attention lors de fumigation ou de diffusion). Toutefois cette toxicité est en partie neutralisée par les terpènes contenus dans les HEs à aldéhydes.

5.6. Esters

Les esters ($C_nH_{2n}O_2$) sont issus de la réaction d'un acide carboxylique avec un alcool. Ils sont spasmolytiques, anti-convulsivants, anti-inflammatoires. Ils ne manifestent pas de toxicité aux doses thérapeutiques.

5.7. Lactones

Les lactones ($C_{15}H_{18}O_3$) sont des molécules comportant à la fois une fonction oxyde et cétoxy. Elles sont relativement fragiles, et peu résistantes à la distillation, c'est pourquoi ce groupe est malreprésenté parmi les HEs. Elles sont mucolytiques et expectorantes, et présentent des propriétés antibactériennes et parasitocides (l' α -santonine est ascaricide et nématocide). Mais, comme pour les cétones, leur toxicité neurologique en limite l'usage per os, et elles provoquent en plus des allergies cutanées. La seule voie d'administration envisageable reste donc l'inhalation.

5.8. Coumarines

Fragiles, les coumarines ($C_{12}H_8O_4$) ne se retrouvent dans les HEs que de quelques familles botaniques, citons: les Apiaceae, les zestes des Rutaceae, les Asteraceae. Ce sont de puissantes sédatives nerveuses, anticonvulsivantes, elles sont hypotensives et anticoagulantes. Les furocoumarines et les pyranocoumarines sont photosensibilisantes, quelle que soit la voie d'administration

5.9. Composés soufrés

Les composés soufrés ($C_6H_{10}S_2$) relativement rares dans les HEs, ces composés sont l'apanage d'un petit nombre de famille botanique: on les rencontre en quantité notable dans quelques Apiaceae (genre *Ferula*), mais ils sont surtout présents dans les plantes de la famille des Liliaceae (*Allium sativum* et *Allium cepa*) ainsi que chez les Brassicaceae (*Brassica nigra*, *Brassica juncea*). Ce sont en général des anti-infectieux efficaces, mais ils sont fortement dermocaustiques, et leur emploi est délicat. Ex.: l'allylpropyl disulfide d'*Allium cepa* (ail).

6. Modes d'obtention des HEs

Les matières premières nécessaires à l'obtention des HEs sont d'origine végétale. Les HEs sont obtenues de diverses manières. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation.

6.1. HEs obtenues par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, les organes végétaux (fleurs, feuilles, fruits, racines, tiges, parties aériennes ou plantes entières) sont placés dans un alambic, qui possède à sa base une grille perforée au dessous de laquelle on introduit de la vapeur d'eau fournie par une chaudière. La vapeur d'eau traverse le matériel végétal, éclate les cellules et entraîne les molécules volatiles. En traversant un tube réfrigérant, la vapeur d'eau saturée en composés volatilisés condense en un mélange hétérogène, d'HE et d'eau florale, récupéré dans un vase de décantation (appelé séparateur ou essencier) par simple différence de densité. En fonction de la densité de l'huile extraite par rapport à l'eau florale, le mode opératoire sera différent: densité plus faible, c'est la partie surnageante qui est recueillie directement; densité plus forte, l'huile est recueillie en présence de xylène qui la dissout et qui forme avec elle un mélange plus léger que l'eau.

L'absence de contact direct entre le matériel végétal et l'eau durant l'ébullition de l'eau évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. Cette méthode est pratiquée sur de nombreuses plantes (lavande, lavandin, sauge sclarée, hysope, romarin, menthe poivrée, basilic etc...) et également sur des résines et des gommés (encens, myrrhe, opoponax, styrax, costus, benjoin, ciste). Le rendement de ce procédé est très variable selon les plantes (Maroufet et Tremblin, 2009).

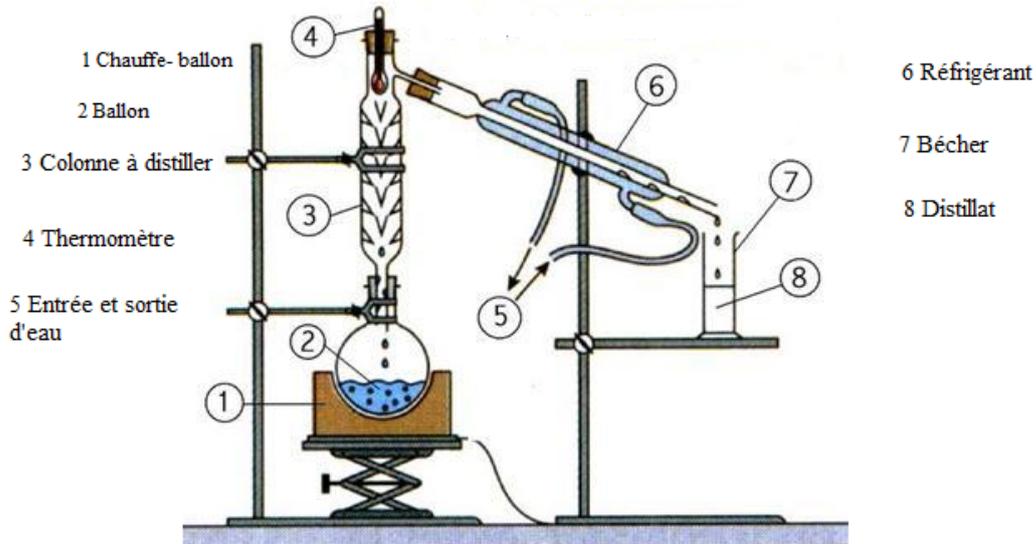


Figure 6: Schéma d'entraînement à la vapeur d'eau

6.2. Hydrodistillation

Cette méthode consiste à immerger le matériel végétal dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à l'ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans les cellules végétales. Le mélange volatil est ensuite refroidi, condensé puis séparé en une phase aqueuse et une phase organique qui constitue l'HE. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. A l'échelle du laboratoire, le système basé sur ce principe qui généralement utilisé pour l'extraction des HEs en accord avec la pharmacopée européenne est l'appareil de Clevenger (Marouf et Tremblin, 2009).

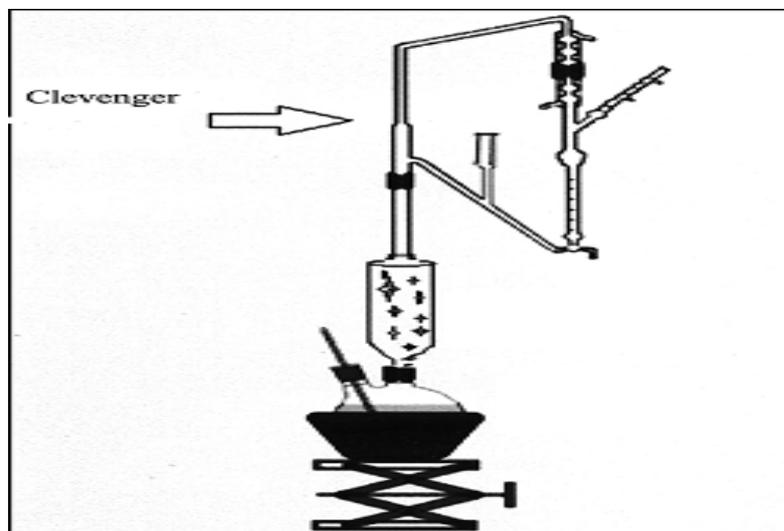


Figure 7: Appareil de Clevenger

6.3. HEs obtenues par expression

Les HEs résultantes de l'entraînement à la vapeur d'eau sont obtenues pratiquement à partir de toutes les parties de plantes, l'expression est réservée au péricarpe frais des fruits des agrumes, cette opération consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (abrasion, compression, incision, perforation) les poches qui sont situées à la superficie de l'écorce de ces fruits et qui renferment l'HE. L'essence libérée est ensuite recueillie par un courant d'eau. L'essentiel de la production mondiale provient de la Calabre et la Sicile (bergamote, orange, bigarade) et le Brésil qui produisent aussi des quantités considérables d'HEs exprimées de *Citrus* (orange douce, pamplemousse, tangerine, limette, citron) (Marouf et Tremblin, 2009).

6.4. Extraction par solvants

Cette technique, largement utilisée actuellement, consiste à faire tremper les plantes dans un solvant organique volatil à chaud, soit pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé, soit en vue de rendements plus élevés. En fin d'opération, le solvant est éliminé par distillation sous pression réduite. On obtient alors une substance appelée essence concrète (ou plus simplement concrète) en raison de son aspect solide. Il s'agit d'un mélange, généralement homogène, de cires inodores et de constituants odorants. Des lavages répétés de ces concrètes avec l'alcool éthylique permet d'éliminer les cires et les autres matières inertes. L'élimination de l'alcool par distillation conduit aux essences absolues. Ce sont ces dernières qui sont utilisées dans la parfumerie. Les concrètes et les absolues ne sont pas utilisées en thérapie.

Les essences concrètes sont obtenues à partir de fleurs de certaines plantes (jasmin, rose, oranger, narcisse, tubéreuse, jonquille, mimosa, genêt, réséda, chèvrefeuille, etc...) ou des parties aériennes de la plante (lavande, lavandin, sauge sclarée, verveine).

Dans le cas de certains produits végétaux secs comme les lichens, les gommes, des résines, etc..., l'extraction est faite à l'aide de solvants à froid. On obtient ainsi des produits appelés résinoïdes. Ces derniers, bien qu'intervenant dans la préparation de la composition pour extraits, sont surtout utilisés dans la réalisation de composition destinées à parfumer les savons.

Bien que, par rapport à la distillation, les rendements soient généralement plus importants, les solvants organiques utilisés posent des problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi des problèmes de règlementaires liés à la protection de l'environnement qu'il convient de prendre en compte. Des analyses par les méthodes modernes ont révélé que les proportions

de solvants résiduaire dans les concrètes se situent entre 2 et 4%. Les solvants les plus utilisés sont le cyclohexane, l'alcool éthylique, des carbures aliphatique (butane, pentane), le propylène glycol et surtout l'hexane.

Au cours des dernières années, l'extraction assistée par ultrasons et par micro-ondes s'est développée. Toutefois, aucun développement industriel n'a encore vu le jour bien que ces techniques aient fait l'objet de plusieurs dépôts de brevets (Perino *et al.*, 2017; Turk *et al.*, 2018).

6.5. Technique d'extraction par CO₂ supercritique

L'extraction par CO₂ critique est la technologie alternative à l'extraction par solvant organique pour les composés naturels, notamment les plus fragiles. Elle nécessite d'utiliser des appareils résistants à des pressions pouvant aller jusqu'à 400 fois la pression atmosphérique. Cette technologie est basée sur le pouvoir solvant du CO₂ qui est modulable à volonté, dans certaines limites, selon les conditions de pression et de température qu'on lui applique. A l'état supercritique (plus de 74 bars et de 31 °C), le CO₂ possède des propriétés très particulières. Le fluide obtenu est caractérisé par une grande diffusivité (de l'ordre de celle des gaz), ce qui lui confère une bonne aptitude à la dissolution, et une densité élevée qui le dote d'une capacité de transport et d'extraction importante (Bachelot *et al.*, 2006; Haderbache, 2011).

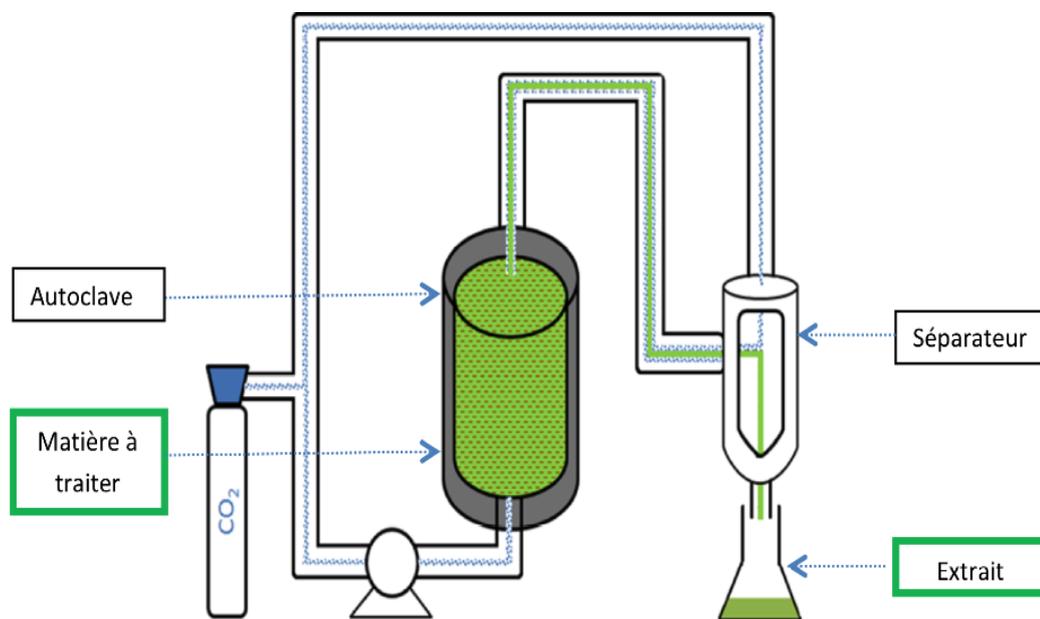


Figure 8: Schéma d'extraction par CO₂ supercritique

7. Analyse qualitative des HEs

Le double objectif de l'identification/quantification consiste à déterminer la composition chimique de chaque HE par différentes méthodes analytiques spectroscopiques et/ou chromatographiques. L'étude de la composition chimique d'un mélange naturel complexe peut être réalisée selon différentes techniques.

7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG est l'outil analytique de base pour déterminer les composés principaux d'une HE (Stewart, 2005). Elle permet l'analyse de mélanges qui peuvent être très complexes, de nature et de volatilité très variées (Arpino *et al.*, 1995).

7.2. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une méthode d'analyse à la fois quantitative et qualitative. En effet, après ionisation, elle donne des renseignements sur la présence et la quantité relative des éléments (molécules, atomes, radicaux...) présents dans l'échantillon à analyser. Cette technique permet de séparer les différents ions et d'évaluer leur abondance respective (Holstein *et al.*, 1999).

7.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

La Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées de la chimie analytique. Elle permet de retrouver la quasi-totalité des constituants déjà recensés ainsi que d'autres à l'état de trace (Holstein *et al.*, 1999). Cette technique est réservée à l'analyse de molécules aisément vaporisables et thermiquement stables, c'est à dire, en première approximation, de composés de poids moléculaire faible à moyen (inférieur à 700 Da). Ces limites admises, la GC/MS est un formidable outil d'analyse. La diversité des modes d'injection et des colonnes capillaires (géométrie, nature de la phase stationnaire) autorise la séparation de mélanges extrêmement complexes (huiles essentielles, métabolites, hydrocarbures...). Contrairement aux autres détecteurs, le spectromètre de masse fournit des informations structurales sur les analytes étudiés et peut permettre leur identification instantanée si ceux-ci sont répertoriés dans des bibliothèques de spectres. Le spectromètre de masse permet également de quantifier les analytes, même co-élués, à des concentrations inférieures au ng/L. C'est sa capacité à détecter spécifiquement une ou plusieurs molécules au sein d'un échantillon très complexe qui en fait un détecteur idéal pour l'analyse de traces en toxicologie, pharmacologie et médecine, environnement, pétrochimie, synthèse organique (Bouchonnet et Libong, 2004).

8. Conservation des HEs

Les HEs de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusqu'à cinq ans. Seules les essences de *Citrus* peuvent se garder un peu moins longtemps (~ trois ans) (Raynaud, 2006).

Les HEs sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à température ambiante.

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des HEs (norme AFNOR NF T75-001,1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HEs (norme NF 75-002, 1996) (Raynaud, 2006).

9. Application des HEs en Agro-Alimentaire

Les HEs comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes grâce à leurs nombreuses applications rapportées dans plusieurs travaux de recherche scientifiques (Brunton, 1999 ; Ootani *et al.*, 2013; Firenzuoli *et al.*, 2014; Bagher Hashemi *et al.*, 2017; Ju *et al.*, 2018). Les activités biologiques sont en relation avec leur composition chimique et les effets synergiques possibles entre ses composants (Tepe *et al.*, 2005; Ozen *et al.*, 2011; Djenane *et al.*, 2011).

La peroxydation des lipides produite au cours du processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action de radicaux libres conduit à des modifications de goût, d'odeur, de couleur et par conséquent la perte de la qualité des aliments (CHOE *et al.*, 2009). Des études ont montré que l'incorporation des HEs dans des matrices alimentaires contribue à leurs préservations des phénomènes d'altérations soit oxydatives au bien microbiennes (Djenane, 2015; Ozogul *et al.*, 2015; Florentine *et al.*, 2016).

Les chercheurs ont travaillé sur l'effet ant-ioxydant des HEs extraites des plantes. Ils ont rapporté que certaines huiles essentielles peuvent jouer un rôle essentiel pour limiter l'oxydation des lipides, en particulier dans la viande et dans autres produits gras (Djenane *et al.*, 2012; Djenane *et al.*, 2013). Cet effet peut toutefois être différent selon le type d'aliment, selon les conditions d'élevage des animaux mais également selon les conditions de stockage.

Au cours d'une étude menée sur l'effet antioxydant des HEs de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et d'*Origanum vulgare* sur la viande hachée, Ünal *et al.* (2014) ont signalé que l'ajout des ces HEs a exercé un effet antioxydant en réduisant le taux d'oxydation impliquant une augmentation de la durée de vie de la viande hachée. L'HE d'origan est plus efficace que celle de romarin et de celle de la sauge. Oussallah *et al.* (2004) ont indiqué que les films à base de l'HE d'origan stabilisent l'oxydation des lipides dans les échantillons de muscle de bœuf, tandis que les films à base d'HE de piment (*Capsicum annum*) présentent une forte activité antioxydante. Quant à Estêvez *et al.* (2006) et Estêvez *et al.* (2007) en travaillant sur la stabilité oxydative de pâtés de foie ont observé que les HEs de *Rosmarinus officinalis*, et de *Salvia officinalis* inhibent la dégradation oxydative du produit meilleur que le butylhydroxytoluène (BHT). L'ajout de L'HE de *Thymus vulgaris*, d'*Origanum vulgare* et de *Pistacia lentiscus* a réduit l'oxydation des lipides et des protéines de la viande de poulet crue et cuite (Dashti *et al.*, 2015; Al-Hijazeen *et al.*, 2016; Azimi *et al.*, 2017). D'après Ozkan *et al.* (2007) l'utilisation de l'HE de la sarriette (*S. montana*) réduit le taux d'oxydation du beurre conservé à + 4 et + 20 °C en termes de formation de peroxyde.

Des travaux ont été effectués sur l'effet antioxydant des HEs sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive. Miguel *et al.* (2014) et Chang *et al.* (2017) ont noté que les HEs de fenouil (*Foeniculum vulgare*) et de thym (*Thymus vulgaris*) ont un effet sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive et de tournesol au cours de stockage. Saavedra *et al.* (2015) ont montré que l'HE de *Thymbra capitata* protège l'huile d'olive de l'oxydation.

La présence des pathogènes dans les denrées alimentaires est responsable de nombreuses maladies qui peuvent être mortelles (Burt, 2004; Djenane *et al.*, 2012a). Au cours des dernières années, l'industrie agroalimentaire s'intéresse aux extraits naturels des plantes et principalement aux HEs comme alternatives aux additifs artificiels, d'une part, pour conserver les aliments et diminuer leur altération et d'autre part pour prévenir et contrôler la croissance des micro-organismes (Tajkarimi *et al.*, 2010; Djenane *et al.*, 2012b). Le **Tableau 4** montre quelques exemples d'application des HEs dans divers types d'aliments (la viande, les fruits et les fromages). Bien que les HEs exercent une bonne activité *in vitro*, leur application dans les aliments nécessite une concentration plus élevée pour avoir la même efficacité (Djenane *et al.*, 2012c). En outre, les HEs agissent mieux dans les aliments moins lipidiques et moins protéiques. En fait, elles se dissolvent dans la phase lipidique des aliments, les rendant relativement moins disponibles d'accéder au niveau de la bactérie. Par contre, les glucides n'ont pas un effet protecteur des bactéries contre les HEs comme les lipides et les protéines.

L'activité antimicrobienne des HES dépend aussi d'autres facteurs tels que le pH, les teneurs d'eau et du sel présents dans des aliments (Burt, 2004). Le **Tableau 4** montre aussi que l'incorporation de l'HE soit directement dans les aliments ou par les films destinés à la conservation, aide à contrôler la flore microbienne et à préserver les aliments au delà de leur durée normale de stockage (Djenane *et al.*, 2011).

Tableau 4: Emploi des huiles essentielles en tant qu'antimicrobiens en agroalimentaire

Aliment	Huile essentielle	Effets observés	Références
Saucisse de Toscane	Le laurier (<i>Laurus nobilis</i>)	Cette HE est capable de réduire la population des coliformes totaux et de prolonger la durée de vie de saucisse.	Da Silveira <i>et al.</i> (2014)
Viande hachée	Menthe (<i>Mentha piperita</i>) - La lavande (<i>Lavandula angustifolia</i>)	Ces HES constituent des inhibiteurs d' <i>E. coli</i> O157:H7 and <i>S. aureus</i> inoculés dans la viande hachée durant le stockage.	Djanene <i>et al.</i> (2012)
Ouf liquide entier	- <i>L'eucalyptus</i> (<i>Eucalyptus globulus</i>) - La lavande (<i>Lavandula angustifolia</i>) - Sarriette (<i>Satureja hortensis</i>)	Ces HES constituent des inhibiteurs de <i>Salmonella enteritidis</i> inoculé dans l'œuf liquid entier pendant un stockage abusif.	Djenane <i>et al.</i> (2013)
Jus de fruits (Orange et poire)	Thé (<i>Camellia sinensis</i>)	Les composés terpéniques de HE ont montré une forte activité antimicrobienne sans affecter les propriétés organoleptiques du jus.	Donsi <i>et al.</i> (2011)
Jambon cuit	Origon (<i>Oregano</i>)	Le thymol et le carvacrol de cette HE constituent des inhibiteurs de <i>Brochotrix thermosphacta</i> inoculés dans le jambon cuit	Llana-Ruiz-Cabello <i>et al.</i> (2018)
Viande de bœuf	Basilic (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	Cette HE diminue la prolifération de <i>S. aureus</i>	Sharafati-Chaleshtori <i>et al.</i> (2015)
Fromage	<i>Boucage saxifrage</i> (<i>Pimpinella saxifraga</i>)	Cette HE a montré une bonne activité antibactérienne contre <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853), <i>Salmonella Typhimurium</i> (ATCC 19430), <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19117), <i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 4698) and <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778) sans affecter les propriétés organoleptiques du fromage	Ksouda <i>et al.</i> (2019)
Jus d'orange	Cannelle (<i>Cinnamon</i>)	Cette HE constitue un inhibiteur de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> inoculé dans le jus d'orange naturel	Sanchez-Rubio <i>et al.</i> (2018)
Burfi	Clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>) et feuille de curry (<i>Murraya koenigii</i>)	L'addition de ces HES dans le burfi a montré une bonne activité antibactérienne	Badola <i>et al.</i> (2018)

Les HES sont très utilisées comme arômes dans toutes les games des produits alimentaires (alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, snacks, produits de boulangerie, etc...). Les HES, y compris aussi d'autres extraits font partie des préparations aromatisantes naturelles pour conférer une odeur et un goût aux denrées alimentaires. Cette utilisation des arômes naturels est aussi

en pleine expansion devant la demande croissante de naturalité. Bien que des substances chimiques rencontrées dans les HEs ne puissent pas être ajoutées aux aliments, elles sont cependant autorisées lorsqu'elles sont apportées par le biais d'une HE en raison de leur occurrence naturelle dans ces composés aromatiques. Ainsi, les HEs et leurs composantes, pourraient de ce fait être utilisées comme des arômes alimentaires et sont pour la plupart classées comme GRAS «Généralement Reconnus Comme Sains» (Generally Recognized As Safe) (Mascret, 2010).

10. Facteurs affectant le rendement et la composition chimique des HEs

La différence du rendement en HE pourrait être due à plusieurs facteurs dont le plus déterminant est l'espèce botanique et la notion de chémotype, mais aussi l'influence des facteurs extrinsèques telles que les conditions édapho-climatiques (Pays, région, altitude, température, pluviométrie, intensité et durée d'ensoleillement, richesse du sol en éléments nutritifs, période de récolte, partie de la plante, traitement avant-extraction, mode d'extraction, méthode d'analyse, etc...) (Bruneton, 1993). Cavar *et al.* (2008) ont travaillé sur l'HE de *S. montana* provenant de deux régions différentes (Bosnie et Herzégovine) ont noté que le rendement en cette HE varie de 0,5 à 1,7%. Au cours d'une étude sur l'optimisation des procédés d'extraction, Sahraoui *et al.* (2018) ont indiqué que le rendement optimal en HE de *Thymus palleescens* a été obtenu pour une masse de 25g, un débit de vapeur d'eau de 6 g/min et temps d'extraction de 20 min. Selon Benchikh *et al.* (2015) le séchage des plantes, avant sa mise en distillation, est un traitement qui a des effets très nets sur le rendement en HE. Ces auteurs ont trouvé que le rendement optimal en HE de *Teucrium polium ssp. aurasianum* est obtenu durant le 2^{ème} jour de séchage avec un taux de 0,58%. L'étude de Bourkhiss *et al.* (2011) sur l'effet de l'âge et de la période de récolte sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles de Thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata Vahl Masters*) ont montré que la meilleure concentration (0,22%) en HEs de cette plante a été obtenue à partir des feuilles adultes à la période de la floraison de l'arbre.

La composition chimique des HEs de plantes aromatiques et médicinales est quantitativement et qualitativement influencée par l'origine géographique, l'espèce botanique, les facteurs génétiques, les techniques d'extraction, la période et les conditions de récolte et de stockage de la plante (Slavkovska *et al.*, 2001; Mirjana et Nada, 2004; Hussain *et al.*, 2008; Anwar *et al.*, 2009). Brada *et al.* (2007) ont signalé que les HEs de *Mentha rotundifolia* (*M. rotundifolia*) récoltées dans trois localités du nord d'Algérie: Sandjas (W. Chlef), Miliana

et Rouina (W. Ain Defla) ayant pour altitude respectivement 500, 780 et 280 m, ont révélé de différences dans leurs compositions chimiques. L'étude de Bourkhiss *et al.* (2009) sur l'effet de séchage des parties de la plante sur la teneur et la composition chimique des HEs de *Tetraclinis articulata* (*T. articulata*) a montré que la teneur en HEs des feuilles de cette plante augmente significativement avec le mode et la durée de séchage. La meilleure concentration (0,81%), est obtenue au 9^{ème} jour au séchage à l'ombre. Dabire *et al.* (2011) ont aussi signalé que pendant le séchage des feuilles de *Ocimum basilicum* L, le taux de linalol augmente jusqu'à 80% alors que celui de l'eugénol décroît jusqu'à moins de 1%.

*Chapitre 3: Monographie
des espèces*

Laurus nobilis L.

Le laurier, ayant le nom scientifique de *Laurus nobilis L.* (*L. nobilis*) est un arbuste de la famille des Lauracée. La systématique du laurier est décrite ci-dessous.

Règne:	Plantes
Sous règne:	Plantes vasculaires
Embranchement:	Spermaphytes
Sous embranchement:	Angiospermes
Classe:	Dicotylédones
Sous classe:	Dialypétales
Ordre:	Laurales
Famille:	Lauracées
Genre:	<i>Laurus</i>
Espèce:	<i>Laurus nobilis L.</i>



Figure 9: *Laurus nobilis L.*

Laurier noble est un arbuste au feuillage persistant qui peut atteindre 10 m dans son aire naturelle. Les rameaux verts la première année deviennent gris tout en restant lisse. Les feuilles sont alternes, lancéolées persistantes et coriaces légèrement ondulées sur le bord pointues, vert foncé brillant dessus, vert pale et mat dessous, elles sont très odorantes (Polese, 2006; Maurice, 2014). Les fleurs en avril ou en mai sont discrètes, petites blanc-jaunâtre pédonculées en petits groupes à l'aisselle des feuilles. Les fruits sont des baies ovoïdes de la taille d'un gros pois verts (2 cm de longueur sur 1 cm de largeur) puis noir violacé à maturité, en automne ils ne renferment qu'une seule graine (Yakhlef, 2010).

Cette famille qui est principalement tropicale, se trouve dans la région méditerranéenne. Actuellement, cette espèce sauvage ou cultivée est présente dans le sud, l'ouest de l'Europe et aux Etats-Unis comme plante ornementale (Ivan, 2001; Emam *et al.*, 2010).

2. *Satureja montana*

La sarriette, ayant le nom scientifique de *Satureja montana* (*S. montana*) est une plante de la famille des lamiacée. La systématique de la sarriette est décrite ci-dessous:

Règne:	Plantes
Embranchement:	Phanérogames
Sous embranchement:	Angiospermes
Classe:	Eudicotylédones
Sous classe:	Gamopétales
Ordre:	Lamiales
Famille:	Lamiaceae
Genre:	<i>Satureja</i>
Espèce:	<i>Satureja montana</i>

La sarriette une plante vivace buissonnante de 20 à 30 cm, ligneuse à la base, aux tiges dressées et dont l'odeur aromatique rappelle celle de thym. Les feuilles sont étroites en forme de spatules poilues à la base du limbe, assez rigide et de couleur verte sombre luisante. Elles persistent durant l'hiver. Les fleurs, blanches, bleus pâles ou roses apparaissent de juin à septembre, groupées par deux ou trois à l'aisselle des feuilles. Elles sont mellifères (Polese, 2006).



Figure 10: *Satureja montana*

La sarriette est indigène du sud de l'Europe, d'Afrique du nord, de la Turquie et d'Ukraine. Elle est une plante rustique, qui nécessite une exposition ensoleillée et un sol très drainant. Elle croît dans un sol rocailleux, de légèrement acide à très calcaire (Polese, 2006).

3. *Pistacia lentiscus* L.

Le nom *Pistacia lentiscus* (*P. lentiscus*) donné à cette plante lui vient de mot latin " pistakia" constitue une altération du mot "foustak", nom arabe de l'espèce principale, et *Lentiscus*, vient du mot latin "*Lentiscus*" nom de l'arbre au mastic (Garnier *et al.*, 1961).

Le genre *Pistacia*, appartenant à la famille des Anacardiaceae, comprend de nombreuses espèces très répandues dans la méditerranée et le Moyen-Orient. (Benabderrahmane *et al.*, 2009). La systématique du lentisque est décrite ci-dessous:

Règne:	Plantae, (végétal)
Sous-règne:	Tracheobionta
Embranchement:	Spermaphyte
Sous-embranchement:	Angiosperme
Division:	Magnoliophyta.
Classe:	Magnoliopsida
Sous-classe:	Rosidae
Ordre:	Sapindales.
Famille:	Anacardiaceae.
Genre:	<i>Pistacia</i> .
Espèce:	<i>Pistacia lentiscus</i>

Pistacia lentiscus est un arbrisseau dioïque de 1 à 3 mètres, à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise; les feuilles persistantes, composées, alternes pourvues d'un pétiole ailé, paripennées à 4-10 petites folioles elliptiques-obtuses, mucronulées, coriaces, luisantes en dessus, mates et pâles en dessous (Boukeloua, 2009). Selon More et White (2013) *P. lentiscus* est caractérisée par:

- Ecorce: Rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.
- Branches: tortueuses et pressées, forment une masse serrée.

- Feuilles: Sont persistantes, composées avec 4 à 10 paires de folioles elliptiques et lancéolées, alternées, coriaces, composées, entières et sessiles, la rachi est ailé entre les paires de folioles. Elles sont vertes foncées lavées de pourpre, luisantes en dessus mates et pâles en dessous.

- Fleurs: La période de floraison s'étale d'avril jusqu'au juin. Les fleurs sont toutes très petites, de 2-3 mm de large, vertes ou rougeâtres, denses, unisexuées, elles sont disposées en épis cylindriques courts, serrés, latéraux à l'aisselle des feuilles.

Les fleurs mâles sont à calice et à 5 pointes, de 8 à 10 petites étamines rouges foncées, qui produisent de 47000 à 60000 graines de pollens par fleurs. Quant aux fleurs femelles, elles sont vert-jaunâtres, à calice, à 3-4 pointes, parfois un peu velues, style à 5 stigmates tricarpel et ovaire uniloculaire fourré par un seul anatrope ovule et regroupées dans une inflorescence de 4 à 21 fleurs. Les fleurs femelles ont des ovaires uni et tri-carpelles (Garnier *et al.*, 1961; Bayer *et al.*, 1987; Verdu et Garcia-Fayos, 1998; Baba-Aissa, 1999).

Fruit: Le fruit de lentisque est une petite drupe sèche de 4 mm de long, globuleuse et légèrement comprimée, de la taille d'un pois, d'abord rouge puis noir à maturité, le noyau renferme une seule graine (Garnier *et al.*, 1961; Bayer *et al.*, 1987) son écorce grisâtre devenant avec le temps noirâtre (Garnier *et al.*, 1961).

Mastic: L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (Ferradji, 2011).



Figure11: Feuilles et fruits de *Pistacia lentiscus*

P. lentiscus est un arbrisseau que l'on trouve couramment en sites arides, Asie et région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique, jusqu'aux Canaries (Belfadel, 2009). Il est largement distribué dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, notamment dans les régions ensoleillées à basse altitude (Garnier *et al.*, 1961; Baba-Aissa, 1999; Palacio *et al.*, 2005; Abdelwahed *et al.*, 2007; Bhourri *et al.*, 2010).

P. lentiscus pousse à l'état sauvage dans la garrigue et sur les sols en friche. On le retrouve sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Belfadel, 2009).

4. *Inula graveolens*

L'inule, ayant le nom scientifique d'*Inula graveolens* (*I. graveolens*) est une plante de la famille des composées. La systématique d'inule est décrite ci-dessous.

Règne:	Plantae, (végétal)
Sous-règne:	Tracheobionta
Embranchement:	Spermatophyta
Division:	Magnoliophyta
Classe:	Magnoliopsida
Sous-classe:	Asteridae
Ordre:	Asterales
Famille:	Asteraceae/Compositae
Genre:	<i>Dittrichia/ Inula</i>
Espèce:	<i>Inula graveolens</i>

Inula graveolens est une plante annuelle de 20-50 cm de hauteur, densément glanduleuse, à odeur de camphre, à tige dressée, très ramifiée. Feuilles inférieures longues de 2-7 cm, larges de 2-13 mm, lancéolées, entières ou faiblement denticulées; les supérieures sessiles et amplexicaules. Capitules assez petits, larges de 5-12 mm, très nombreux à l'extrémité des rameaux et à l'aisselle des feuilles; involucre de 4-7 mm, à bractées glanduleuses, linéaires-triangulaires à linéaires-lancéolées; fleurons jaunes à ligules de 4-7 mm peu nombreuses, rarement violacées, égalant l'involucre. Fruits = akènes de 2 mm, poilus. Floraison d'août à octobre. (Lombard et Filoche, 2002; Harzallah-Skhiri *et al.*, 2005).



Figure 12: *Inula graveolens*

L'inule, originaire des bords méditerranéens. Elle pousse sur les bermes routières gravillonnées, friches, anciennes carrières, décombres, terrains vagues, berges graveleuses des rivières; souvent sur des sols temporairement humides.

*Chapitre 4: Matériel et
Méthodes*

Les travaux de cette thèse ont été réalisés d'une part au laboratoire de Qualité et Sécurité des Aliments (UMMTO) dirigé par Pr. DJENANE Djamel et, d'autre part au niveau d'Institute of Oenology and Food Engineering, Università Cattolica Sacro Cuore, Piacenza, Italy, dirigé par Pr. SPIGNO G.

1. Matériel végétal

L'étude a été effectuée sur quatre plantes aromatiques d'origine méditerranéenne à savoir : La sarriette (*S. montana*), le lentisque (*P. lentiscus*), le laurier (*L. nobilis*) et l'inule (*I. graveolens*). Les HEs utilisées dans cette étude sont des huiles d'une pureté de 100 % et naturelles (Florame-St Rémy de Provence- France) (**Figure 12**)

Ces dernières ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un matériel biologique certifié par Ecocert SAS F33600 (France). Ces HEs sont conservées, à l'abri de la lumière et de l'oxygène à une température de 3 ± 1 °C, dans des flacons opaques fermés hermétiquement en vue de leur analyse.



Figure 13 : Huile essentielle

2. Analyse qualitative et semi-quantitative des HEs par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Cette analyse a été effectuée au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) du ex. Faculté de Chimie à l'Université Houari Boumediene (Bab Ezzouar).

L'analyse chromatographique est réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent technologies (série HP 6800) couplé avec un spectromètre de masse (série MS-5973 N). La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La

colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30 m x 0,25 mm), l'épaisseur du film est de 0,25 µm. La température de la colonne est programmée de 60 à 250 °C à raison de 2 °C/min. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 0,5 ml/min. Le mode d'injection est split (rapport de fuite: 1/50, volume 0,2 µl). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse.

L'identification des différents constituants est réalisée à partir de leurs spectres de masse en comparaison avec ceux des composés standards de la banque des données informatisées (Wiley 275.L, Adams, 2001).

3. Evaluation de l'activité antioxydante "in vitro" des HEs par DPPH

Le pouvoir antioxydant des HEs étudiées a été testé par la méthode qui utilise le DPPH[•] (2,2-Diphényl Picryl-Hydrazyl) comme un radical libre relativement stable. Dans ce test, le DPPH[•] de couleur violette se réduit en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu (Molyneux, 2004; Djenane *et al.*, 2019).

La réaction est réalisée en suivant la méthode décrite par Burits et Bucar, (2000) et Sahin *et al.* (2004), où 25 µl de chacune des dilutions des HEs testées et de certains composés purs tels que le BHT sont mélangés dans la cellule placée dans la cuvette du spectrophotomètre avec 975 µl d'une solution éthanolique de DPPH[•] (60 µM). Après une période d'incubation de 30 min à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Les expériences sont réalisées en 3 répétitions pour chaque concentration. Le BHT a été utilisé comme témoin positif.

Le pourcentage d'activité antioxydante (I%) est calculé selon la formule suivante:

$$I (\%) = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch.}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

Avec A_{blanc} : l'absorbance du DPPH[•] au temps zéro avant l'addition de l'échantillon (HE).

$A_{\text{éch.}}$: Absorbance de l'échantillon testé après 30 min.

Dans cette étude l'antioxydant (HE) est testé avec un gradient de concentrations, ce qui permet l'obtention d'une courbe de la mesure de l'absorbance, à 517 nm, en fonction de la concentration de l'HE.

Les résultats sont exprimés selon l'IC₅₀ (mg/L) qui correspond à la concentration efficace nécessaire pour diminuer de 50% de l'absorbance initiale du DPPH[•]. Plus cette concentration est faible, plus le composé est considéré comme un antioxydant potentiel.

4. Activité antioxydante des HEs sur l'huile d'olive extra vierge (HOEV) pendant le "Retail display"

4.1. Matériel végétal

L'étude a été effectuée sur l'huile d'olive de la variété connue sous le nom de Chemlal. La cueillette des olives a été réalisée en mi-décembre (2014), manuellement autour d'oliviers adultes. L'extraction de l'huile a été réalisée en janvier 2015 au niveau d'une unité de trituration traditionnelle située dans la région de M'Cheddellah (W. Bouira). Après tri, pesage, entreposage et lavage, les olives sont broyées avec un broyeur à meules, ensuite la pâte est pressée avec des scourtins, l'huile est centrifugée puis décantée. Les échantillons d'huiles sont conditionnés dans des bidons (5 L) en plastique fumé, étiquetés et conservés à 4 °C.



Figure 14: Récolte manuelle des olives

4.2. Aromatisation de HOEV par des huiles essentielles

Pour optimiser la dose d'HE à incorporer dans l'HOEV, un test sensoriel préalable a été effectué. Cinq échantillons de l'huile d'olive ont été préparés par l'ajout de chaque HE: HOEV (témoin), HOEV enrichie avec l'HE de laurier (HOEV/*L. nobilis*), HOEV enrichie avec l'HE de la sarriette (HOEV/*S. montana*), HOEV enrichie avec l'HE de lentisque (HOEV/*P. lentiscus*), HOEV enrichie avec l'HE d'inule (HOEV/*I. graveolens*). Six concentrations de chaque HE ont été ajoutées (0,01%, 0,02%, 0,04%, 0,06%, 0,08%, 0,1%) à l'HOEV.

4.3. Analyse sensorielle préliminaire

Le test hédonique a été réalisé selon le protocole de l'UE (Règlement Européen n° 1348/2013) par 15 dégustateurs. Les conditions des essais ont été choisies selon la même norme, à savoir l'échantillon d'huile à analyser est présenté dans les verres de dégustation à une température ambiante. Chaque dégustateur a ainsi flairé puis dégusté chaque huile et porté sur la feuille de profil mise à sa disposition l'appréciation de l'odeur et du goût. Le responsable de jury, après avoir recueilli les feuilles de profil remplies par chacun des dégustateurs, a contrôlé les applications attribuées pour chaque huile.

4.4. Plan expérimental

Les essais de photo-oxydation ont porté sur des systèmes constitués de HOEV rajoutée d'HE à une concentration de 0,01%. Les échantillons ont été conservés dans quatre (4) types d'emballage à savoir le verre transparent (VT), le verre opaque de couleur marron (VO), polyéthylène téréphtalate transparent (PETT), polyéthylène téréphtalate opaque de couleur marron (PETO) (**Figure 15**). Le témoin (négatif) ne contenant pas d'HE est préparé pour l'ensemble des échantillons. Ces systèmes ont été exposés à une intensité lumineuse égale à 900 lux.



Figure 15: Différents emballages utilisés

Le système utilisé est constitué de deux tubes fluorescents de 92 cm de longueur (OSTRAM-L40w/19-1, Germany). Les échantillons d'huile à photo-oxyder, contenus dans des flacons dont l'emballage est différent (VT, le VO, PETT, PETO), ont été placés d'une manière horizontale à une distance de 90 cm de la source lumineuse. Une autre série a été préparée de la même manière et conservée dans l'obscurité. Le plan expérimental est illustré par la **Figure 16**.

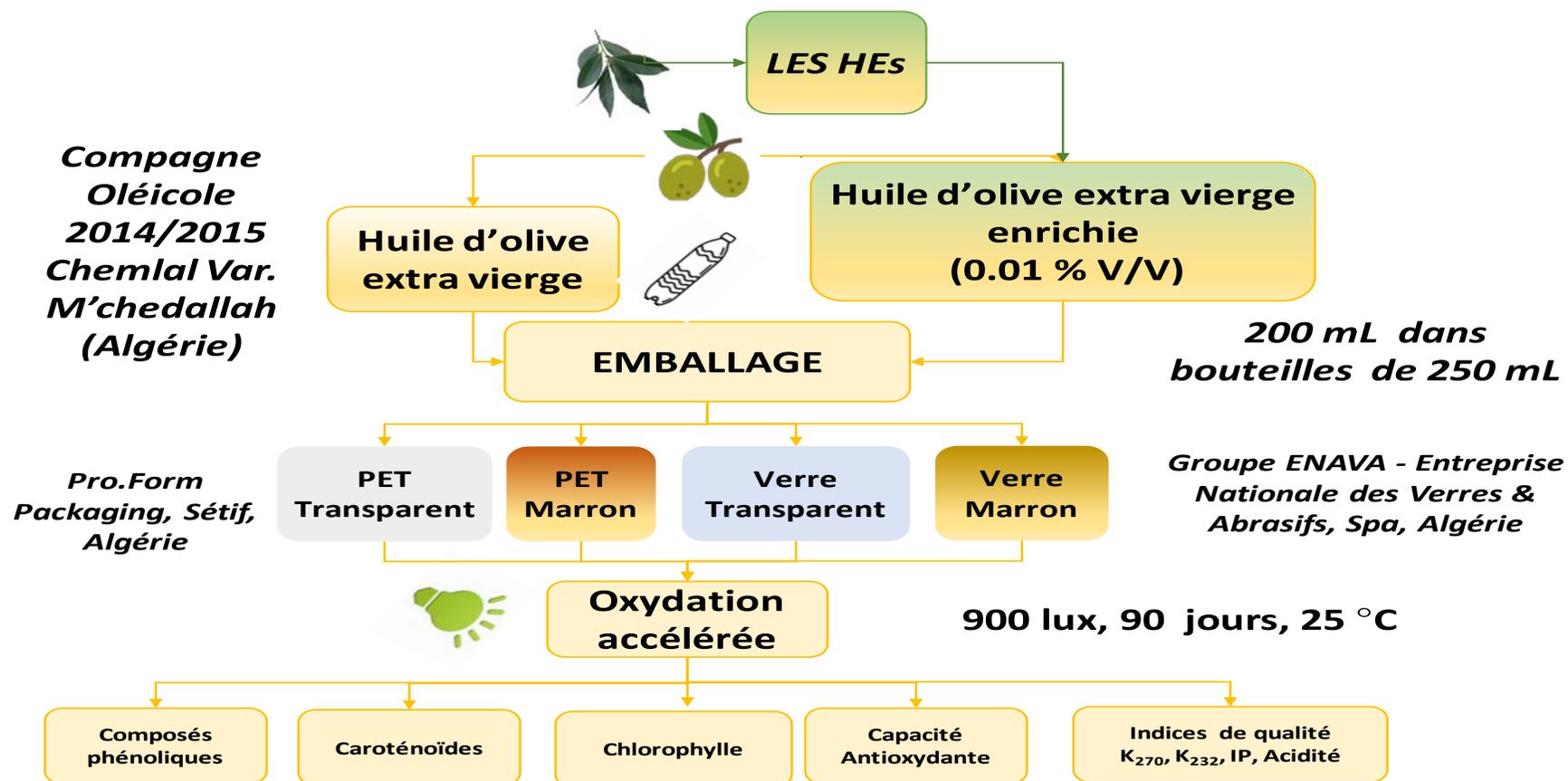


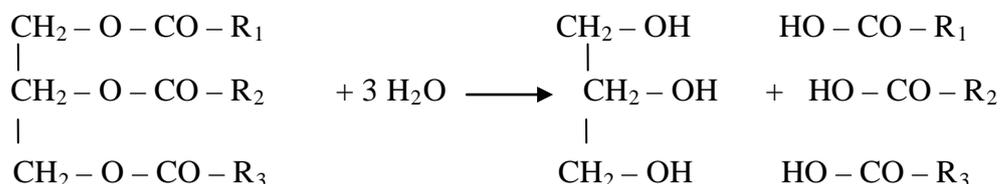
Figure 16: Plan expérimental

4.5. Caractéristiques physico-chimiques de l'HOEV durant le "Retail display"

Les méthodes utilisées pour la détermination des caractéristiques physico-chimiques sont celles décrites dans la norme du Règlement CEE N° 2568/91.

4.5.1. Acidité

L'acidité est la teneur de l'huile d'olive en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides et exprimée conventionnellement en acide oléique (g/100g d'huile).



La mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants, puis titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.

5 g d'huile ont été dissout dans 30 ml du mélange éthanol/éther (v/v), puis titré, en agitant, avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 0,1N en présence de phénolphthaléine à 1% dans l'éthanol, jusqu'à virage de l'indicateur (coloration rose).

L'acidité est exprimée selon l'équation suivante:

$$\text{Acidité}\% = \frac{N \times V \times 282.5}{m \times 1000} \times 100$$

V: nombre de millilitres de solution titrée de KOH éthanolique.

N: normalité exacte de la solution titrée de KOH éthanolique.

m: prise d'essai en gramme.

4.5.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) représente la quantité de peroxyde présente dans l'échantillon exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme de produit (mEq O₂/kg), oxydant l'iodure de potassium (KI) avec libération d'iode. L'indice de peroxyde permet d'évaluer l'état de fraîcheur de l'huile.

Le principe repose sur la mise de la prise d'essai en solution, dans un mélange d'acide acétique et de chloroforme et traiter par une solution d'iodure de potassium. L'iode libéré est titré avec une Solution de thiosulfate de sodium.

1g d'huile d'olive est pesé dans une fiole à 0,001 près et mélangé avec 10 ml de chloroforme; le tout est agité. 15 ml de d'acide acétique ainsi que 1 ml d'iodure de potassium sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 1 min et laissé reposer pendant 5 min à l'abri de la lumière à une température ambiante. 75 ml d'eau distillée sont additionnés, suivi d'un titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 0,01N en agitant vigoureusement et en employant la solution d'amidon (1g/100 ml) comme indicateur jusqu'à disparition de la couleur. Un essai à blanc est effectué simultanément.

L'indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent d' O_2/kg est calculé selon la formule suivante:

$$\text{IP} = (\text{V}-\text{V}_0) \times \text{T}/\text{m} \times 1000$$

V: Volume de thiosulfate de sodium de l'échantillon en ml

V_0 : Volume requis pour titrer le blanc en ml

m: Poids de la prise d'essai en g

T: Normalité de thiosulfate de sodium.

4.5.3. Extinction spécifique

Tous les corps gras naturels contiennent de l'acide linoléique en quantité plus ou moins importante. L'oxydation d'un corps gras conduit à la formation de diènes et de triènes conjugués. Ces derniers sont à doser dans l'huile d'olive selon la norme REG. CEE n° 2568/91 fixée par la réglementation européenne. Cet examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse.

La détermination de l'absorbance à 232 nm et au voisinage de 270 nm permet la détection des produits d'oxydation des acides gras insaturés, lorsqu'ils ont une structure diénique conjuguée (exp: hydroperoxyde linoléique $\text{C}_{18}: 2$) et des produits secondaires d'oxydation ayant une structure triénique (dans le cas de la présence d'acide gras à trois double liaisons).

Une prise de 0,25 grammes de l'huile a été dissoute dans 25 ml de cyclohexane. La lecture des absorbances est effectuée dans une cuve en quartz par rapport à celle du solvant, sur un spectrophotomètre U.V/Visible. Les valeurs sont exprimées comme extinction spécifique $E_{\text{cm}}^{1\%}$ notée de façon conventionnelle par K et exprimées comme suit:

$$K = A_{\lambda} / C \times S$$

A_{λ} : absorbance à la longueur d'onde λ

C: concentration de la solution en mg/100 ml.

S: chemin optique (1cm).

4.5.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras

Les AG sont méthylés par la méthode décrite par Règlement CEE n° 2568/91. Cette méthode consiste à diluer 0,2 g d'huile d'olive extraite dans 3 ml d'hexane et 0,4 ml de potasse méthanolique (2N). Le mélange réactionnel est agité au vortex pendant 2 min puis centrifugé. Une phase supérieure, contenant les esters des acides gras dissous dans l'hexane et une phase inférieure formée par la fraction de glycérol et les composés mineurs de l'huile d'olive. 1 μ l d'une solution hexanique d'esters méthyliques a été injectée dans un CPG Appareil du type CP. Chrompack. 9002 équipé d'une colonne de type Stabilwax; longueur 30 mètres, diamètre interne de 0,32 mm. L'injecteur était en mode split, ratio 1/50 à la température de 250 °C. Le gaz vecteur était l'Hélium de débit 1,5 ml/min. Le détecteur à ionisation de flamme était à 270 °C. La programmation de la température du four était la suivante: 150 °C pendant 3 min suivi d'une augmentation de 3 °C/min jusqu'à 220 °C (26,3 min) qui était maintenue constante jusqu'à la fin de l'acquisition (35,3 min). L'identification des pics a été faite par comparaison des temps de rétention d'esters méthyliques d'acides gras d'huiles végétales comme l'huile d'olive, l'huile de tournesol et l'huile de palme, injectées dans les mêmes conditions opératoires.

4.6. Dosage des polyphénols totaux

L'analyse des composés phénoliques dans l'huile d'olive présente un grand intérêt étant donné que, d'une part, leur rôle d'antioxydants naturels et, d'autre part, leur contribution à la saveur de l'huile. Le dosage quantitatif des composés phénoliques a été effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Gutfinger, (1981) et Singleton *et al.*, (1999).

Dans la première étape les composés phénoliques d'huile d'olive ont été isolés par une extraction d'une solution d'huile (2,5 g) dans l'hexane (5 ml) avec un mélange (de 5 ml) d'eau de méthanol (60:40; v:v). Le mélange est agité vigoureusement par le vortex pendant 2 min. Les deux phases ont été séparées par centrifugation (à 3500 trs/min pendant 10 min), ensuite 1,25 ml de réactif de Folin-Ciocalteu sont ajoutés à l'extrait et le mélange est laissé 3 min

avant l'ajout de 1 ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 75g/L. Après 30 min d'incubation à l'abri de la lumière à température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et sera exprimée en mg équivalent d'acide gallique par kg d'huile d'olive.

4.7. Dosage des pigments

Le dosage des chlorophylles et des caroténoïdes a été effectué selon la méthode de Minguez-Mosquera *et al.* (1991). Un échantillon de 7,5 g d'HOEV est ajusté à 25 ml avec du cyclohexane. Le maximum d'absorption à 670 nm renseigne sur la fraction chlorophyllienne, alors que la fraction caroténoïde est détectée à 470 nm. La valeur du coefficient d'extinction spécifique appliquée est $E_0 = 613$ pour la pheophytine comme composant majeur des chlorophylles et $E_0 = 2000$ pour la lutéine comme caroténoïde majeur. Ainsi le contenu en pigments est déterminé selon la formule suivante:

$$\text{Chlorophylle (mg/Kg)} = A_{670\text{nm}} \times 10^6 / 613 \times 100 \times d$$

$$\text{Caroténoïdes (mg/Kg)} = A_{470\text{nm}} \times 10^6 / 2000 \times 100 \times d$$

A: Absorbance; **d:** Trajet optique (épaisseur de la cuve 1cm).

4.8. Etude de l'activité antioxydante du complexe HOVE/HE

L'activité antioxydante de l'huile d'olive vierge a été évaluée par deux méthodes de référence : L'activité d'inhibition du radical DPPH (2-2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test ORAC (capacité d'absorption des radicaux oxygénés).

4.8.1. Activité antioxydante: Test radical DPPH*

Le test du radical DPPH est réalisé selon la méthode décrite par (Kalantzakis *et al.*, 2006). 1 ml d'huile d'olive dans l'acétate d'éthyle (10%, v/v) est ajouté à 4 ml d'une solution DPPH (10^{-4} M) ensuite le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant 10 s. Après une période d'incubation de 30 min à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, et à température ambiante, l'absorbance est lue à 515 nm. Les expériences sont réalisées avec 3 répétitions pour chaque huile.

Le pourcentage de réduction du radical DPPH par l'huile d'olive est calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ [DPPH] red} = 100 (1 - [\text{DPPH}_{30} / \text{DPPH}_0])$$

Avec :

- ❖ DPPH₀: Absorbance du témoin (nm), il représente l'absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon (HOEV/HE)
- ❖ DPPH₃₀: Absorbance de l'échantillon testé après 30 min.

4.8.2 Activité antioxydante: Test radical ORAC

Le test du radical ORAC est réalisé selon la méthode décrite par Dejian et *al.* (2002). Ce test consiste en une mesure de la protection exercée par un antioxydant contre l'oxydation de la fluorescéine. Lorsque la fluorescéine est soumise à l'action oxydante d'un radical libre 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (APPH•), on observe que sa réponse en fluorescence diminue au cours du temps. La fluorescéine est oxydée par les radicaux libres provenant de l'APPH et subit une série de transformations qui donnent un produit final non fluorescent. Dans cet essai, l'AAPH (2,2 -azo-bis -2 amidopropane dichlorhydrate) a été utilisé comme un radical peroxyde générateur et Trolox comme un contrôle standard.

Les composés phénoliques de l'huile d'olive ont été isolés par une extraction d'une solution d'huile (5 g) dans l'hexane (5 ml) avec un mélange de 5 ml d'eau et de méthanol (60:40; v/v). Les deux phases ont été séparées par centrifugation (à 3500 trs/min pendant 10 minutes) puis différentes concentrations ont été préparées dans le tampon phosphate. Les solutions de fluorescéine (40 nM et 4 nM), l'AAPH (0,153 M) et de Trolox ont été aussi préparées dans le tampon phosphate. Les dosages ont été effectués dans des plaques à 96 puits de fluorescence de polystyrène spécifique pour le fluorimètre (Biotek) (Annexe 1). Les mélanges réactionnels consistaient en 0,266 ml de tampon phosphate, 33 µL de Trolox, 33 µl de l'huile d'olive et de 0,2 ml de la solution fluorescéine à 40 nM. La plaque est incubée à 37 °C dans le fluorimètre à plaques, après 30 mn on rajoute l'APPH. Les résultats sont traités par SOFTWARE GEN 5.2.1.

4.9. Test d'accélération d'oxydation (Oxitest)

Le test est très utilisé pour évaluer la qualité des huiles et des graisses alimentaires en évaluant de façon rapide et simple, la stabilité et la durabilité de produits. L'appareil utilisé est le «Oxitest» (voir Annexe 2), la spécification du temps d'induction au test «Oxitest»,

exprimé en heure (h), correspond au temps pendant lequel la matière grasse a résisté à un stress oxydatif.

Le principe du test consiste à vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique à une température et une pression bien déterminée. Une prise d'essai de 5 g d'huile est placée dans deux blocs de chauffage de «oxitest», la température est maintenue à 90 °C, la pression est réglée à 6 bar.

4.10. Analyse des composés phénoliques de l'huile d'olive par la Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)

Les composés phénoliques d'huile d'olive ont été isolés par une extraction d'une solution d'huile (5 g) dans hexane (5 ml) avec un mélange (de 5 ml) d'eau de méthanol (60:40; v/v). Le mélange a été agité vigoureusement par le vortex pendant 2 min. Les deux phases ont été séparées pendant 10 min par centrifugation à 3500 trs/min. L'extrait final a été filtré avec un papier filtre dont le diamètre des pores est 0,45 µm (Minisart, Sartorius, and Goettingen, Germany), ensuite 20 µl de l'extrait filtré a été injecté dans l'appareil CHLP.

L'analyse des composés phénoliques a été réalisée par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) à détecteur de diodes (UV/VIS) au niveau d'Institute of Oenology and Food Engineering, Università Cattolica Sacro Cuore, Italy. La séparation est faite dans une colonne C18₍₂₎ avec un débit d'injection de 1ml/min. Les composés phénoliques ont été quantifiés à 280 nm. La quantité des composés phénoliques a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage pour chaque composé. Les conditions opératoires sont présentées dans le **Tableau 5**:

Tableau 5: Conditions opératoires d'CLHP utilisées pour l'analyse des composés phénoliques dans l'huile d'olive

model d'CLHP	MD2010plus JASCU
Détecteur	détecteur de diodes (UV/VIS)
Colonne	250 x 2.4 µm/5 µm C18(2) 100A
Elution	1 ml/min
Volume d'injection	20 µl
longueur d'onde	280-340

5. Analyse statistique

La significativité des différences des résultats obtenus lors de l'évaluation de l'effet de l'aromatisation par des huiles essentielles (de la sarriette, et de laurier) et d'emballage (PET

et le verre) sur la stabilité photo-oxydative de l'huile d'olive vierge pendant le stockage par une analyse de variance (ANOVA) à un ou à trois facteurs effectuées sur le logiciel Statistica 6.00 avec un seuil de signification fixé à 5%.

*Chapitre 5: Résultats et
discussion*

1. Composition chimique des HEs

1.1. Composition chimique de l'HE de *L. nobilis*

La composition chimique de l'HE de laurier est illustrée par le chromatogramme de la **Figure 17** et les composés identifiés sont reportés dans le **Tableau 6**.

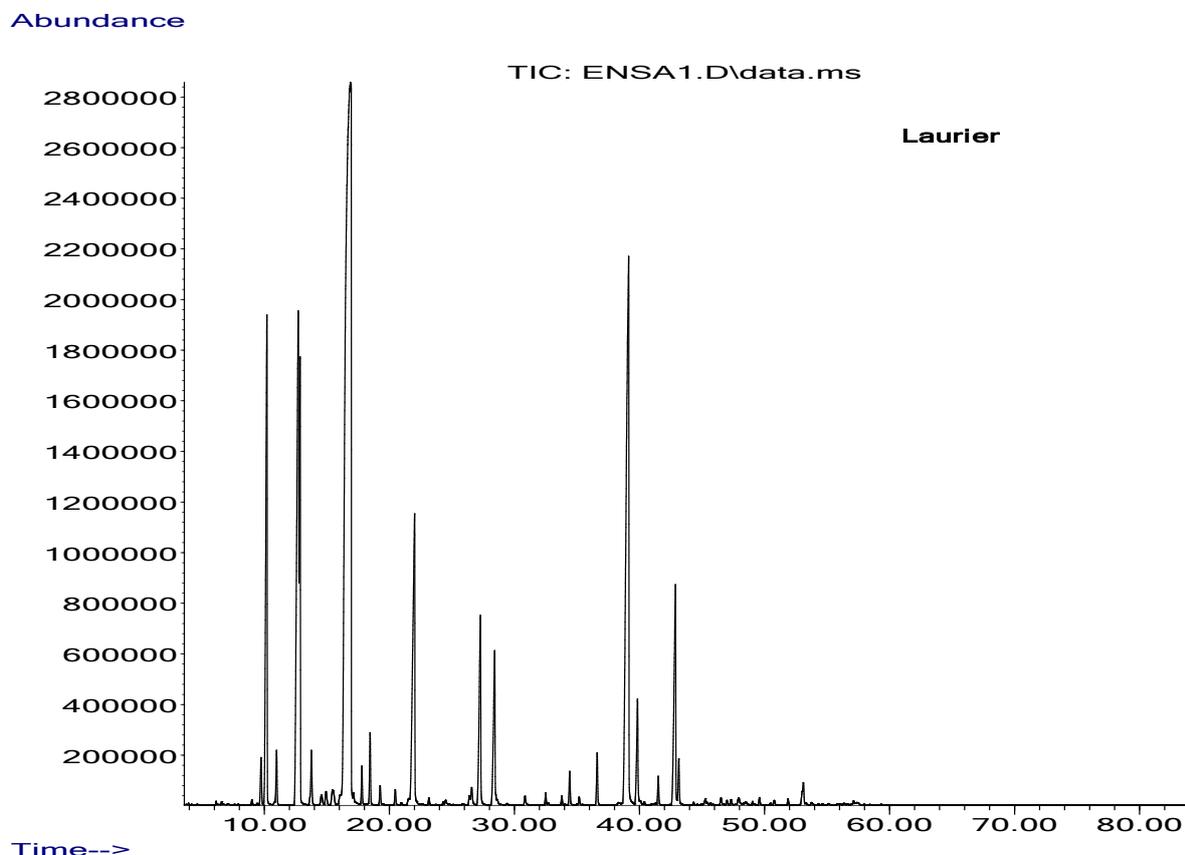


Figure 17: Chromatogramme CPG/SM de l'HE de laurier

L'analyse de l'HE de *L. nobilis* par CPG/MS a permis d'identifier 45 composés représentant environ 99,46% de la somme totale des aires des pics des chromatogrammes, où les monoterpènes oxygénés occupent la première place (73,19%) suivis des monoterpènes (24,46%) puis les hydrocarbures sesquiterpéniques (1,63%) et les hydrocarbures sesquiterpéniques oxygénés (0,10%).

Cette huile est caractérisée par 1,8-cinéole comme composé majoritaire (39,69%), de l'acétate de terpényle (14,21%), de sabinène (10,05%), α -terpinène (6,72%) et linalol (6,08%) (**Tableau 6**). Cette composition chimique est similaire de celle de l'HE étudiée par Da Silveira *et al.* (2014) et Ouibrahim *et al.*, (2015) qui ont identifié le 1,8-cinéole comme molécule majoritaire (35,50 et 36,31%, respectivement).

Tableau 6: Composition chimique de l'HE de *L. nobilis*

n°	Constituants	TR* (min)	IR**	(%)	Type	Formule
1	α -thujène	9,73	925	0,53	MT	C ₁₀ H ₁₆
2	α-pinène	10,19	939	6,72	MT	C₁₀H₁₆
3	Camphène	10,97	945	0,60	MT	C ₁₀ H ₁₆
4	Sabinène	12,70	973	10,05	MT	C₁₀H₁₆
5	β -pinène	12,85	978	4,26	MT	C ₁₀ H ₁₆
6	β -myrcène	13,76	995	0,67	MT	C ₁₀ H ₁₆
7	α -phellandrène	14,57	1007	0,18	MT	C ₁₀ H ₁₆
8	δ 3-carène	14,93	1010	0,20	MT	C ₁₀ H ₁₆
9	α -terpinène	15,46	1014	0,36	MT	C ₁₀ H ₁₆
10	p-cymène	16,05	1026	0,15	MT	C ₁₀ H ₁₄
11	1,8-cinéole	16,87	1029	39,69	MO	C₁₀H₁₈O
12	cis- β -ocimène	17,14	1039	0,20	MT	C ₁₀ H ₁₆
13	trans- β -ocimène	17,80	1042	0,38	MT	C ₁₀ H ₁₆
14	γ -terpinène	18,45	1045	0,73	MO	C ₁₀ H ₁₆
15	trans-sabinène hydrate	19,26	1050	0,19	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
16	α -terpinolène	20,47	1063	0,16	MT	C ₁₀ H ₁₆
17	4- thujanol	21,56	1078	0,10	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
18	Linalol	22,00	1080	6,08	MO	C₁₀H₁₈O
19	2-cyclohexen-1-ol	23,16	1089	0,08	Autres	C ₆ H ₁₀ O
20	Cis- sabinène hydrate	24,50	1101	0,07	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
21	Camphore	26,40	1111	0,12	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
22	Fenchol	26,58	1126	0,26	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
23	terpinène-4-ol	27,27	1182	2,95	MO	C₁₀H₁₈O
24	Propanoate de linalyle	28,41	1190	2,44	MO	C₁₀H₁₈O
25	Estragol	28,62	1195	0,06	MO	C ₁₀ H ₁₂ O
26	Cis- géranol	30,83	1227	0,11	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
27	Acétate de linalyle	32,50	1254	0,11	MO	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
28	Acétate de bornyle	34,42	1285	0,38	MO	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
29	2-undecanone	35,18	1297	0,09	MO	C ₁₁ H ₂₂ O
30	δ -terpinylacétate	36,61	1347	0,56	MO	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
31	Acétate de terpényle	39,11	1357	14,21	MO	C₁₀H₁₆
32	Eugénol	39,84	1367	1,34	MO	C₁₀H₁₂O₂
33	β -elemène	41,50	1394	0,30	ST	C ₁₅ H ₂₄
34	Méthyl eugénol	42,86	1409	3,70	MO	C₁₁H₁₄O₂
35	Caryophyllène oxide	43,14	1426	0,52	ST	C ₁₅ H ₂₄
36	α -caryophyllène	45,27	1459	0,06	ST	C ₁₅ H ₂₄
37	Germacrène d	46,99	1486	0,06	ST	C ₁₅ H ₂₄
28	Germacrène b	47,94	1556	0,12	ST	C ₁₅ H ₂₄
39	β -cubebène	49,05	1386	0,05	ST	C ₁₅ H ₂₄
40	d-cadinène	49,59	1526	0,09	ST	C ₁₅ H ₂₄
41	cis- α -bisabolène	50,78	1540	0,06	ST	C ₁₅ H ₂₄
43	Elemicine	51,88	1552	0,07	STO	C ₁₂ H ₁₆ O ₃
44	β -caryophyllène	53,10	1600	0,37	ST	C ₁₅ H ₂₄
45	b-eudesmol	57,12	1654	0,03	STO	C ₁₅ H ₂₆ O
Total		99,46%				
Monoterpènes oxygénés (MO)		73,19%				
Monoterpènes (MT)		24,46%				
Sesquiterpènes (ST)		1,63%				
Sesquiterpènes oxygénés (STO)		0,10%				
Autres		0,08%				

TR*: Temps de Rétention; IR**: Indice de Rétention

Mediouni Ben Jemâa *et al.* (2012) ont démontré que les principaux composés communs des HES de laurier provenant d'Algérie, de Tunisie et du Maroc sont le 1,8-cinéole et le linalol. Cependant Bonou *et al.* (2016), ont signalé que l'eugénol (42,50%) le myrcène (28,09%) sont les constituants majoritaires de l'HE de laurier de Porto-Novo (Benin).

Marzouki *et al.* (2009) ont également signalé que les HES de *L. nobilis* cultivé en Tunisie et en Algérie n'ont pas révélé de différences dans leur composition chimique. En outre, Ozcan et Chalchat, (2005) ont indiqué que la variation quantitative et qualitative des HES de *L. nobilis* concerne principalement les composés mineurs.

Snuossi *et al.* (2016) ont souligné que l'HE provenant de Grombalia (Tunisie) est caractérisée par 1,8-cinéole (56%), α -terpinyl acétate (9,0%), 4-terpinéol (5,2%), méthyleugénol (3,6%), sabinène (3,5%) et α -pinène (3,2%). Les mêmes constituants ont été identifiés dans l'HE de laurier provenant de Campania (Italie) mais une variation quantitative a été observée. Caputo *et al.* (2017) ont signalé que l'HE de laurier provenant de Campania (Italie) est riche 1,8-cinéole (31,9%), sabinène (12,2%), linalol (10,2%) α -terpinyl acétate (5,9%), α -pinène (5,8%), α -terpinéol (3,3%), méthyl-eugénol (3,3%), neoiso-isopulégol (2,5%), eugénol (1,6%), β -pinène (1,4%), et γ -terpinène (1,0%).

La composition chimique des HES est influencée par des facteurs génétiques, mais également des facteurs géographiques, bioclimatiques et par les conditions de récolte et de stockage de la plante (Hussain *et al.*, 2008; Anwar *et al.*, 2009); ainsi que par la partie de la plante (feuilles, fruit, racines...). Selon Fidan *et al.* (2019), l'HE du fruit de laurier est composée de 1,8-cinéole (33,3%), α -terpinyl acétate (10,3%), α -pinène (11,0%), β -elemène (7,5%), sabinène (6,3%), β -phellandrène (5,2%), bornyl acétate (4,4%), et camphène (4,3%); tandis que celle des brindilles est caractérisée par 1,8-cinéole (48,5%), α -terpinyl acétate (13,1%), méthyl eugénol (6,6%), β -linalol (4,8%), β -pinène (3,4%), sabinène (3,3%) et terpinène-4-ol (3,3%). L'HE issue des feuilles de laurier de la même espèce provenant de la Bulgarie est riche en 1,8-cinéole (41,0%), α -terpinyl acétate (14,4%), sabinène (8,8%), méthyl eugénole (6,0%), β -linalol (4,9%), et α -terpineol (3,1%).

1.2. Composition chimique de l'HE de *Satureja montana*

La composition chimique de l'huile essentielle de la sarriette est représentée par le chromatogramme de la **Figure 18** et les composés identifiés sont reportés dans le **Tableau 7**.

De l'analyse de ce tableau, il en ressort que les principaux constituants de l'HE de *S. montana* représentent 74,54% de la composition chimique totale. Il s'agit de thymol (28,36%), carvacrol (17,45%), *p*-cymène (10,91%), trans-Caryophyllène (5,54%), γ -terpinène (5,03%), géraniol (4,5%) et linalol (2,75). Cette HE est dominée par les monoterpènes oxygénés (54,64%), suivi des monoterpènes (33,97%), puis les sesquiterpéniques (2,44%) et les sesquiterpènes oxygénés (1,08%).

Abundance

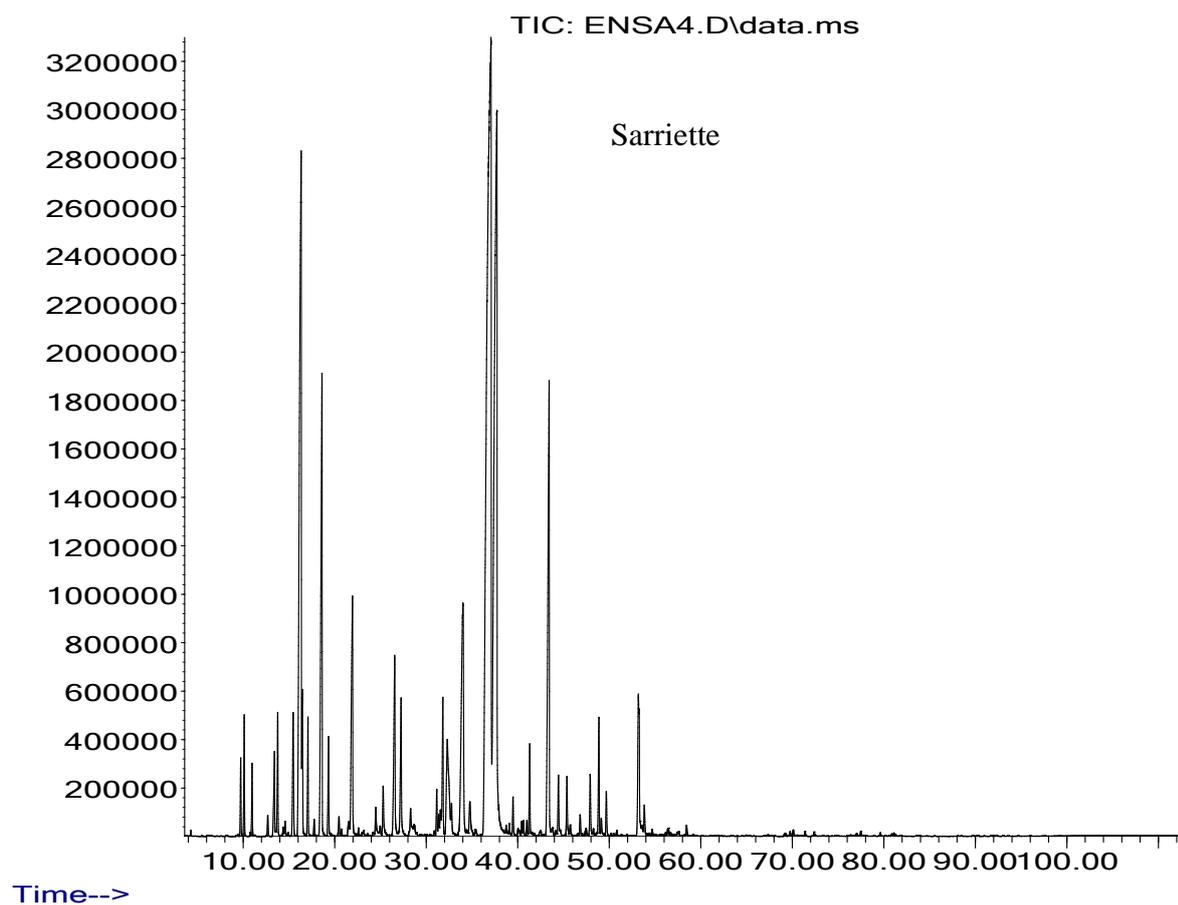


Figure 18: Chromatogramme CPG/SM de l'HE de la sarriette

Tableau 7: Composition chimique de l'HE de *S. montana*

N°	Constituants	TR* (min)	RI**	(%)	Type	Formule
1.	α -thujène	9,723	921	0,44	MT	C ₁₀ H ₁₆
2.	α -pinène	10,103	926	0,68	MT	C ₁₀ H ₁₆
3.	Camphène	10,966	957	0,42	MT	C ₁₀ H ₁₆
4.	1-Octen-3-ol	13,405	962	0,72	Autres	C ₈ H ₁₆ O
5.	β -myrcène	13,766	990	0,81	MT	C ₁₀ H ₁₆
6.	α -terpinène	15,453	1020	1,03	MT	C ₁₀ H ₁₆
7.	p-cymène	16,316	1026	10,91	MT	C₁₀H₁₆
8.	β -phellandrène	16,455	1044	1,08	MT	C ₁₀ H ₁₆
9.	β -ocimène	17,072	1052	0,74	MT	C ₁₀ H ₁₆
10.	γ-terpinène	18,590	1057	5,03	MT	C₁₀H₁₆
11.	Cis-sabinène hydrate	19,318	1058	0,72	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
12.	Linalol	21,925	1104	2,75	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
13.	L-menthone	25,285	1148	0,47	MO	C ₁₀ H ₂₀ O
14.	Bornéol	26,528	1167	1,95	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
15.	α -terpinéol	27,232	1190	1,36	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
16.	Carvacrol méthyl-éther	31,791	1263	1,09	MO	C ₁₁ H ₁₆ O
17.	Pulégone	32,292	-	1,99	MO	C ₁₀ H ₁₆ O
18.	Géraniol	33,989	1272	4,50	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
19.	Néral	34,750	1242	0,47	MO	C ₁₀ H ₁₆ O
20.	Thymol	37,020	1280	28,36	MO	C₁₀H₁₄O
21.	Carvacrol	37,666	1297	17,45	MO	C₁₀H₁₄O
22.	Acétate de géranyle	41,285	1440	0,64	MO	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
23.	Trans-Caryophyllène	43,382	-	5,54	ST	C₁₅H₂₄
24.	Aromadendrène	44,423	1449	0,52	ST	C ₁₅ H ₂₄
25.	β -bisabolène	48,842	1540	0,89	ST	C ₁₅ H ₂₄
26.	Oxyde Caryophyllène	53,170	1600	1,99	STO	C ₁₅ H ₂₄ O
Total				92,55%		
Monoterpènes (MT)				21,14%		
Monoterpènes oxygénés (MO)				61,75%		
Sesquiterpènes (ST)				6,95%		
Sesquiterpènes (STO)				1,99%		
Autres				0,72%		

TR*: Temps de Rétention; IR**: Indice de Rétention

Les mêmes constituants ont été déjà indiqués dans l'HE de *S. montana* originaire d'Albanie analysée par De Oliveira *et al.* (2012) mais des différences quantitatives ont été observées. Ces auteurs ont montré que l'HE de *S. montana* originaire d'Albanie est riche en thymol (28,99%), *p* cymène (12%), linalol (11%) et carvacrol (10,71%). Le même résultat a été indiqué par Prieto *et al.* (2007) pour l'HE originaire d'Italie. Cependant Slavkovska *et al.* (2001) ont révélé que l'HE de *S. montana* originaire de la Serbie est caractérisée par sa richesse en linalol (22,8%) et *p* cymène (12%) alors que le thymol ne représente que 0,7% de la composition chimique totale de cette huile. Selon Arab *et al.* (2014) l'HE de *S. montana* originaire d'Algérie (Tizi-Ouzou) est de chemotype carvacrol (20,85%). Le même résultat a été signalé par Trifan *et al.* (2015) et Nemati *et al.* (2018). Ces auteurs ont noté que les HEs de *S. montana* d'Iran et de la Roumanie sont dominées par le carvacrol avec des valeurs de 83,4 et 63,40% respectivement.

Au cours d'une étude sur l'HE de la même espèce, Mirjana *et al.* (2004) ont montré que la composition chimique de *S. montana* est influencée par l'origine géographique. En Yougoslavie, de grandes variabilités qualitative et quantitative a été observée dans la composition chimique de l'HE de *Satureja montana* provenant de cinq régions différentes (Stanic *et al.*, 1991).

1.3. Composition chimique de l'HE de *Pistacia lentiscus*

La composition chimique de l'HE de lentisque est illustrée par le chromatogramme de la **Figure 19** et les composés identifiés sont reportés dans le **Tableau 8**.

Les 23 composés identifiés correspondent à une teneur de 90,07% de l'ensemble de l'HE obtenue. Nous remarquons une dominance des hydrocarbures monoterpéniques (66,95%) et des monoterpènes oxygénés (14,88%), suivis des hydrocarbures sesquiterpéniques (6,52%) et des sesquiterpènes oxygénés (1,22%) (Tableau 8).

Cette HE est à majorité monoterpénique (81,01%), avec une prépondérance de α pinène (19,86%), limonène (13,10%) et du β -myrcène (12,13%), suivis du *p*-cymène (9,59%), terpinène-4-ol (6,98%), β -pinène (6,11%), α -terpinéol (4,09%). Ces mêmes composés ont été identifiés dans les HEs de *P. lentiscus* provenant de différentes régions d'Italie (Barra *et al.*, 2007). Ces auteurs ont montré que ces HEs contiennent l' α pinène (14,8–22,6%), β -myrcène (1–19,4%), *p*-cymène (1,6–16,2%), terpinène-4-ol (14,2–28,3%).

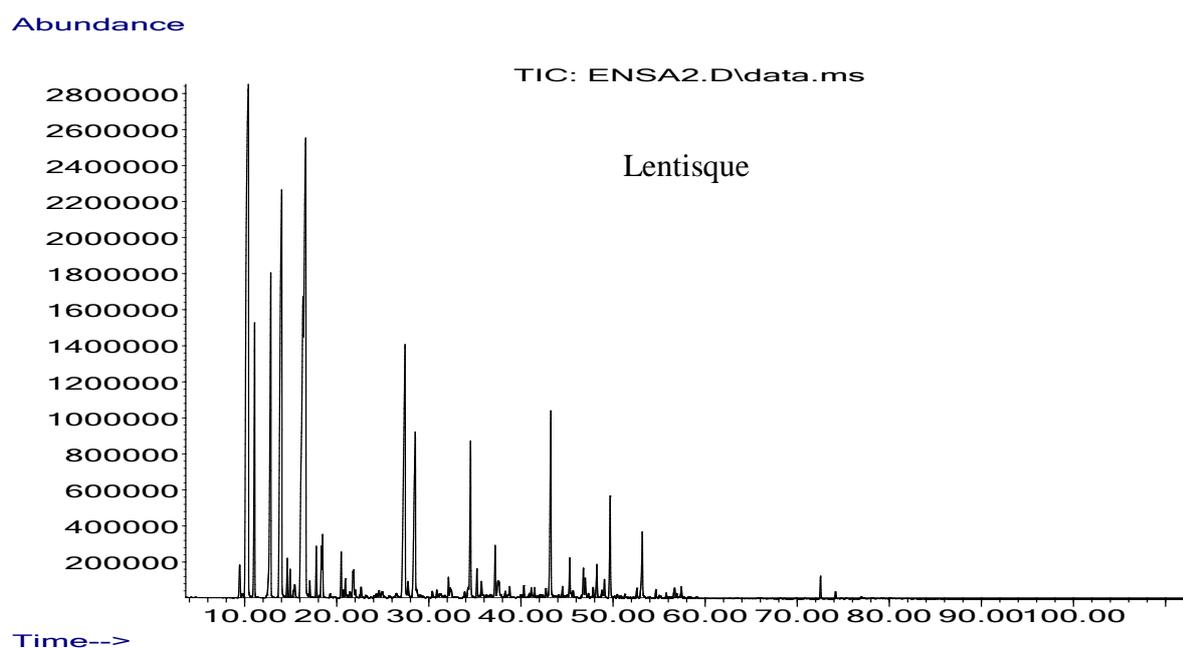


Figure 19: Chromatogramme CPG/SM de l'HE de lentisque

Tableau 8: Composition chimique de l'HE de *Pistacia lentiscus*

N°	Constituants	TR*	IR**	%	Type	Formule
1	Tricyclène	9,46	923,2	0,55	Autres	C ₁₀ H ₁₆
2	α-pinène	10,39	936,1	19,86	MT	C ₁₀ H ₁₆
3	Camphène	11,07	950,3	3,63	MT	C ₁₀ H ₁₆
4	β-pinène	12,82	977,7	6,15	MT	C ₁₀ H ₁₆
5	β-myrcène	14,00	989,2	12,10	MT	C ₁₀ H ₁₆
6	α-phellandène	14,62	1004,1	0,50	MT	C ₁₀ H ₁₆
7	p-cymène	16,33	1024,3	9,60	MT	C ₁₀ H ₁₄
8	Limonène	16,61	1029,5	13,10	MT	C ₁₀ H ₁₆
9	cis β-ocimène	17,78	1047	0,61	MT	C ₁₀ H ₁₆
10	γ-terpinène	18,45	1059,7	0,77	MT	C ₁₀ H ₁₆
11	α-terpinolène	20,48	1086,9	0,58	MT	C ₁₀ H ₁₆
12	Isovalérate d'isopentyle	21,83	1103,6	0,65	MO	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
13	Terpinène-4-ol	27,40	1177,1	6,98	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
14	α-terpinéol	28,52	1189,7	4,09	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
15	Acétate d'endobornyle	34,52	1283,5	2,47	MO	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
16	Acétate de myrtenyle	37,20	1328,6	0,69	MO	C ₁₂ H ₁₈ O ₂
17	trans-Caryophyllène	43,24	1420,1	3,27	ST	C ₁₅ H ₂₄
18	α-humulène	45,30	1453,1	0,63	ST	C ₁₅ H ₂₄
19	α-amorphène	46,78	1482,4	0,50	ST	C ₁₅ H ₂₄
20	α-muuroène	48,24	1498,3	0,57	ST	C ₁₅ H ₂₄
21	δ-cadinène	49,68	1523,2	1,55	ST	C ₁₅ H ₂₄
22	Oxyde de caryophyllène	53,17	1580,6	1,22	STO	C ₁₅ H ₂₄ O
Total				90,07%		
Monoterpènes (MT)				66,90%		
Monoterpènes Oxygénés (MO)				14,88 %		
Sesquiterpènes (ST)				6,52%		
Sesquiterpènes Oxygénés				1,22%		
Autres				0,55%		

*TR: Temps de Rétention; **IR: Indice de Rétention

En effet, Negro *et al.* (2015) ont montré que le profil chimique de 21 échantillons de *P. lentiscus* de différentes régions d'Italie est très variable. Quatre chymotypes ont été identifiés: terpinène-4-ol/ α pinène, β -caryophyllène/cadinène/ α pinène, β -Myrcène/cadinène/ α -pinène. C'est le cas aussi pour l'HE *P. lentiscus* de l'Algérie (Romani *et al.*, 2002). Amhamdi *et al.* (2009) ont montré que l'HE de *Pistacia lentiscus* du Maroc est dominée par le myrcène (39,2%). Cependant terpinène-4-ol (17,3-34,7%) est le constituant principal de l'HE *Pistacia lentiscus* provenant de deux régions d'Algérie (Benyoussef *et al.*, 2005).

1.4. Composition chimique de l'HE d'*Inula graveolens*

La composition chimique de l'HE d'inule est illustrée par le chromatogramme (**Figure 20**) et les composés identifiés sont reportés dans le **Tableau 9**.

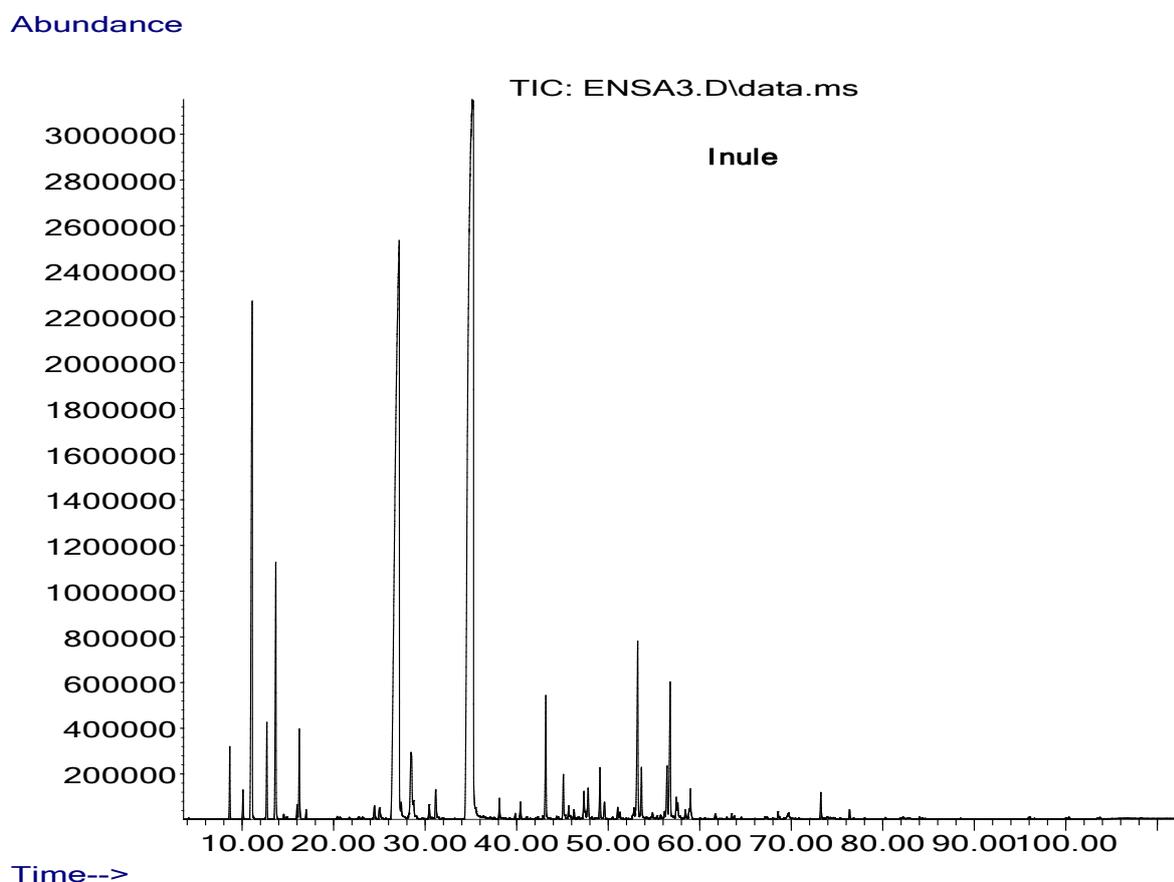


Figure 20: Chromatogramme CPG/SM de l'HE d'inule

Tableau 9: Composition chimique de l'HE d'*Inula graveolens*

N°	Constituants	TR* (min)	IR**	%	Type	Formule
1	Santoline	8,649	907,4	0,55	MT	C ₁₀ H ₁₆
2	α-pinène	10,095	936	0,25	MT	C ₁₀ H ₁₆
3	Camphène	11,088	950,3	7,11	MT	C ₁₀ H ₁₆
4	β-pinène	12,702	977	0,85	MT	C ₁₀ H ₁₆
5	2-Oxabicyclo[2.2.2]oct-5-ene, 1,3, 3-triméthyle	13,671	-	2,62	MO	C₁₀H₁₈O
6	Yomogi alcool	14,553	996,3	0,04	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
7	P- Cymène	16,013	1024,3	0,14	MT	C ₁₀ H ₁₄
8	Limonène	16,249	1029	0,87	MT	C ₁₀ H ₁₆
9	2,7-dimethyl-4(E),6-octadiène-2-ol	17,001	-	0,09	Autres	CH ₂ =CHCH ₂ CH=C(CH ₃) ₂
10	Camphore	24,462	1143,4	0,19	MO	C ₁₀ H ₁₆ O
11	Méthyle-2-buten-1-ol	25,011		0,20	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
12	Bornéol	27,146	1166,2	27,98	MO	C₁₀H₁₈O
13	Terpène-4-ol	27,387	1177,1	0,23	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
14	β-fenchole terpénole	28,472	1189,7	1,41	MO	C ₁₀ H ₁₈ O
15	Trans-p-menth-2-en-1,8-diol	28,717	-	0,22	MO	C ₁₀ H ₁₈ O ₂
17	Méthyle ether de thymol	31,156	1234,3	0,35	MO	C ₁₁ H ₁₆ O
18	Acétate de l-Bornyle	35,224	1283,5	44,61	MO	C₁₂H₂₀O₂
19	Thymol	36,332	1290,1	0,05	MO	C ₁₀ H ₁₄ O
20	Acétate de trans-carvyle	38,115	1336,6	0,20	MO	C ₁₂ H ₁₈ O ₂
21	Acétate de neryle	39,846	1362,9	0,05	MO	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
22	Trans-Caryophyllène	43,185	1420,1	1,31	ST	C₁₅H₂₄
23	1-Phenyl-1,2-propanedione	45,104	-	0,51	Autres	C ₉ H ₈ O ₂
24	Aromadendrène	45,687	1440,6	0,20	ST	C ₁₅ H ₂₄
25	α-muuroène	46,270	1498,3	0,11	ST	C ₁₅ H ₂₄
26	γ-cadinène	49,104	1513,3	0,53	ST	C ₁₅ H ₂₈
27	δ-cadinène	56,772	1532,2	1,75	ST	C₁₅H₂₄
28	Oxyde caryophyllène	63,490	1580,6	0,06	STO	C ₁₅ H ₂₆ O
29	Patchoulane	69,721	-	0,16	STO	C ₁₅ H ₂₄ O
Total				92,64%		
Monoterpènes(MT)				9,77%		
Monoterpènes oxygénés(MO)				78,15%		
Sesquiterpènes (ST)				3,90%		
Sesquiterpènes Oxygénés				0,22%		
Autres				0,60 %		

TR*: Temps de Rétention; IR**: Indice de Rétention

La CG/MS a permis d'identifier 29 composés, représentant 92,64% de la composition totale de cette HE. Cette huile est essentiellement riche en monoterpènes oxygénés (78,15%). Elle renferme de l'acétate de bornyle (44,61%) et de bornéol (27,98%) en quantités

appréciables, formant ainsi 72,59 % de la composition globale; elle renferme aussi en quantité moins importante de camphène (7,11%), du δ -cadinène (1,75%), de trans-caryophyllène (1,31%) et du β -fenchol terpinéol (1,14 %) (**Tableau 9**). Ces résultats concordent avec ceux de Blanc *et al.* (2004).

Les mêmes constituants ont été identifiés dans l'HE de *I. graveolens* originaire d'Iran mais une différence en teneur a été remarquée (Mirza et Ahmadi, 2000). Ces auteurs ont signalé que l'espèce d'Iran est composée principalement de bornéol (60,7%), β -caryophyllène (8,3%) et de l'acétate de bornyle (6,8%). Cependant Berhail Boudouda *et al.* (2013) ont montré que l'HE d'*I. graveolens* cueillie en Algérie et obtenue par hydrodistillation est caractérisée par la présence d'acétate d'isobornyle (50,8%), bornéol (18,3 %) et de τ -cadinol (6,2%).

Petropoulou *et al.* (2004) qui ont travaillé sur la même espèce provenant de Grèce ont signalé qu' ϵ -cadinol est le composé majoritaire (30,2%). Tandis que Boudkhili *et al.* (2011) ont signalé que le bornéol est le composé majoritaire (7,6%) de l'HE d'*I. graveolens* provenant du Maroc .

En Jordanie, une grande variabilité qualitative et quantitative a été observée, selon l'étude de Bakeer, (2009), l'HE l'*I. graveolens* était caractérisée par la dominance des monoterpènes oxygénés dont le pourcentage augmentait selon la période de collection (de 86,5% en août à 93,7% en janvier). Simultanément, le pourcentage d'hydrocarbures sesquiterpéniques et de monoterpène ont été réduits de 2,9% à zéro et de 4,4% à 1,6%, respectivement. Cependant, l'Acétate de bornyle était le composant principal durant tout le cycle végétatif.

Plus de 20 composés ont été identifiés dans *I. graveolens* d'Iran. Les constituants majeurs se sont révélés être le 1,8-cinéol (54,89%), *P*-cymène (16,20%), β -pinène (6,94%) et bornéol (5,44%) (Aghel *et al.*, 2011).

2. Evaluation de l'activité antioxydante des HEs: Méthode DPPH•

Afin d'estimer l'activité antioxydante des HEs de *Laurus nobilis*, *Satureja montana*, *Pestacia lentiscius* et d'*Inula graveolens*, le test de piégeage du radical DPPH• a été effectué et les résultats obtenus lors de ce test sont comparés avec l'ant-ioxydant synthétique BHT

(témoin positif). L'évaluation de l'activité de piégeage du radical DPPH• par les HEs et le BHT sont résumés dans le **Tableau 10**.

Tableau 10: Activité de piégeage du radical DPPH• par les HEs testées

concentration (mg/L)	Activité de piégeage du radical DPPH• (%)				
	<i>L. nobilis</i>	<i>S. nontana</i>	<i>P. lentiscus</i>	<i>I. graveolens</i>	BHT
10	19,93 ± 0,76	17,16 ± 0,79	12,07 ± 0,12	9,46 ± 0,33	31,40 ± 0,70
20	39,96 ± 0,72	31,86 ± 0,10	25,42 ± 0,24	18,86 ± 0,55	42,14 ± 0,48
50	81,09 ± 0,92	55,08 ± 0,30	50,69 ± 0,87	37,20 ± 0,28	62,49 ± 0,69
100	91,38 ± 0,34	71,33 ± 0,33	12,84 ± 0,08	55,80 ± 0,42	73,15 ± 0,85
IC ₅₀	24,73 ± 0,42	40,86 ± 0,47	50,78 ± 1,52	84,15 ± 1,18	27,99 ± 0,66

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50% des radicaux

Le **Tableau 10** montre que l'activité de piégeage du radical DPPH• par les HEs est proportionnelle à la concentration utilisée. L'activité de piégeage du radical DPPH• par l'HE de laurier est nettement plus importante que celle des autres HEs quelque soient les concentrations considérées.

De l'analyse de ce tableau, il en ressort qu'à des concentrations variant de 10 à 50 mg/L, le pouvoir de piégeage du radical DPPH par l'HE de laurier augmente assez rapidement d'une valeur de 19,93% pour une dose de 10 mg/L à une valeur de 81,09 % pour une dose de 50 mg/L. Au delà de 20 mg/L une augmentation relativement considérable de l'activité de réduction du DPPH a été observée, avec des valeurs qui dépassent celles du BHT, dont la valeur moyenne maximale est de 91,38 pour une concentration de 100 mg/L. La détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres (IC₅₀) montre qu'une concentration moyenne de 27,80 ± 0,26 mg/L du BHT permet la neutralisation et la stabilisation de la moitié des radicaux libres présents dans le milieu; tandis que huile étudiée montre une concentration plus faible (24,73 ± 0,24 mg/L). Des études similaires réalisées par Polieto *et al.* (2007) ont démontré le potentiel antioxydant de l'HE de *L. nobilis* de la Croatie. L'activité de réduction du radical DPPH était de 89,60%. Ozcan *et al.* (2010) ont révélé les mêmes résultats; ces auteurs ont noté une bonne activité de réduction du radical DPPH (94,65%) pour l'HE de *L. nobilis* originaire de la Turquie. Selon la littérature scientifique, l'activité antioxydante de cette HE est due probablement aux composés majoritaires tels que le 1,8-cineol (Maestri *et al.*, 1997). Elle peut être aussi attribuée aux composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (Sidi Boulenouar et Ziane, 2003). La présence de l'eugénol, méthyl eugénol,

elemicine même à faible concentration dans l'HE de laurier étudiée (1,34, 3,7 et 0,07%, respectivement), peuvent expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH•. Ceci a été vérifié par certains auteurs (Damien *et al.*, 2003; Sonavane *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2003). Dans une étude antérieure, l'HE de *L. nobilis* originaire d'El Kala (Algérie) avec prédominance de 1,8 cinéol (36,31%) a montré une activité antioxydante élevée avec un $IC_{50} = 1,55 \pm 0,14$ mg/ml (Ouibrahim *et al.*, 2015). Olfa *et al.* (2011), ont travaillé sur l'activité antioxydante de laurier noble provenant de la Tunisie en séparant les différents organes (feuille, racine et tige), et ont trouvé que l'activité antioxydante mesurée par le test DPPH exprimé en terme d' IC_{50} de l'huile essentielle extraite de feuilles de laurier a été faible (213 µg/ml).

L'HE de *S. montana* possède une activité antioxydante notable, mais elle est moins efficace que celle du BHT dont l' IC_{50} est de $27,99 \pm 0,66$ mg/ml. L' IC_{50} de l'HE de *S. montana* a été estimé à $40,86 \pm 0,47$ mg/ml. Čavar *et al.* (2008) ont noté que l'HE de *S. montana* de la Croatie s'est révélée la plus efficace vis-à-vis du radical DPPH• avec un IC_{50} de $5,49 \pm 0,26$ mg/ml. En ce qui concerne l'huile essentielle testée, l'activité antioxydante observée peut être attribuée à la présence de thymol (28,36%), carvacrol (17,45%), et *p*-cymène (10,91%) qui sont des composés majoritaires de l'huile essentielle étudiée et qui possèdent une forte activité antioxydante d'après Aeschbach *et al.* (1993) et Prieto *et al.* (2007). Les HEs de *S. montana* d'Iran et de la Roumanie qualifiées par les auteurs d'excellents antioxydants, avaient des valeurs d' IC_{50} respectives de $243,0 \pm 4,3$ et $32,42 \pm 0,459$ µg/mL (Trifan *et al.*, 2015; Nemati *et al.*, 2018).

L' IC_{50} obtenu pour l'HE de *P. lentiscus* est de $50,78 \pm 1,52$ mg/L. Cette valeur est supérieure à celle du BHT ($27,99 \pm 0,66$ mg/L; **Tableau 10**). Barchouch *et al.* (2015) ont signalé des valeurs d' IC_{50} de 60 et 110 µg/ml en étudiant l'effet antioxydant de l'HE de *P. lentiscus* de la Tunisie. En effet, Arab *et al.* (2014) ont démontré qu'une concentration en HE de *P. lentiscus* = 0,2 mg/ml a pu réduire de 40% le radical DPPH•.

Par ailleurs, les travaux réalisés sur cette même espèce ont révélé que l'HE de lentisque possède une activité antioxydante considérable (Hamiani *et al.*, 2016). Negro *et al.* (2015) ont montré dans leur étude menée sur l'HE de lentisque de différentes régions d'Italie que l'activité de réduction du DPPH par cette huile varie entre 21 à 35%.

L'activité de piégeage du radical DPPH• par l'HE de *I. graveolens* est donnée dans le **Tableau 10**. De l'analyse de ce tableau, il en ressort que une concentration de 100 mg/L a bien réduit de radical DPPH (73,15%). Par contre Mahboubi, (2011) a montré que pour une concentration = 10 µl d'huile de cette même espèce, l'activité de piégeage de radical DPPH• était de 32,3%.

La détermination des IC₅₀ des différentes HEs et du BHT permet de conforter l'ensemble de nos observations. Etant donné que les plus faibles valeurs d'IC₅₀ indiquent les plus grandes activités antioxydantes, on peut conclure que l'HE de laurier possède de loin la plus forte activité (IC₅₀ = 24,73 mg/L), suivi par le BHT et la sarriette (IC₅₀ = 27,99 mg/L et 40,86 mg/L, respectivement), puis lentisque (50,78 mg/L) et l'inule (IC₅₀ = 84,15 mg/L).

Des études similaires menées sur des huiles essentielles de différentes plantes dans différentes régions du monde ont attribué ces différences d'activités antioxydantes à la composition chimique de ces dites huiles (Wang *et al.*, 2008; Oke *et al.*, 2009; Djenane *et al.*, 2012; Djenane, 2015). La teneur ainsi que la nature des composés majoritaires semblent donc déterminantes de l'intensité de piégeage du radical DPPH•.

3. Caractéristiques initiales de l'HOEV étudiée

Les caractéristiques initiales de l'huile d'olive étudiée sont récapitulées dans le **Tableau 11**.

Sur la base de l'acidité, l'huile d'olive de la variété *Chemlal* analysée dans cette étude semble se classer dans la catégorie « Huile d'olive vierge extra» puisque la teneur en acide gras libre des échantillons analysés est inférieure de 0,8% (Règlement Européen (CEE) n°1348/2013), ainsi, cette huile a montré un K₂₃₂(2,23), K₂₇₀ (0,14) et un indice de peroxyde (2,5) les plus faibles.

Les teneurs en caroténoïdes (1,55 mg/Kg) et en chlorophylles totales (2,60 mg/Kg) obtenues pour cette HOEV pourraient nous renseigner sur la maturité des olives utilisées pour l'extraction de l'huile d'olive. Borello et Domenici, (2019) ont démontré que la teneur en pigments dans l'huile d'olive dépend d'un certain nombre de facteurs, tels que, la variété, la période de récolte des olives, et l'origine géographique. Cependant, une teneur plus élevée en composés phénoliques de l'OHEV étudiée a été observée, ce paramètre est influencé par les facteurs agronomiques, les systèmes d'extraction et la variété (Lavelli *et al.*, 2006; Méndez et

Falqué, 2007). Selon Del Monaco *et al.* (2015), la composition phénolique de l'huile d'olive est tributaire de l'altitude de la région de production; à une altitude de 300 m, la teneur en composés phénoliques de la variété *Lavagnina* est de l'ordre de 1030 ± 14 mg/Kg tandis que cette teneur est plus faible à 50 m d'altitude (290 ± 35 mg/Kg).

Tableau 11: Caractéristiques initiales de l'huile d'olive étudiée

Les caractéristiques physicochimiques	
Acidité (%)	0,28 ± 0,01
Indice de peroxyde (meqO ₂ /kg)	2,50 ± 0,21
K ₂₃₂	2,23 ± 0,07
K ₂₇₀	0,14 ± 0,00
La composition en acides gras (%)	
Acide myristique C ₁₄ :0	0,01
Acide palmitique C ₁₆ :0	15,08
acide palmitoléique C ₁₆ :1	2,05
Acide heptadécanoïque C ₁₇ :0	0,10
Acide heptadécénoïque C ₁₇ :1	0,09
Acide stéarique C ₁₈ :0	2,37
Acide oléique C ₁₈ :1	61,69
Acide linoléique C ₁₈ :2	16,70
Acide linoléique C ₁₈ :3	0,98
Acide arachidique C ₂₀ :0	0,49
Acide gadoléique C ₂₀ :1	0,30
AGS	18,05
AGI	81,81
AGMI	64,13
AGPI	17,68
Composition en pigments (mg/Kg)	
Caroténoïdes	1,55 ± 0,02
Chlorophylles	2,60 ± 0,07
Composition phénolique (mg/Kg) et l'activité antioxydante (%)	
Composés phénoliques	1036,72 ± 0,26
Activité antioxydante (DPPH)	95,45 ± 0,28

Ces mêmes auteurs ont noté des différences significatives dans la teneur en polyphénols entre les variétés Italienne *Taggiasca* (490 ± 18 mg/Kg) et *Dilarino* ($218 \pm 0,69$ mg/Kg). L'huile analysée dans cette étude est caractérisée par sa richesse relative en acides linoléique et palmitique et par leur faible teneur en acide oléique, contrairement aux huiles espagnoles (Gómez-Alonso *et al.*, 2007; Guil-guerrero et Urda-Romacho, 2009).

L'huile d'olive étudiée est de type insaturé (81% d'acides gras insaturés) et peut être classée dans la catégorie oléique/linoléique, cette forte proportion en acides gras insaturés lui confère des propriétés bénéfiques pour la santé. Elle est composée majoritairement d'acides oléique (61,69%), linoléique (16,78%) et palmitique (15,08%). Ces résultats concordent avec ceux d'Issaouia *et al.* (2019). Ces auteurs ont signalé que l'huile d'olive Tunisienne de la variété "Chemlali" est composée de 61,57% d'acide oléique, 16,02% d'acide linoléique et 15,96% d'acide palmitique.

4. Complexe HOEV/HE durant le "Retail-display"

4.1. Acidité

L'acidité (exprimée en % d'acide oléique) et la comparaison qualitative des échantillons d'huile d'olive analysés sont énumérés dans le **Tableau 12**

L'acidité de tous les échantillons de l'HOEV étudiés reste toujours inférieure à 0,8% limite indiquée par l'UE Règlement 1348/2013 pour huile d'olive extra-vierge. Cependant, ce paramètre avait une tendance à augmenter durant la période de "Retail-display". Toutes fois, l'acidité du complexe HOEV/*L. nobilis* a montré une augmentation significative ($p < 0,05$) après 60 jours en "Retail-display". Asensio *et al.* (2011) ont démontré l'effet de l'HE d'*Origanum vulgare L.* sur les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive. Dans cette étude, l'ajout de cette HE n'a pas causé l'augmentation de l'acidité de l'huile d'olive conservée dans différentes conditions de lumière et d'obscurité après 28 jours. Cependant Saavedra *et al.* (2015) ont montré que l'acidité de l'huile d'olive additionnée de l'HE de *Thymbra capitata* a augmenté après 21 jours de stockage à une température de 60 °C. Par ailleurs, Sousa *et al.* (2015), ont constaté que l'acidité de l'huile d'olive additionnée de poivron, de piment rouge séché, de laurier et des épices d'origan à une concentration de 10 g/l n'a pas augmenté d'une façon significative ($p > 0,05$), tandis que l'addition d'ail frais a engendré une augmentation significative d'acidité (de 0,6 à 0,8%) après 3 mois de stockage à température ambiante.

Au cours d'une étude menée sur l'effet de l'emballage sur la qualité de l'huile d'olive pendant le stockage, Guil-Guerrero et Urda-Romacho, (2009) ont noté une légère augmentation de l'acidité de plusieurs variétés d'huile d'olive extra-vierge Italiennes conditionnées dans des verres opaque ou transparent après 12 mois de stockage. Par contre

Tableau 12: Evolution de l'acidité de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"

Conditionnement	Retail-display (jours)	Acidité (% d'acide oléique)					
		Obscurité			Lumière		
		HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>	HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>
T₀		0,28 ± 0,01					
PET	30	0,30 ± 0,01	0,28 ± 0,00	0,24 ± 0,014	0,29 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,28 ± 0,02
	60	0,39 ± 0,02	0,35 ± 0,02	0,42 ± 0,010	0,37 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00
	90	0,52 ± 0,05	0,48 ± 0,21	0,53 ± 0,021	0,54 ± 0,00	0,50 ± 0,03	0,74 ± 0,01
PETO	30	0,31 ± 0,02	0,28 ± 0,00	0,25 ± 0,020	0,28 ± 0,01	0,25 ± 0,00	0,28 ± 0,02
	60	0,33 ± 0,03	0,42 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,34 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,44 ± 0,02
	90	0,44 ± 0,01	0,42 ± 0,02	0,49 ± 0,010	0,42 ± 0,00	0,56 ± 0,02	0,53 ± 0,02
VT	30	0,30 ± 0,03	0,28 ± 0,00	0,24 ± 0,00	0,27±0,010	0,24 ± 0,00	0,28 ± 0,01
	60	0,44 ± 0,03	0,42 ± 0,00	0,31 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,24 ± 0,04	0,56 ± 0,01
	90	0,50 ± 0,02	0,52 ± 0,04	0,56 ± 0,01	0,56 ± 0,04	0,53 ± 0,04	0,56 ± 0,04
VO	30	0,27 ± 0,00	0,28 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,26 ± 0,00	0,24 ± 0,00	0,28 ± 0,00
	60	0,48 ± 0,02	0,39 ± 0,03	0,29 ± 0,02	0,33 ± 0,00	0,24 ± 0,00	0,49 ± 0,00
	90	0,53 ± 0,02	0,43 ± 0,02	0,46 ± 0,02	0,64 ± 0,05	0,67 ± 0,02	0,53 ± 0,02

PETT: polytéraphtalated'éthyène transparent; PETO: polytéraphtalate d'éthyène opaque VT: verre transparent; VO: verre opaque; 30, 60,90 période de "Retail-display"; T₀: temps initial

Fadda *et al.* (2012) ont enregistré une augmentation d'acidité de l'huile d'olive conditionnée dans des bouteilles en verre opaques, stockées dans l'obscurité à une température ambiante (20 °C). Savarese *et al.* (2013) ont rapporté que l'acidité de l'huile d'olive extra-vierge conditionnée dans le PET transparent ou rouge et conservée dans différentes conditions de lumière et d'obscurité n'a pas augmenté pendant une période de 12 mois. Par contre Juhaimi *et al.* (2016) ont noté aussi une augmentation variant 0,78 à 0,89 mg KOH/g d'huile de l'acidité dans les échantillons de l'huile d'olive enrichis par l'HE de romarin et conditionnés dans des bouteilles en verre de différentes couleurs (rouge, jaune, vert et transparent) (entre) après 90 jours de stockage.

La stabilité oxydative d'autres huiles végétales a été étudiée dans plusieurs travaux de recherche. L'étude de l'effet de l'incorporation des HEs de gingembre (*Zingiber officinale*) et de poivre noir (*Piper nigrum*) sur la stabilité thermo-oxydative de l'huile de noix a révélé une augmentation de l'acidité de l'huile de coco (de 0,96 à 1,06 dans l'huile de noix enrichie par l'HE de *Piper nigrum* et de 0,95 à 1,04 dans l'huile de noix enrichie par l'HE de *Zingiber officinale*) après 7 semaines de stockage à température de 60 °C (Chandran *et al.*, 2016).

Par ailleurs, les résultats obtenus ont montré des différences significatives ($p < 0,05$) de l'acidité entre les huiles conditionnées dans les quatre types d'emballages. Selon Pristouri *et al.* (2010), l'acidité de l'huile d'olive pourrait être affectée par le type d'emballage, la lumière, l'oxygène, la température, et la durée de stockage. Ghanbari Shendi *et al.* (2018) ont noté que l'acidité de l'huile d'olive de la variété saurani (Turquie) conditionnée dans des bouteilles en verre opaque a enregistré une augmentation de 0,3 à 0,6% après 12 mois de stockage. Cependant Sanmartin *et al.* (2018) ont montré que le stockage de l'huile d'olive dans un emballage en verre vert et en fer blanc pour une période de 125 jours n'avait aucun effet sur l'acidité.

4.2. Indice de peroxyde

L'indice peroxyde permet d'évaluer au sein d'une huile la quantité de peroxydes et d'hydroperoxydes (produits d'oxydation primaires). L'indice de peroxyde des différents échantillons de l'huile d'olive analysés est reporté dans le **Tableau 13**. Les résultats obtenus révèlent que l'indice de peroxyde est proportionnel à la durée de "*Retail-display*". Néanmoins, les valeurs restent inférieures à la limite normative indiquée par le règlement 1348/UF, 2013 pour l'huile d'olive vierge et vierge-extra (20 mEq O₂/kg). Le même résultat a été trouvé par Yang *et al.* (2016) en étudiant l'effet d'extrait de romarin sur la stabilité oxydative de l'huile de soja, de son de riz et de coton. Ces derniers ont signalé une augmentation de l'IP de ces huiles après 24 jours de stockage. De l'analyse de tableau 13, il en ressort que les échantillons de l'HOEV conditionnés dans des emballages opaques en plastique ou en verre (PETO et VO) ont enregistré des valeurs de l'IP les plus faibles à la fin de la période de "*Retail-display*" (90^{ème} jour) en comparaison avec les emballages transparents (PETT et VT), ce qui suggère que la lumière pourrait exercer un effet pro-oxydant. Le type d'emballage, la température, la lumière et la durée de stockage ont un impact majeur sur la valeur de l'IP (Del Nobile *et al.*, 2003; Kanavouras et Coutelieris, 2006; Pristouri *et al.*, 2010; Rizzo *et al.*, 2014; Gargouri *et al.*, 2015).

Au cours d'une étude menée sur l'effet d'emballage et de température sur la durée de vie de l'HOEV, Sanmartin *et al.* (2018) ont noté que l'IP de l'huile d'olive conditionnée dans le fer blanc à une température de 26 °C est supérieur à 20 mEq. O₂/Kg après 125 jours de stockage tandis que cette valeur était inférieure lorsque l'huile d'olive est conditionnée dans le verre de couleur verte dans les mêmes conditions. Gharbi Shendi *et al.* (2018) ont signalé que l'IP de l'huile d'olive conservée dans des bouteilles en verre opaque a augmenté de 17,9 à 26,6 mEq. O₂/Kg après sept mois de stockage à température ambiante.

Tableau 13: Evolution de l'indice de peroxyde de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display".

		Indice de peroxyde (mEq. O ₂ /Kg)					
Conditionnement	Retail-display (jours)	Obscurité			Lumière		
		HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>	HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>
T₀		2,50 ± 0,21					
PETT	30	3,00 ± 0,15	3,17 ± 0,32	7,00 ± 0,28	4,07 ± 0,07	5,00 ± 0,00	7,00 ± 0,14
	60	7,00 ± 0,11	6,01 ± 0,26	10,99 ± 0,01	10,00 ± 0,70	10,00 ± 0,00	13,00 ± 0,31
	90	14,80 ± 0,28	13,85 ± 1,34	15,50 ± 0,70	16,00 ± 0,84	16,00 ± 0,28	17,00 ± 0,62
PETO	30	3,00 ± 0,14	2,70 ± 0,28	4,00 ± 0,07	3,00 ± 0,05	3,00 ± 0,03	3,00 ± 0,02
	60	7,00 ± 0,35	6,11 ± 0,30	9,27 ± 0,12	10,00 ± 0,84	8,00 ± 0,14	10,00 ± 0,90
	90	10,90 ± 0,42	9,35 ± 0,35	12,00 ± 0,56	13,00 ± 0,63	13,00 ± 0,49	12,70 ± 0,56
VT	30	4,00 ± 0,18	4,54 ± 0,45	7,00 ± 0,02	4,93 ± 0,09	3,00 ± 0,00	6,00 ± 0,16
	60	10,00 ± 0,31	11,06 ± 0,33	11,90 ± 0,14	9,33 ± 0,12	13,00 ± 0,49	9,00 ± 0,36
	90	14,00 ± 0,32	12,41 ± 0,58	14,00 ± 0,28	17,00 ± 0,71	16,00 ± 0,21	13,80 ± 0,42
VO	30	3,00 ± 0,12	2,90 ± 0,29	4,17 ± 0,24	3,00 ± 0,09	3,00 ± 0,01	4,00 ± 0,14
	60	6,44 ± 0,33	5,15 ± 0,21	10,09 ± 0,57	11,00 ± 0,63	10,00 ± 0,07	7,00 ± 0,11
	90	10,00 ± 0,26	8,85 ± 0,21	11,00 ± 0,11	15,00 ± 0,62	13,00 ± 0,35	13,00 ± 0,45

PETT: polytéréphtalate d'éthylène transparent; PETO: polytéréphtalate d'éthylène opaque VT: verre transparent ; VO: verre opaque ; 30, 60,90 période de "Retail-display"; T₀: temps initial

Selon Esposto *et al.* (2017) la lumière pourrait affecter la qualité de l'huile d'olive malgré l'utilisation de l'emballage en verre teinté. Ces auteurs ont signalé que l'IP de l'HOEV dépasse la limite (20 mEq O₂/kg) indiquée par le règlement 1348/UF, (2013) pour l'HOEV après 165 jours de "Retail-display" à température ambiante. Juhaimi *et al.* (2016) ont noté aussi une augmentation de l'IP des échantillons de l'huile l'olive enrichis par l'HE de romarin et conditionnés dans des bouteilles en verre de différentes couleurs (rouge, jaune, vert et transparent) (de 32,75 à 79,46 meq O₂/kg) après 90 jours de stockage.

L'étude de l'évolution de l'IP dans les différents échantillons en fonction des différentes conditions (présence HE, type emballage, conditions de stockage) a montré des différences significatives ($p < 0,05$). L'ajout de l'HE de laurier en combinaison avec le verre opaque a réduit la formation de peroxydes de l'HOEV exposée à la lumière, ce qui reflète l'effet antioxydant de cette HE. Ceci pourrait être expliqué par la présence de certains composés tels que l'eugénol, le méthyleugénol, l'elemicine, le 1,8-cinéol, qui sont rapportés comme des antioxydants efficaces (Aeschbach *et al.*, 1993; Maestri *et al.*, 1997; Prieto *et al.*, 2007). Au cours d'une étude menée sur la stabilité de l'huile d'olive pendant le stockage en présence de l'HE de *Thymbra capitata*, Saavedra *et al.* (2015), ont signalé qu'aucune différence significative de l'IP n'a été observée entre les huiles traitées et non traitées. Cependant Asensio *et al.* (2011) ont noté que les échantillons de l'huile d'olive aromatisés par l'HE d'*Origanum vulgare L.* ont enregistré un IP le plus faible comparativement aux échantillons de l'huile d'olive non aromatisés après 28 jours de stockage dans différentes conditions de lumière et d'obscurité. Esmaili *et al.* (2018) ont constaté un IP cinq fois (11,49) plus faible dans l'huile de lentisque enrichie par l'HE de *Rosmarinus officinalis* et trois fois (16,31) plus faible dans l'huile de lentisque enrichie par l'HE de *Menta piperita* comparativement à l'huile de lentisque non enrichie (51,17) après 80 jours de stockage dans l'obscurité à température de 60 °C.

Dans des études antérieures réalisées sur l'effet d'incorporations d'extraits et des HES de plantes sur la composition chimique, la qualité et la stabilité oxydative d'autres huiles végétales, Asnaashari *et al.* (2016) et Chandran *et al.* (2016) ont montré que l'IP de l'huile de maïs et de noix de coco additionnées des HES de gingembre (*Zingiber officinale*), de poivre noir (*Piper nigrum*) et de l'extrait de la mûre (*Rudus plicates*), augmente durant la thermo-oxydation.

4.3. Extinction spécifique (K₂₃₂ et K₂₇₀)

La formation des diènes et triènes conjugués est exprimée par l'évolution des indices K₂₃₂ et K₂₇₀ représentée sur **les Tableaux 14 et 15**.

L'oxydation, indiquant la présence des diènes (K₂₃₂) et des triènes (K₂₇₀) conjugués et, selon l'UE (Règlement Européen n° 1348/2013), ces deux indices doivent être inférieurs respectivement à 2,5 et 0,22 pour les huiles d'olive vierges extra.

L'examen des résultats relatifs à l'évolution du K₂₃₂ (**Tableau 14**) au cours de la période de "*Retail-display*" a permis de montrer que ce paramètre atteint la limite (2,5) indiquée par le Règlement Européen n° 1348/2013 dans tous les échantillons de l'huile d'olive exposés à la lumière; et les échantillons d'HOEV/témoin, l'HOEV/*L. nobilis* et HOEV/*S. montana* conservés dans l'emballage transparent et à l'abri de lumière à partir du premier mois et du deuxième mois pour les échantillons de l'HOEV/*L. nobilis* et HOEV/*S. montana* conservés dans le verre et le PET opaque et à l'abris de la lumière. Ce qui suggère que l'emballage transparent favorise l'oxydation.

L'analyse statistique montre la présence de différences significatives ($p < 0,05$) entre: les conditions en "*Retail-display*" (lumière/obscurité), le type d'huile (aromatisée et non aromatisée), l'emballage et le temps de "*Retail-display*". Néanmoins, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'existe entre l'interaction: emballage/conditions de "*Retail-display*", conditions de "*Retail-display*" / type d'huile, temps/emballage et emballage/conditions de "*Retail-display*" / type d'huile/temps.

D'après les résultats obtenus, il ressort que l'ajout de l'HE améliore la stabilité oxydative de l'huile d'olive conservée à l'abri de la lumière. Ce résultats est en conformité avec les travaux de Arcoleo *et al.* (2009).

Tableau 14: Evolution de K_{232} de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE durant la période "Retail-display".

Conditionnement	Retail-display (jours)	K_{232}					
		Lumière			Obscurité		
		HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>	HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>
T_0	2,23 ± 0,07						
PETT	30	2,91 ± 0,05	2,75 ± 0,03	2,50 ± 0,05	2,67 ± 0,09	2,54 ± 0,17	2,50 ± 0,04
	60	3,03 ± 0,00	2,99 ± 0,00	2,90 ± 0,10	2,73 ± 0,00	2,69 ± 0,13	2,57 ± 0,02
	90	3,03 ± 0,14	3,03 ± 0,04	3,00 ± 0,00	2,80 ± 0,10	2,94 ± 0,09	2,80 ± 0,02
PETO	30	2,90 ± 0,14	2,74 ± 0,04	2,53 ± 0,04	2,62 ± 0,10	2,37 ± 0,14	2,28 ± 0,09
	60	2,91 ± 0,07	2,81 ± 0,06	2,74 ± 0,06	2,70 ± 0,14	2,60 ± 0,04	2,26 ± 0,36
	90	2,99 ± 0,08	2,83 ± 0,01	2,86 ± 0,02	2,79 ± 0,12	2,80 ± 0,08	2,74 ± 0,01
VT	30	2,73 ± 0,04	2,72 ± 0,00	2,52 ± 0,02	2,69 ± 0,05	2,36 ± 0,05	2,62 ± 0,03
	60	2,85 ± 0,06	2,91 ± 0,06	3,00 ± 0,00	2,72 ± 0,01	2,58 ± 0,12	2,32 ± 0,45
	90	2,94 ± 0,15	2,92 ± 0,01	3,04 ± 0,00	2,80 ± 0,13	2,74 ± 0,07	2,77 ± 0,16
VO	30	2,82 ± 0,03	2,75 ± 0,03	2,51 ± 0,01	2,64 ± 0,06	2,27 ± 0,12	2,28 ± 0,11
	60	2,91 ± 0,19	3,03 ± 0,04	2,75 ± 0,05	2,69 ± 0,12	2,55 ± 0,14	2,58 ± 0,11
	90	2,99 ± 0,21	2,83 ± 0,01	2,82 ± 0,02	2,74 ± 0,08	2,69 ± 0,18	2,75 ± 0,01

PETT: polytéréphtalated'éthyène transparent; PETO: polytéréphtalate d'éthyène opaque VT: verre transparent ; VO: verre opaque; 30, 60,90 période de "Retail-display"; T_0 : temps initial

Keramat *et al.* (2017) ont indiqué que l'enrichissement de l'huile d'olive par l'HE de *Rosmarinus officinalis* et *Zataria multiflora* boiss protège contre le processus d'oxydation. Ils ont noté qu'une augmentation de K_{232} a été signalée qu'après 28 jours de stockage à température de 70 °C, et la valeur la plus faible de K_{232} a été enregistrée dans les échantillons de l'huile d'olive enrichie par des HEs à la fin de stockage (42 jours à température de 70 °C).

Asensio *et al.* (2013); ont montré que l'incorporation de l'HE d'origan dans l'huile d'olive a engendré une augmentation de K_{232} après 126 jours de stockage sous la lumière. En accord avec nos résultats, Samaniego Sanchez *et al.* (2012) ont pour leur part suivi l'évolution du K_{232} pour des échantillons d'huile d'olive conditionnés dans différents emballages (PET et le verre) à une température ambiante ou au réfrigérateur (4 °C), et ont enregistré une augmentation de K_{232} . Contrairement à nos résultats, Yildirim (2009) ont signalé des valeurs de K_{232} des huiles d'olive de la Turquie conservées à une température ambiante ou bien au réfrigérateur qui ont frôlé des limites légales après 7 mois de stockage.

L'évolution de K_{270} au cours de la période de "*Retail-display*" est représentée dans le **Tableau 15**. Les valeurs de K_{270} n'ont pas atteint la limite (0,22) indiquée par le Règlement Européen n° 1348/2013 dans tous les échantillons d'huile d'olive analysés.

De l'analyse du tableau 15, il ressort que la valeur de K_{270} est proportionnelle à la durée de "*Retail-display*" dont le K_{270} le plus élevé a été enregistré dans l'HOEV/ témoin/ PETT exposée à la lumière (0,35) à la fin de "*Retail-display*". En accord avec nos résultats, Méndez, et Falqué (2007) ont indiqué dans leur étude menée sur l'effet du temps de stockage et le type d'emballage sur la qualité de l'huile d'olive que le K_{270} a augmenté après 6 mois de stockage dans l'huile d'olive conditionnée dans le verre (de 0,15 à 0,25) et le PET (de 0,15 à 0,30). Caponio *et al.* (2005) ont signalé une augmentation significative de K_{270} . Ces auteurs ont enregistré des valeurs de K_{270} supérieures à la limite légale dans les échantillons de l'huile d'olive exposés à la lumière après 2 mois de stockage, comparativement à K_{270} des mêmes échantillons qui étaient conservés à l'abri de lumière, n'ont pas atteint la limite légale. Le même phénomène a été observé par De la Torre - Roble *et al.*, (2019).

Des différences significatives sont révélées ($p < 0,05$) entre l'emballage, le temps de "*Retail-display*", le type d'huile et les conditions de "*Retail-display*".

Tableau 15: Evolution de K_{270} de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE durant la période de "Retail-display".

Conditionnement	Retail-display (jours)	K_{270}					
		Lumière			Obscurité		
		HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>	HOEV témoin	HOEV/ <i>L. nobilis</i>	HOEV/ <i>S. montana</i>
T_0	0,14 ± 0,00						
PETT	30	0,19 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,19 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,13 ± 0,00
	60	0,29 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,21 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0,19 ± 0,00	0,15 ± 0,00
	90	0,35 ± 0,02	0,20 ± 0,00	0,32 ± 0,00	0,23 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,25 ± 0,00
PETO	30	0,18 ± 0,01	0,15 ± 0,00	0,24 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,00
	60	0,23 ± 0,01	0,19 ± 0,00	0,21 ± 0,01	0,19 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,00
	90	0,25 ± 0,01	0,18 ± 0,00	0,22 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,17 ± 0,01	0,20 ± 0,00
VT	30	0,20 ± 0,01	0,17 ± 0,00	0,19 ± 0,00	0,19 ± 0,01	0,17 ± 0,00	0,16 ± 0,00
	60	0,26 ± 0,01	0,20 ± 0,00	0,23 ± 0,00	0,20 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,00
	90	0,27 ± 0,00	0,18 ± 0,00	0,26 ± 0,00	0,20 ± 0,00	0,20 ± 0,02	0,20 ± 0,00
VO	30	0,19 ± 0,01	0,15 ± 0,00	0,20 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,15 ± 0,00
	60	0,24 ± 0,01	0,18 ± 0,00	0,20 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,14 ± 0,00
	90	0,25 ± 0,01	0,19 ± 0,00	0,26 ± 0,01	0,18 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,00

PETT: polytéréphtalate d'éthylène transparent; PETO: polytéréphtalate d'éthylène opaque; VT: verre transparent; VO: verre opaque; 30, 60, 90 période de "Retail-display"; T_0 : temps initial

4.4. Composition en acides gras

Un paramètre important pour déterminer la stabilité à l'oxydation des huiles d'olives est la composition en acides gras des triglycérides et en particulier leur degré d'insaturation. Il n'existe pas de norme fixant les teneurs minimales en acides gras polyinsaturés pour une huile d'olive, cependant ces acides gras font partie des principaux composés responsables des bienfaits de l'huile d'olive.

L'évolution des teneurs en acides gras des triglycérides en fonction de leur degré d'insaturation au cours de "*Retail display*" est représentée dans le **Tableau 16**. Au bout de la période de "*Retail-display*" (90 jour) une diminution des concentrations des AGS et AGPI a été observée (entre 0,5 à 3%) tandis que une augmentation dans les concentrations en AGMI variant de 1 à 3% a été observée dans tous les échantillons de l'huile d'olive étudiés. Ces résultats sont en accord avec ceux de Okogeri et Tasioula-Margari, (2002); Morello *et al.* (2004) et Guil-Guerrero et Urda-Romacho (2009) qui ont confirmé l'augmentation des concentrations des AGMI comme résultats de la dégradation des AGPI.

Maggio *et al.* (2011) ont remarqué une réduction de 10 à 20% des AGPI de l'huile d'olive durant la thermo-oxydation, celle-ci confirme que les AGPI sont moins résistants à l'oxydation que les AGS et les AGMI.

Il est à noter que la concentration en AGMI des échantillons de l'huile d'olive enrichis par l'HE de laurier et de la sarriette et conservés dans les différentes conditions d'obscurité et de lumière a augmenté pendant la période de "*Retail-display*". Ces résultats concordent avec ceux de Sousa *et al.* (2015). Ces auteurs ont constaté une augmentation notable dans la concentration des AGMI de l'huile d'olive enrichie par le laurier et l'origan. Dans une étude réalisée par Malheiro *et al.* (2012), sur l'huile d'olive additionnée d'un extrait du thé, il a été constaté une diminution considérable des AGPI durant le phénomène de thermo-oxydation. Cependant Yang *et al.* (2016), ont signalé que l'addition d'extrait de romarin dans l'huile de son de riz, de coton et de soja retarde la dégradation des AGPI.

L'effet de procédé d'aromatisation par l'HE de *Carum carvi* sur la composition chimique de l'huile d'olive a été étudié par Assami *et al.* (2016). Ces derniers ont constaté que la concentration en AGS dans l'huile d'olive aromatisée par le procédé d'ultrason est d'ordre de 27,24% et de 26,66% dans l'huile d'olive aromatisée par la méthode traditionnelle.

Tableau 16: Evolution des teneurs en acides gras (AGS, AGPI, AGMI) de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE au cours de la période de "Retail-display".

	Acides gras (%)											
	Lumière						Obscurité					
	AGS		AGMI		AGPI		AGS		AGMI		AGPI	
	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90
HOEV/PETT	18,05	17,43	64,14	66,80	17,76	15,72	18,05	16,56	64,14	65,91	17,76	14,91
HOEV/L. nobilis/PETT	18,05	16,64	64,14	66,97	17,76	16,30	18,05	17,43	64,14	65,63	17,76	14,74
HOEV/S. montana /PETT	18,05	17,84	64,14	65,82	17,76	16,27	18,05	16,08	64,14	65,85	17,76	15,27
HOEV/PETO	18,05	17,43	64,14	66,8	17,76	15,72	18,05	16,07	64,14	65,82	17,76	15,67
HOEV/L. nobilis/PETO	18,05	16,36	64,14	65,69	17,76	16,92	18,05	16,42	64,14	66,04	17,76	14,73
HOEV/S. montana /PETO	18,05	15,58	64,14	67,86	17,76	16,42	18,05	16,60	64,14	65,50	17,76	15,46
HOEV/VT	18,05	17,55	64,14	65,54	17,76	15,62	18,05	16,68	64,14	65,98	17,76	14,99
HOEV/L. nobilis/VT	18,05	16,29	64,14	67,82	17,76	15,84	18,05	15,21	64,14	67,36	17,76	15,21
HOEV/S. montana /VT	18,05	17,37	64,14	66,03	17,76	16,43	18,05	15,52	64,14	65,89	17,76	15,82
HOEV/VO	18,05	17,98	64,14	66,10	17,76	15,83	18,05	16,41	64,14	65,64	17,76	15,52
HOEV/L. nobilis/VO	18,05	17,72	64,14	66,16	17,76	15,49	18,05	15,55	64,14	67,11	17,76	15,06
HOEV/S. montana /VO	18,05	17,87	64,14	65,57	17,76	15,75	18,05	15,95	64,14	65,52	17,76	15,60

HOEV: huile d'olive extra vierge; PETT: polytéraphtalated'éthyène transparent; PETO: polytéraphtalate d'éthyène opaque; VT: verre transparent; VO: verre opaque; 0, 90 période de "Retail-display"; AGS: acides gras saturés; AGM : acides gras mono-insaturés; AGPI : acides gras poly-insaturés;

Tandis que l'huile d'olive non aromatisée contient 25,13% d'AGS. Quant à la concertation en AGPI, l'huile d'olive aromatisée par l'HE de *Carum carvi* contient 62% d'AGPI et l'huile d'olive non aromatisée par l'HE en possède 64%.

4.5. Pigments: Chlorophylles et caroténoïdes

Les résultats de l'évolution des teneurs en pigments (chlorophylles et caroténoïdes) de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HEs au cours de la période de "*Retail-display*" sont représentés dans les **Tableaux 17 et 18**. La teneur en pigments de tous les échantillons de l'huile d'olive étudiés diminuent significativement ($p < 0,05$) au cours de la période de "*Retail-display*".

A la fin de la période de "*Retail-display*" (90^{ème} jour), les teneurs finales en pigments (chlorophylles et caroténoïdes) dans les échantillons d'HOEV non enrichis par les HEs sont inférieures à celles des autres échantillons enrichis (HOEV/*L. nobilis*; HOEV/*S. montana*). Grosso *et al.* (2018), ont signalé une diminution considérable de la teneur en caroténoïdes dans l'huile de noix que dans l'huile de noix enrichie par l'extrait phénolique de tourteau de noix après 16 jours de stockage à température de 60°C. Keramat *et al.* (2017) en travaillant sur l'effet de l'enrichissement de l'huile d'olive par l'HE de *Rosmarinus officinalis et Zataria multiflora boiss* sur sa stabilité oxydative durant le stockage, ont observé une diminution considérable de la teneur en pigments chlorophylliens et en caroténoïdes après 42 jours de stockage à une température de 70°C. Cependant Nour *et al.* (2018) ont constaté une augmentation de la teneur en caroténoïdes dans l'huile d'olive, de tournesol, d'arachide, de raisin, de colza, de riz, de maïs et de soja, additionnée de 5% d'extrait de résidus de tomates.

L'étude comparative des divers emballages utilisés pour le conditionnement des différents échantillons de l'huile d'olive, montre que les échantillons de l'huile d'olive conditionnés dans l'emballage opaque (HOEV/PETO et HOEV/VO) ont révélé des teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes supérieures, que ce soit en obscurité ou en présence la lumière tandis que les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans les échantillons de l'huile d'olive conservés dans l'emballage transparent (HOEV/PET: 0,21 mg/Kg et HOEV/VT: 0,32 mg/Kg); ceci signifie que l'utilisation de l'emballage opaque réduit la dégradation des pigments chlorophylliens et les caroténoïdes. Ces résultats concordent avec ceux de Guill Guerrero et Urda-Romacho, (2009) qui ont montré que la dégradation des pigments est plus importante dans les échantillons de l'huile d'olive conservés dans le verre

transparent que dans le verre opaque après 12 mois de stockage. De même, Caponio *et al.* (2005) ont signalé que les pigments chlorophylliens ont été presque totalement dégradés dans l'huile d'olive conservée dans le verre transparent en présence de la lumière après 12 mois de stockage à 15 °C en automne et aussi à 25 °C en été.

L'évolution des teneurs en pigments selon le mode de conditionnement (plastique et verre) et de stockage (obscurité et lumière) a montré des différences significatives entre les échantillons ($p < 0,05$). Les pigments caroténoïdes et chlorophylliens se sont dégradés rapidement dans les échantillons de l'HOEV exposés à la lumière fluorescente par rapport ceux conservés dans l'obscurité. Ces résultats sont en accord avec ceux de Gargouri *et al.* (2015) qui ont montré que les teneurs en pigments diminuent significativement dans les échantillons de l'huile d'olive exposés à la lumière.

A travers les résultats obtenus, il a été noté que les échantillons de l'huile d'olive conditionnés dans le PETT et le VT présentent des teneurs en pigments plus faibles que les échantillons conditionnés dans le PETO et le VO pendant la période de "*Retail-display*". Rizzo *et al.* (2014), ont montré dans une étude réalisée sur l'effet d'emballage (PET coloré: bleu, blanc, orange et transparent) et d'intensité lumineuse sur la composition chimique de l'huile d'olive Italienne que, la dégradation des pigments chlorophylliens et caroténoïdes est moins accentuée dans les échantillons d'huile d'olive conditionnés dans le PET bleu et blanc que ceux conservés dans le PET transparent.

Tableau 17: Evolution de la teneur en pigments chlorophylliens de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE au cours de "Retail-display".

Echantillons	Chlorophylles (mg/Kg)						
	T ₀	Lumière			Obscurité		
		30	60	90	30	60	90
HOEV/PETT	2,60 ± 0,07	0,83 ± 0,01	0,52 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,94 ± 0,02	0,55 ± 0,02	0,39 ± 0,01
HOEV/L. nobilis/PETT	2,60 ± 0,07	0,55 ± 0,03	0,52 ± 0,02	0,42 ± 0,02	0,86 ± 0,06	0,67 ± 0,07	0,50 ± 0,05
HOEV/S. montana/PETT	2,60 ± 0,07	0,57 ± 0,03	0,50 ± 0,00	0,22 ± 0,00	1,77 ± 0,04	0,29 ± 0,00	0,26 ± 0,01
HOEV/PETO	2,60 ± 0,07	1,02 ± 0,02	0,63 ± 0,04	0,14 ± 0,01	1,01 ± 0,04	0,79 ± 0,01	0,47 ± 0,00
HOEV/L. nobilis/PETO	2,60 ± 0,07	0,97 ± 0,02	0,63 ± 0,04	0,53 ± 0,04	1,15 ± 0,15	0,77 ± 0,07	0,58 ± 0,08
HOEV/S. montana/PETO	2,60 ± 0,07	0,88 ± 0,02	0,84 ± 0,02	0,35 ± 0,03	1,95 ± 0,07	0,63 ± 0,02	0,47 ± 0,01
HOEV/VT	2,60 ± 0,07	0,63 ± 0,02	0,48 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,93 ± 0,01	0,54 ± 0,02	0,40 ± 0,15
HOEV/L. nobilis/VT	2,60 ± 0,07	0,73 ± 0,04	0,71 ± 0,06	0,48 ± 0,01	0,92 ± 0,03	0,61 ± 0,04	0,55 ± 0,03
HOEV/S. montana/VT	2,60 ± 0,07	0,65 ± 0,00	0,42 ± 0,01	0,35 ± 0,00	1,59 ± 0,00	0,47±0,05	0,24 ± 0,01
HOEV/VO	2,60 ± 0,07	1,14 ± 0,08	0,79 ± 0,04	0,37 ± 0,02	1,19 ± 0,05	0,84 ± 0,04	0,58 ± 0,01
HOEV/L. nobilis/VO	2,60 ± 0,07	1,51 ± 0,06	1,07 ± 0,02	0,79 ± 0,00	2,05 ± 0,07	1,14 ± 0,13	0,81 ± 0,05
HOEV/S. montana/VO	2,60 ± 0,07	1,42 ± 0,01	0,84 ± 0,01	0,40 ± 0,00	2,51 ± 0,02	0,96 ± 0,05	0,50 ± 0,00

HOEV: huile d'olive extra vierge ; PETT: polytéréphtalated'éthène transparent; PETO: polytéréphtalate d'éthène opaque; VT: verre transparent; VO: verre opaque; 30, 60, 90 période de "Retail-display"; T₀: temps initial.

Tableau 18: Evolution de la teneur en caroténoïdes de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE au cours de "Retail-display".

Echantillons	Caroténoïdes (mg/Kg)						
	T ₀	Lumière			Obscurité		
		30	60	90	30	60	90
HOEV/PET	1,55 ± 0,02	0,72 ± 0,07	0,64 ± 0,01	0,21 ± 0,00	0,82 ± 0,07	0,61 ± 0,04	0,32 ± 0,01
HOEV/L. nobilis/PET	1,55 ± 0,02	0,77 ± 0,02	0,59 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,84 ± 0,02	0,63 ± 0,02	0,45 ± 0,04
HOEV/S. montana/PET	1,55 ± 0,02	0,94 ± 0,00	0,67 ± 0,04	0,60 ± 0,02	1,04 ± 0,06	0,76 ± 0,05	0,65 ± 0,00
HOEV/PETO	1,55 ± 0,02	0,81 ± 0,06	0,75 ± 0,03	0,41 ± 0,07	0,91 ± 0,04	0,79 ± 0,07	0,41 ± 0,02
HOEV/L. nobilis/PETO	1,55 ± 0,02	0,92 ± 0,05	0,85 ± 0,03	0,54 ± 0,04	0,93 ± 0,07	0,89 ± 0,03	0,75 ± 0,06
HOEV/S. montana/PETO	1,55 ± 0,02	1,04 ± 0,05	0,80 ± 0,05	0,63 ± 0,04	1,07 ± 0,05	0,81 ± 0,01	0,65 ± 0,04
HOEV/VT	1,55 ± 0,02	0,77 ± 0,02	0,41 ± 0,02	0,32 ± 0,02	0,82 ± 0,02	0,65 ± 0,07	0,34 ± 0,09
HOEV/L. nobilis/VT	1,55 ± 0,02	0,72 ± 0,05	0,6 ± 0,02	0,43 ± 0,00	0,91 ± 0,01	0,59 ± 0,03	0,41 ± 0,02
HOEV/S. montana/VT	1,55 ± 0,02	1,00 ± 0,00	0,75 ± 0,01	0,61 ± 0,03	1,03 ± 0,02	0,77 ± 0,02	0,64 ± 0,02
HOEV/VO	1,55 ± 0,02	1,05 ± 0,08	0,64 ± 0,02	0,51 ± 0,01	1,21 ± 0,05	0,79 ± 0,02	0,61 ± 0,04
HOEV/L. nobilis/VO	1,55 ± 0,02	1,12 ± 0,05	0,66 ± 0,02	0,63 ± 0,04	1,42 ± 0,04	0,82 ± 0,02	0,69 ± 0,06
HOEV/S. montana/VO	1,55 ± 0,02	1,24 ± 0,06	0,88 ± 0,02	0,64 ± 0,05	1,29 ± 0,05	0,85 ± 0,07	0,66 ± 0,04

HOEV: huile d'olive extra vierge ; PETT: polytéraphthalate d'éthylène transparent; PETO: polytéraphthalate d'éthylène opaque; VT: verre transparent; VO: verre opaque; 30,60, 90 période de "Retail-display" display; T₀: temps initial.

4.6. Composés phénoliques

L'huile d'olive doit également ses propriétés à sa richesse en dérivés phénoliques. Les composés phénoliques sont les principaux antioxydants présents dans l'huile d'olive et ont pour effet de ralentir les réactions responsables de la dégradation de cette dernière (Ocakoglu *et al.*, 2009). L'évolution de la teneur en composés phénoliques des échantillons de l'huile d'olive étudiés est représentée dans la **Tableau 19**.

D'après l'analyse de tableau 19, il en ressort que la teneur en composés phénoliques décroît significativement ($p < 0,05$) au cours de la période de "*Retail-display*" sous les deux conditions d'obscurité et en présence de la lumière et dans tous les échantillons de l'huile d'olive (enrichis et non enrichis).

A travers les résultats, il a été noté également qu'au bout de 30 jours de "*Retail-display*" une diminution (entre 66 à 72%) des concentrations des composés phénoliques a été observée dans les échantillons de l'huile d'olive non enrichis et conservés dans l'emballage transparent (PETT et VT) et exposés à la lumière (66 à 72%). Cependant, une diminution de l'ordre de 65% a été enregistrée au-delà de 60 jours de "*Retail-display*" dans l'huile d'olive conservée à l'obscurité.

Concernant les résultats obtenus à fin de la période de "*Retail-display*" sur la composition en composés phénoliques dans les différentes conditions de stockage (obscurité et lumière), le **Tableau 19** montre que les teneurs en composés phénoliques dans les échantillons de l'huile d'olive exposés à la lumière fluorescente et conservés dans le PETT et le verre transparent sont de 109,22 mg/Kg et 84,74 mg/Kg respectivement. Ces valeurs sont inférieures à celles des autres échantillons de l'huile d'olive conservés dans l'emballage opaque (HOEV/PETO: 131,82 mg/Kg et HOEV/VO: 216,57 mg/Kg). Gargouri *et al.* (2015) et Dabou *et al.* (2011) ont étudié l'évolution des composés phénoliques de l'huile d'olive exposée à la lumière et conservée dans différents matériaux d'emballage; dans leurs études, une dégradation accentuée des composés phénoliques a été observée dans l'huile d'olive conservée dans le PET, PE et dans le verre transparent après rapport à celle conservée dans le verre opaque. Ghanbari Shendi *et al.* (2018) ont signalé une diminution (de 324,95 à 252,42 ppm) de la teneur en composés phénoliques d'huile d'olive conservée dans des bouteilles en verre opaque après 12 mois de stockage à température ambiante.

Tableau 19: Evolution de la teneur en composés phénoliques de l'HOEV enrichie et non enrichie en HE au cours de la période de "Retail-display".

Echantillons	Les composés phénoliques (mg/Kg)						
	T ₀	Lumière			Obscurité		
		30	60	90	30	60	90
HOEV/PET	1036,72 ± 0,26	284,36 ± 0,52	201,50 ± 1,76	109,22 ± 0,84	696,9 ± 0,77	377,58 ± 2,05	117,70 ± 2,26
HOEV/L. nobilis/PET	1036,72 ± 0,26	739,64 ± 0,13	564,97 ± 4,33	193,03 ± 1,13	800,37 ± 6,96	419,02 ± 7,18	261,77 ± 5,55
HOEV/S. montana/PET	1036,72 ± 0,26	678,43 ± 2,20	241,99 ± 1,85	141,24 ± 1,80	783,89 ± 1,96	348,39 ± 1,83	144,53 ± 2,40
HOEV/PETO	1036,72 ± 0,26	411,95 ± 0,71	287,19 ± 1,55	131,82 ± 1,42	806,96 ± 1,62	400,18 ± 2,47	187,85 ± 5,51
HOEV/L. nobilis/PETO	1036,72 ± 0,26	753,76 ± 5,19	297,08 ± 2,26	296,61 ± 3,17	942,56 ± 3,45	490,11 ± 5,49	396,42 ± 5,17
HOEV/S. montana/PETO	1036,72 ± 0,26	937,38 ± 2,02	241,99 ± 2,36	207,15 ± 2,27	969,86 ± 1,90	527,3 ± 1,97	173,25 ± 2,05
HOEV/VT	1036,72 ± 0,26	350,75 ± 1,62	271,65 ± 2,19	84,74 ± 0,70	720,33 ± 2,19	371,93 ± 1,97	146,89 ± 4,32
HOEV/L. nobilis/VT	1036,72 ± 0,26	648,77 ± 1,64	527,3 ± 2,61	230,69 ± 6,36	856,87 ± 6,33	433,14 ± 5,45	273,06 ± 4,15
HOEV/S. montana/VT	1036,72 ± 0,26	854,04 ± 2,43	241,99 ± 2,54	202,44 ± 2,03	930,79 ± 2,26	338,98 ± 2,33	223,63 ± 2,54
HOEV/VO	1036,72 ± 0,26	685,96 ± 2,26	329,56 ± 0,77	141,24 ± 0,56	847,45 ± 1,55	456,68 ± 2,40	216,57 ± 1,97
HOEV/L. nobilis/VO	1036,72 ± 0,26	896,42 ± 3,30	782,01 ± 6,29	306,02 ± 3,39	995,29 ± 1,00	546,13 ± 4,10	390,77 ± 3,16
HOEV/S. montana/VO	1036,72 ± 0,26	945,85 ± 1,75	241,99 ± 2,54	221,28 ± 2,00	992,93 ± 3,97	541,43 ± 1,96	237,28 ± 1,88

HOEV: huile d'olive extra vierge ; PETT: polytéraphthalated'éthylène transparent; PETO: polytéraphthalate d'éthylène opaque; VT: verre transparent; VO: verre opaque; 30,60, 90 période de "Retail-display"; T₀: temps initial.

L'évolution de la teneur en composés phénoliques au cours de la période de "*Retail-display*" en fonction de type de l'huile (enrichie et non enrichie) a montré que les pourcentages de diminution (entre 60 à 86%) des composés phénoliques les plus faibles ont été enregistrés dans les échantillons enrichis en HE de laurier et de la sarriette, tandis que les échantillons d'huile d'olive non enrichis en HE ont enregistré des pourcentages plus élevés (entre 81 à 91%). Ceci signifie que l'enrichissement par l'HE de laurier et de la sarriette a clairement exercé un effet protecteur contre l'oxydation. Les résultats obtenus ne concordent pas avec ceux de Sousa *et al.* (2015), ces derniers ont montré que l'aromatisation de l'huile d'olive par de l'ail (*Allium sativum: A. sativum*), de laurier (*L. nobilis*) et de l'origan (*Origanum vulgare*) a engendrée une diminution de composés phénoliques après 3 mois de stockage dans l'obscurité à température ambiante. Cependant, Ayadi *et al.* (2009) ont observé que l'aromatisation de l'huile d'olive Tunisienne par le basilic (*Ocimum basilicum*) a permis une bonne protection voire même une augmentation de composés phénoliques. Même résultat a été signalé par Khemakhem *et al.* (2015) et Yang *et al.* (2016) en étudiant l'effet de l'addition du zeste du citron (*Citrus limon*) et de romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la teneur en composés phénoliques dans l'huile d'olive, de soja, de coton et de son de riz.

4.7. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* du complexe HOEV/HE

L'activité antioxydante des échantillons de l'huile d'olive étudiés a été évaluée par le test du radical DPPH• et les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau 20**.

D'après les résultats obtenus, l'activité antioxydante du complexe HOEV/HE étudiée décroît significativement ($p < 0.05$) aux cours de la période de "*Retail-display*".

A la fin de la période de "*Retail-display*", les échantillons de l'huile d'olive exposés à la lumière fluorescente (900 lux) et conservés dans l'emballage transparent (PET et VT) ont enregistré une activité de piégeage du radical DPPH• la plus la faible (44,25% et 47,79% respectivement). Tandis que l'activité de piégeage de radical DPPH• la plus élevée a été enregistrée dans les échantillons de l'huile d'olive conservés dans PETO et le VO et à l'abri de la lumière (62,26% et 62,93%, respectivement).

Tableau 20: Evolution de l'activité antioxydante de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en l'HE au cours de la période de "Retail-display".

Echantillons	DPPH (%)						
	T ₀	Lumière			Obscurité		
		30	60	90	30	60	90
HOEV/PETT	95,45 ± 0,28	72,00 ± 0,42	62,50 ± 0,35	44,25 ± 0,56	82,66 ± 0,35	79,89 ± 0,84	58,48 ± 0,56
HOEV/L. nobilis/PETT	95,45 ± 0,29	85,04 ± 0,42	67,01 ± 0,70	57,76 ± 0,24	89,72 ± 0,72	81,90 ± 0,90	62,76 ± 0,76
HOEV/S. montana /PETT	95,45 ± 0,30	83,68 ± 0,59	58,30 ± 0,72	44,88 ± 0,65	81,18 ± 0,08	75,26 ± 0,96	70,84 ± 0,69
HOEV/PETO	95,45 ± 0,31	77,80 ± 0,63	68,10 ± 0,84	49,84 ± 0,49	80,26 ± 0,56	77,95 ± 1,06	62,26 ± 0,98
HOEV/L. nobilis/PETO	95,45 ± 0,32	91,50 ± 0,35	73,47 ± 0,44	62,05 ± 0,67	95,91 ± 0,91	86,13 ± 0,13	65,73 ± 0,73
HOEV/S. montana /PETO	95,45 ± 0,33	83,91 ± 0,60	73,47 ± 0,52	52,76 ± 0,55	91,13 ± 1,17	83,77 ± 0,60	81,38 ± 0,59
HOEV/VT	95,45 ± 0,34	73,35 ± 0,28	61,44 ± 0,21	47,79 ± 0,43	83,66 ± 0,49	83,47 ± 1,41	53,48 ± 0,49
HOEV/L. nobilis/VT	95,45 ± 0,35	81,97 ± 0,09	62,48 ± 0,43	58,82 ± 0,19	89,65 ± 0,65	79,56 ± 0,56	63,88 ± 0,88
HOEV/S. montana /VT	95,45 ± 0,36	77,74 ± 0,65	68,59 ± 0,62	51,89 ± 0,50	90,83 ± 1,01	79,77 ± 0,66	78,92 ± 1,00
HOEV/VO	95,45 ± 0,37	85,78 ± 0,15	68,20 ± 0,43	57,84 ± 0,25	86,53 ± 0,70	81,05 ± 0,63	62,93 ± 1,13
HOEV/L. nobilis/VO	95,45 ± 0,38	92,05 ± 0,67	75,42 ± 0,48	67,21 ± 0,62	94,19 ± 0,19	89,64 ± 0,64	69,63 ± 0,63
HOEV/S. montana /VO	95,45 ± 0,39	92,23 ± 0,73	73,61 ± 0,67	64,51 ± 0,74	95,09 ± 0,86	86,11 ± 1,11	79,76 ± 0,79

HOEV: huile d'olive extra vierge ; PETT: polytéraphthalate d'éthylène transparent; PETO: polytéraphthalate d'éthylène opaque; VT: verre transparent; VO: verre opaque; 30,60, 90 période de "Retail-display"; T₀: temps initial.

Il est à noter que l'huile d'olive enrichie en HE de *L. nobilis* et *S. montana* a montré des activités antioxydantes les plus élevées, celles-ci sont attribuées à la présence de certains composés bioactifs dans ces HEs tels que l'eugénol, le méthyleugénol, l'elemicine, le 1,8 – cinéole, le thymol, le carvacrol et le *p*-cymène qui sont rapportés dans la littérature scientifique comme des antioxydants efficaces et d'inhibiteurs naturels d'oxydation (Aeschbach *et al.*, 1993; Maestri *et al.*, 1997; Prieto *et al.*, 2007). Selon Tepe *et al.* (2005) et Ozen *et al.* (2011) ceci peut s'expliquer par la présence des composés phénoliques dans les HEs qui peuvent interagir d'une façon synergique ou additionnelle pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres. Ben Rached *et al.* (2014) ont montré que l'aromatisation de l'huile d'olive (*zalmati*) par l'HE de romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) a augmenté l'activité antioxydante de ce complexe. Des résultats similaires ont été signalés par Delgado-Adámez *et al.* (2013). Cependant, Baiano *et al.* (2009) ont montré que l'activité antioxydante de l'huile d'olive enrichie par différentes espèces (citron, origan, romarin et piment) et conservée dans du verre opaque à température ambiante a été réduite après 9 mois de stockage, comparativement à l'huile d'olive non enrichie et celle enrichie par l'ail.

Dans les travaux de Sousa *et al.* (2015), réalisés sur l'huile d'olive enrichie par le laurier, une diminution de l'activité antioxydante a été constatée après 3 mois de stockage dans l'obscurité à température ambiante. Ces auteurs ont signalé que le pouvoir d'inhibition du radical DPPH et d'ABTS a diminué de $140,8 \pm 3$ à $133,6 \pm 2,8$ $\mu\text{mol TE/L}$ et de $296,3 \pm 2,8$ à $294 \pm 2,4$ $\mu\text{mol TE/L}$, respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux de Nour *et al.* (2018) qui ont aussi signalé que l'activité antioxydante de l'huile d'olive extra vierge additionnée de 5% de l'extrait de résidus de tomates a été réduite de 18,9 à 9,4%.

Au cours d'une étude réalisée sur l'effet d'aromatisation sur les caractéristiques organoleptiques et la stabilité oxydative de l'huile d'olive, Issaouia *et al.* (2019) ont montré que l'ajout de l'oignon et d'ail pourrait améliorer la stabilité thermo-oxydative du produit. Keramat *et al.* (2017) ont indiqué que l'utilisation d'une concentration élevée en HE de *Rosmarinus officinalis* et *Zataria multiflora boiss* prévient le processus d'oxydation de l'huile d'olive durant le stockage.

5. Complexe HOEV/*L. nobilis* durant de la photo-oxydation

5.1. Détermination de la teneur en tyrosol et en hydroxytyrosol

La teneur en tyrosol et en l'hydroxytyrosol des échantillons de l'HOEV/ *L. nobilis* a été déterminée par la chromatographie liquide haute performance (CLHP) avant l'exposition (au temps zéro: t_0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours d'exposition, les résultats obtenus sont illustrés par **Tableau 21**

De l'analyse du **Tableau 21**, il en ressort une augmentation (entre 10 à 13%) de la teneur en tyrosol dans tous les échantillons d'huile d'olive enrichis en HE pendant la période de "*Retail-display*". Tandis qu'une diminution de 9 à 13 % de la teneur en tyrosol a été observée dans tous les échantillons l'huile d'olive non enrichis en HE à l'exception de l'huile d'olive non enrichie et conservée dans le VT ou une augmentation d'ordre de 10 % de la teneur en tyrosol à été enregistrée.

Par contre, les teneurs en l'hydroxytyrosol ont augmenté durant la fin de la période d'exposition à la lumière (90 jours) dans tous les échantillons de l'huile d'olive dont la teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'HOEV/*L. nobilis* /PETO (0,55 mg/Kg).

Des résultats similaires ont été signalés par Ben Tekaya et Hassouna (2005) sur des HOVE Tunisiennes stockées pendant 12 mois dans des bouteilles en plastique et en verre. Cette augmentation s'expliquerait par l'hydrolyse de certaines substances phénoliques complexes, telles que l'oleuropéine qui libère l'hydroxytyrosol et d'autre part, la verbascoside qui libère l'acide caféique et l'hydroxytyrosol... (Perrin, 1992). Yalcin et Schreiner, (2017) ont indiqué que la teneur en hydroxytyrosol des échantillons de l'huile d'olive conservés dans des bouteilles ouvertes en verre transparent à température de 60 °C a été réduite tandis que la teneur en tyrosol des mêmes échantillons restait stable après 63 jours de stockage dans les mêmes conditions.

Tableau 21: Evolution de la teneur en tyrosol et en hydroxytyrosol durant la photo-oxydation.

Echantillons	Teneurs en tyrosol et en hydroxytyrosol (mg/Kg)			
	Tyrosol		Hydroxytyrosol	
	0	90	0	90
HOEV/PETT	1,47 ± 0,030	0,19 ± 0,00	0,14 ± 0,02	0,44 ± 0,02
HOEV/<i>L. nobilis</i>/PETT	1,47 ± 0,030	1,58 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0,22 ± 0,01
HOEV/PETO	1,47 ± 0,030	0,14 ± 0,00	0,14 ± 0,02	0,51 ± 0,01
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /PETO	1,47 ± 0,030	1,51 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,55 ± 0,01
HOEV/VT	1,47 ± 0,030	1,56 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,00
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /VT	1,47 ± 0,030	2,67 ± 0,25	0,14 ± 0,02	0,24 ± 0,04
HOEV/VO	1,47 ± 0,030	0,20 ± 0,00	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,00
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /VO	1,47 ± 0,030	1,75 ± 0,16	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,00

HOEV: huile d'olive extra vierge ; PETT: polytéréphtalate d'éthylène transparent; PETO: polytéréphtalate d'éthylène opaque; VT: verre transparent; VO: verre opaque; 0, 90 période de "Retail-display".

5.2. Test d'accélération d'oxydation (Oxitest)

La stabilité oxydative des échantillons de l'huile d'olive enrichis et non enrichis par l'HE de *Laurus nobilis* a été mesurée par oxitest avant l'exposition (t_0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours d'exposition. Les résultats obtenus (exprimés en temps d'induction h) sont représentés dans le **Tableau 22**

A travers les résultats obtenus, il a été noté que la stabilité oxydative décroît dans tous les échantillons de l'huile d'olive à l'exception de l'HOEV/*L. nobilis*/PETO ou le temps d'induction a augmenté de 11,04 à 23 h. Dans une étude antérieure réalisée sur l'effet de l'emballage (verre et le PET) et d'aromatisation d'huile de lentisque par les HEs, Esmaeili *et al.* (2018) ont constaté une diminution faible d'indice de stabilité oxydative dans l'huile de lentisque enrichie par l'HE de *Rosmarinus officinalis* (de 16h à 13 h) après 80 jours de stockage dans l'obscurité à 60 °C. Quant à l'huile de lentisque non enrichie, une diminution notable d'indice de stabilité oxydative a été signalée (de 16h à 5 h) dans les mêmes conditions de stockage. Ces auteurs ont montré aussi que l'huile de lentisque conditionnée dans le verre est plus résistante au processus d'oxydation que l'huile de lentisque conservée dans le PET.

Comparant les échantillons de l'huile d'olive enrichis et non enrichis, l'addition de l'HE de *Laurus nobilis* a amélioré la stabilité oxydative de l'huile d'olive. Ce qui explique l'effet antioxydant de cette HE. Ces résultats concordent avec ceux de Suarez *et al.* (2011) qui ont montré que l'addition des phénols peut améliorer la stabilité oxydative de l'huile d'olive. Les mêmes résultats ont été aussi signalés par Ben Rached *et al.* (2014); Ayadi *et al.* (2009); Khemakhem *et al.* (2015). Cependant Issaoui *et al.* (2011) ont montré que l'addition de l'extrait de thym et du citron n'avait aucun effet sur l'amélioration oxydative de l'huile d'olive Tunisienne durant la thermo-oxydation.

Selon Assami *et al.* (2016), l'aromatisation de l'huile d'olive par l'HE de *Carum carvi* par la méthode traditionnelle ou par le procédé d'ultrason améliore la stabilité oxydative et prologue la durée de vie de cette huile. Ces auteurs ont constaté que le temps d'induction mesuré par rancimat de l'huile d'olive aromatisée par l'HE de *Carum carvi* par le procédé d'ultrason est plus élevé (6,39 h) suivi par l'huile d'olive aromatisée par la méthode traditionnelle avec un temps d'induction de 4,53 h puis l'huile d'olive non aromatisée (3,45 h).

5.3. Evaluation de l'activité antioxydante de l'HOEV/*L. nobilis*

L'activité antioxydante de tous les échantillons de l'huile d'olive a été mesurée par le test ORAC avant l'exposition (t_0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours d'exposition. Les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau 22**.

D'après le **Tableau 22** l'activité antioxydante de l'huile d'olive non enrichie en HE de *Laurus nobilis* décroît au bout de 90 jours d'exposition à la lumière fluorescente (900 lux) dont la plus faible activité (1162,01 $\mu\text{mol trolox/kg}$) a été enregistrée pour l'HOEV/PET. Cependant l'activité anti-oxydante de l'huile d'olive enrichie en HE de *Laurus nobilis* a augmenté après 90 jours d'exposition à la lumière dans les quatre emballages utilisés dont l'activité la plus élevée a été enregistrée dans l'HOEV/*L. nobilis*/PETO (4369,73 $\mu\text{mol trolox/kg}$). Ces résultats concordent avec ceux de Rubio *et al.* (2012) qui ont montré que l'addition de l'extrait phénolique du thym augmente le potentiel antioxydant de l'huile d'olive. Contrairement aux résultats de Suarez *et al.* (2011) qui ont signalé que l'activité anti-oxydante de l'huile d'olive additionnée de l'extrait phénolique diminue après 256 jours de stockage. Cependant Sayyari et Farahmandfar, (2017) ont montré que l'HE et l'extrait de salix améliore le potentiel anti-oxydant de l'huile de tournesol après 60 jours de stockage dans des bouteilles opaques à température ambiante. Dans une étude réalisée sur l'effet de l'enrichissement de l'huile de tournesol par des extraits de plantes, Rafiee *et al.* (2018) ont constaté que l'extrait de feuilles de l'olivier protège cette l'huile contre la thermo-oxydation.

Tableau 22: Évolution du temps d'induction et de l'activité de piégeage du radical ORAC de l'HOEV/*L. nobilis* au cours de la photo-oxydation.

Echantillons	Temps d'induction (h)		ORAC ($\mu\text{mol trolox eq /kg}$)	
	0	90	0	90
HOEV/PETT	11,04 \pm 0,01	3,21 \pm 0,00	1394,34 \pm 21,95	1162,01 \pm 12,97
HOEV/<i>L. nobilis</i>/PETT	11,04 \pm 0,01	8,22 \pm 0,03	1394,34 \pm 21,95	1551,96 \pm 116,55
HOEV/PETO	11,04 \pm 0,01	3,57 \pm 0,00	1394,34 \pm 21,95	1388,09 \pm 62,02
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /PETO	11,04 \pm 0,01	23,46 \pm 0,12	1394,34 \pm 21,95	4369,73 \pm 67,74
HOEV/VT	11,04 \pm 0,01	4,30 \pm 0,00	1394,34 \pm 21,95	1230,04 \pm 15,22
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /VT	11,04 \pm 0,01	5,79 \pm 0,58	1394,34 \pm 21,95	1610,71 \pm 129,12
HOEV/VO	11,04 \pm 0,01	3,57 \pm 0,00	1394,34 \pm 21,95	1280,04 \pm 12,53
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /VO	11,04 \pm 0,01	5,67 \pm 0,54	1394,34 \pm 21,95	1572,08 \pm 149,35

HOEV: huile d'olive extra vierge; *PETT*: polytéréphtalate d'éthylène transparent; *PETO*: polytéréphtalate d'éthylène opaque; *VT*: verre transparent; *VO*: verre opaque; 0, 90 période de "Retail display".

Conclusion générale

Conclusion générale

L'huile d'olive, à l'encontre des autres huiles végétales, est consommée sans raffinage, ce qui lui permet de garder toute sa composition naturelle, notamment en chlorophylles et en phéophytines. De ce fait, en présence de la lumière, l'huile d'olive vierge est la moins stable de toutes les huiles alimentaires malgré son faible degré de poly-insaturation. Parmi les séquestrants naturels de l'oxygène singulet (1O_2), se trouvent les HEs issues de plantes aromatiques, par leur large activité biologique reconnue. Ces dernières ont trouvé leur place dans le domaine de la conservation des aliments. A cet effet, notre travail s'inscrit dans le cadre d'une valorisation des ressources végétales disponibles pour la création d'une valeur ajoutée.

Dans la première partie de notre travail, la caractérisation du profil chromatographique des HEs extraites de certaines plantes méditerranéenne par CPG/MS permet d'identifier:

- 45 composés représentant environ 99,46% dans l'HE du *Laurus nobilis* dont le 1,8-cinéole est le composé le plus important (39,69%).
- 26 constituants dans l'HE du *Satureja montana* représentant un total de 92,55% de cette essence dont le composé majoritaire est le thymol (28,36%).
- 23 composés dans l'HE du *Pistacia lentiscus* dont α -pinène (19,86%) est le composé majoritaire.
- 29 composés dans l'HE d'*Inula graveolens*, représentant 92,75% de la composition totale de cette essence dont l'acétate de borneol (44,63%) est le composé majoritaire.

L'activité anti-oxydante des HEs étudiées, évaluée *in vitro* par le test, de piégeage du radical DPPH exprimé en terme de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC_{50}) a révélé que, l'HE du laurier possède de loin la plus forte activité ($IC_{50} = 24,73$ mg/L), suivi par la sarriette (40,86 mg/L), puis lentisque (50,78) et l'inule ($IC_{50} = 84,15$ mg/L).

Dans la seconde partie, une analyse sensorielle préliminaire a été réalisée dans le but d'optimiser la dose de l'HE à incorporer dans l'huile d'olive. Le test sensoriel a révélé qu'une concentration de 0,01% était la plus indiquée pour son inertie envers les caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive.

Dans la troisième partie, l'effet de l'aromatisation par des huiles essentielles (*Laurus nobilis*; *Satureja montana*), d'emballage (PET et le verre) et de la lumière (900 lux) sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive a été réalisé.

Les caractérisations physico-chimiques de l'huile d'olive ont révélé que, l'acidité et l'indice de peroxyde des échantillons de l'huile d'olive étudiés, n'ont pas atteint la limite légale fixée par l'UE Reg. 1348/2013; au bout de 90 jours sous toutes les conditions de stockage (obscurité, lumière) et dans toutes les conditions de conditionnement (PET et le verre). L'addition d'HE de laurier et de la sarriette a montré un effet protecteur. Le coefficient K_{232} a montré une valeur supérieure à la limite légale fixée par l'UE Reg. 1348/2013 dans tous les échantillons de l'huile d'olive analysés, cependant K_{270} est inférieure à la norme dans les échantillons enrichis en HE et conditionnés dans des emballages opaques (PETO et VO).

L'évaluation de la teneur en composés phénoliques et en pigments (chlorophylles et caroténoïdes) a révélé que l'addition de l'HE du *L. nobilis* et du *S. montana* et l'utilisation de l'emballage opaque (PET et le verre) a eu un effet protecteur vis-à-vis de la dégradation de ces composés.

L'estimation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive par le test DPPH a montré que l'huile d'olive enrichie en HE du *L. nobilis* et du *S. montana* et conservée dans des emballages opaques (PETO et VO) avait une activité antioxydante la plus élevée par opposition à celle de l'huile d'olive non enrichie et conservée dans l'emballage transparent (PET et VT).

Dans la dernière partie, la teneur en tyrosol, en hydroxytyrosol des échantillons de l'HOEV/*L. nobilis* a été déterminée par CLHP. Les résultats ont révélé que la teneur en tyrosol décroît dans les échantillons de l'huile d'olive non enrichis et conservés dans le VT, le PETT et PETO; tandis que cette teneur augmente dans les échantillons de l'HOEV/*L. nobilis*. Par contre, les teneurs en hydroxytyrosol ont augmenté dans tous les échantillons de l'huile d'olive à la fin de la période d'exposition à la lumière (90^{ème} jour).

L'évaluation de la stabilité oxydative par le test Oxitest a montré que l'incorporation de l'HE au complexe HOEV/*L. nobilis*/PETO possède un temps d'induction de 23h qui est relativement plus élevé que celui des autres huiles.

L'estimation de l'activité antioxydante de l'HOEV/*L. nobilis* par le test ORAC a montré que la plus faible activité (1162,01 $\mu\text{mol trolox/kg}$) a été enregistrée pour l'HOEV/PETT,

cependant l'activité antioxydante la plus élevée a été enregistrée dans l'HOEV/*L. nobilis*/PETO (4369,73 $\mu\text{mol trolox/kg}$).

Dans la continuité de ce travail, il serait intéressant d'approfondir l'investigation des compositions chimiques des différentes huiles essentielles étudiées, afin d'identifier les espèces chimiques responsables de leurs fortes activités antioxydantes et d'étudier leur effet antioxydant sur la stabilité antioxydative de l'huile d'olive.

Il serait utile de confirmer le potentiel d'activité antioxydante des ces huiles essentielles sur la stabilité photo-oxydative de l'huile d'olive conservée durant une longue période (plus de 3 mois).

*Références
bibliographiques*

Abdelwahed, A., Bouhleb, I., Skamdrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guirand, P., Steiman, R., Mariotte, A.M., Gherdia, K., Laporte, F., Dijoux, F., Ranca, M.G. & Chekir-Ghedira, L. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*. 165, 1-13.

Adams, R.P. (2001). Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy Allured Publishing Corporation. *Carol Stream, IL, USA*.

Aeschbach, R., Loliger, J., Scott, B.C., Murcia, A., Butler, J. & Halliwell, B. (1993). Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chemistry and Toxicology*. 32, 31-36.

AFNOR, (2006). Normes françaises: huile essentielle. Association Française de Normalisation. Paris (France).

Aghel, N., Mahmoudabadi, A.Z. & Darvishi, L. (2011). Volatile constituents and anti candida activity of the aerial parts essential oil of *Dittrichia graveolens* [L.] Greuter grown in Iran. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5, 772-775.

Alexandra, P., Olga, T. & Eumorphia, V. (2004). Volatile Constituents of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter from Greece. *Journal of Essential Oil Research*. 16, 400-401.

Al-Hijazeen, M., Lee, E.J., Mendonca, A. & Ahn, D.U. (2016). Effect of Oregano essential oil (*Origanum vulgare subsp. hirtum*) on the Storage Stability and Quality Parameters of Ground Chicken Breast Meat. *Antioxidants*. 5, 18.

Amar, M. I., Lionel L.A. In Tasyriq, M., Devi Rosmy S., Khalijah A., Ayda Hussein O.M., Omer F.I. & Imad Fadh-Elmula, N.H. (2013). Extra virgin olive oil potentiates the effects of aromatase inhibitors via glutathione depletion in estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells. *Food and Chemical Toxicology*. 62, 817-824.

Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A. & Chaouch, A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*. 9, 149-157.

Amelio, M. (2003). Chemical-physical characteristics of olive oils. *Organizzazione nazionale Assogiatori Olio di Oliva*. 1-26.

Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J.P. & Elbachiri, A. (2009). Chemical composition of the essential oil of *Pistacia Lentiscus* L. From Eastern Morocco. *Records of Natural Products*. 3, 290-95.

Amzouar, S., Boughdad, A., Maatoui, A. & Allam, L. (2016). Comparison of the chemical composition and the insecticidal activity of essential oils of *Mentha suaveolens* Ehrh. collected from two different regions of Morocco, against *Bruchus rufimanus* (Bohman) (Coleoptera: Chrysomelidae). *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 18, 836-845.

Ana-Ruiz-Cabello, M., Pichardo, S., Bermudez, J.M., Baños, A., Ariza, Juan, J., Guillamón, E., Susana Aucejo, A. & Cameán, A.M. (2018). Characterisation and antimicrobial activity of active polypropylene films containing oregano essential oil and *Allium* extract to be used in packaging for meat products, *Food Additives & Contaminants: Part A*. 35, 782-791.

Andersen, M. & Markhan, KR. (2010). Flavonoids: chemistry, biochemistry and application. *CRC press*. 472-551.

Angerosa, F. (2002). Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104, 639-660.

Angerosa, F. & Di Giacinto, L. (1993). Metal-induced oxidation of virgin olive oils: manganese and nickel. Note I. *Revue Française des Corps Gras*. 40, 41-48.

Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C. & Vito, R. (2000). Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chemistry*. 68, 283-287.

Angerosa, F., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S. & Montedoro, G.F. (2004). Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *Journal of Chromatography A*. 1054, 17-31.

Anton, R. & Lobstein, A. (2005). Plantes aromatiques. Epice, aromates, condiments et huiles essentielles. Editions Tec & Doc, Paris (France).

Anwar, F., Ali M., Hussain, A.I. & Shahid, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour and Fragrance Journal*. 24, 170-176.

Aparicio, R. & Harwood, J. (2013). Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties *Springer Science & Business Media*. pp. 620.

Aparicio, R., Morales, M.T. & Alonso, V. (1997). Authentication of European virgin olive oils by their chemical compounds, sensory attributes, and consumers' attitude. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 1076-1083.

- Aparicio, R., Roda, L., Albi, M.A. & Gutierrez, F. (1999).** Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 50-55.
- Arab, K., Bouchenak, O. & Yahiaoui, K. (2014).** Etude physico-chimique et évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sarriette des montagnes vis-à-vis des bactéries isolées des infections urinaires. *Revue Agriculture*. 7, 12-19.
- Arcoleo, G., Indovina, M. C., Varvara, G., Lanza, C. & Mazzaglia, A. (2009).** Improving olive oil shelf life with lemon essential oil. *Chemical Engineering Transaction*. 17, 849-854.
- Arpino, P., Prévôt, A., Serpinet, J., Tranchant, J., Vergnol, A. & Wittier, P. (1995).** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. In: EL Kalamouni, C., (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse doctorat des Sciences des Agroressources, l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France. pp. 263.
- Asensio, C.M., Nepote, V. & Grosso, N.R. (2011).** Chemical stability of extra-virgin olive oil added with oregano essential oil. *Journal of Food Science*. 76, 445-450.
- Asensio, CM., Nepote, V. & Grosso, N.R. (2013).** Consumer's acceptance and quality stability of olive oil flavoured with essential oils of different oregano species. *International Journal of Food Science and Technology*. 48, 2417-2428
- Asnaashari, M., Farahmandfar, R. & Kenari, R.E. (2016).** Blackberry (*Rudus plicates*) leaves extract effect on corn oil oxidation (primary and secondary products) at high temperature. *International Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engineering*. 3, 198-200.
- Assami, K., Chemat, S., Meklati, B. Y. & Chemat, F. (2016).** Ultrasound-assisted aromatisation with condiments as an enabling technique for olive oil flavouring and shelf life enhancement. *Food Analytical Methods*. 9, 982-990.
- Assimopoulou, A.N., Zlatanov, S.N. & Papageorgiou, V.P. (2005).** Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. *Food Chemistry*. 92, 721-727.
- Avlessi, F., Dangou, J., Wolto, D.V. & Alitonou, G.A. (2004).** Prospérités antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena Anisata* (Wild) Hookc. *Comptes Rendus Chimie*. 7, 1039-1042.
- Awad, A.B., Von Holtz, R.L., Cone, J.P., Fink, C.S. & Chen, Y.C. (1998).** Beta sitosterol inhibits growth of HT-29 human colon cells by activating the sphingo myelin cycle. *Anticancer Research*. 18, 471-473.

Awad, A.B., Downie, A.C. & Fink C.S. (2000). Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDA-MB human breast cancer cells in culture. *International Journal of Medicine*. 5, 541-545.

Ayadi, M.A., Grati-Kamoun, N. & Attia, H. (2009). Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*. 47, 2613-2619.

Ayda, Alev, Y. (2018). Physicochemical Characteristics of extra virgin olive oils obtained by ultrasound assisted extraction from different olive cultivars. *International Journal of Scientific and Technological Research*. 4, 1-10.

Azimi, M., Sharifan, A. & GhiasiTarzi, B. (2017). The use of *pistacia khinjuk* essential oil to modulate shelf-life and organoleptic traits of mechanically deboned chicken meat. *Journal of Food Processing and Preservation*. 41, 1-7.

Baba-Aissa, F. (1999). Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident, Librairie Moderne Rouiba, EDAS, Alger. 1-218.

Bachelot, C., Blaise, A., Corbel, T. & Le Guernic, A. (2006). Les huiles essentielles. Licence 2 Biologie, Université Catholique de l'Ouest Bretagne Nord, France. pp. 26.

Bachrouch, O., Msaada, K., Wannas, W.A., Talou, T., Ksouri, R., Salem, N. & Marzouk, B. (2015). Variations in composition and antioxidant activity of Tunisian *Pistacia lentiscus* L. leaf essential oil. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 149, 38-47.

Badola, R., Panjagari, N.R. & Singh, R.R.B. (2018). Effect of clove bud and curry leaf essential oils on the anti-oxidative and anti-microbial activity of burfi, a milk-based confection. *Journal of Food Science and Technology*. 55, 4802-4810.

Bagher Hashemi, S.M., Khaneghah, A.M, Anderson, S. & Sant'Ana. (2017). Essential oils in food processing. *Chemistry, Safety and Applications*. 247-265.

Baiano, A., Terracone C., Gambacorta, G. & La Notte, E. (2009). Changes in quality indices, phenolic content and antioxidant activity of flavored olive oils during storage. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 86, 1083-1092.

Bakeer, A.N. (2009). Comparative evaluation yield and chemical composition and monthly ontogenetic variations of the volatile oils hydrodistilled from two *Inula* species (*Inula viscosa* and *Inula graveolens*) growing in Jordan. Thesis, University of Jordan.

- Baldioli, M., Servili, M., Perretti, G. & Montedoro, G.F. (1996).** Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 73, 1589-1593.
- Bonou, J., Baba-Moussa, F., Agossou Noumavo, P., Ahouandjinou, H., Kifouli Adéoti, I., Métognon, I., Akpagana, K., Mansourou, M., Joachim Gbénou, D., Toukourou, F. & Baba-Moussa, L. (2016).** Composition chimique et influence de différents tweens sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia*. *European Journal of Scientific Research*. 12, 162-176
- Barakat, E.A.I., Amal, M.F. A., Musa, H.A.Z., Firas, A. & Salim, F.H. (2014).** Selective phytotoxic activity of 2, 3,11 β , 13-tetrahydroaromaticin and ilicic acid isolated from *Inula graveolens*. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*. 29, 893-898.
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi S., Cabras, P. & Angioni, A. (2007).** Characterization of the Volatile Constituents in the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Different Origins and Its Antifungal and Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 7093-7098.
- Baudoux, D. (2007).** Le formulaire d'aromathérapie pratique pour le prescripteur et le conseil pharmaceutique. Editions Inspiration publishing, France. pp. 142.
- Baudoux, D., Blanchard, J.M. & Malotaux, A.F. (2006).** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, Soins palliatifs. Tome 1 pédiatrie. Editions Amyris, Bruxelles.
- Baumann, A. (2015).** Science et huiles essentielles. Editions L'Harmattan, Paris (France). pp.170.
- Bayer, E., Buttler, K.P., Finkenzeller, X. & Grau, J. (1987).** Guide de la flore méditerranéenne, caractéristiques, habitat, distribution et particularité de 536 espèces. La Martinière Groupe. pp. 94.
- Belfadel, F.Z. (2009).** Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat).Thèse, Université Mentouri Constantine Faculté des Sciences Exacte Département de Chimie. Algérie.
- Belleti, N., Nidagijiman, M., Sistrto, C., Guerzouni Lanciotti, R. & Gardini, F. (2004).** Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essence on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52, 6932- 938.
- Beltran, G., Agulera, M., Delrio, C., Sanchez, S. & Martinez, L. (2005).** Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant olive oils. *Food Chemistry*. 89, 207- 215.

- Ben Miri, Y., Agustin Arino, A. & Djenane, D. (2018).** Study of antifungal, anti-aflatoxigenic, antioxidant activity and phytotoxicity of Algerian *Citrus limon* var. Eureka and *Citrus sinensis* var. Valencia essential oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 21, 345-361.
- Ben Rached, M., Abdallah, M. & Guerfel, M. (2014).** Compositional quality of Zalmati virgin olive oil: Effect of the aromatization process with rosemary essential oils (*Rosmarinus officinalis* L.). *African Journal of Agricultural Research*. 9, 3276-3282.
- Ben Tekaya, I. & Hassouna, M. (2005).** Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps Gras Lipides*. 12, 447-453.
- Ben Tekaya, I. & Hassouna, M. (2007).** Chlorophylls, β -carotene, α -tocopherol, tyrosol and their interactions effects on oxidative stability of Tunisian olive oil. *Oleagineux Corps Gras, Lipides*. 14, 60-67.
- Benabderrahmane, M., Benali, M., Aouissat, H. & Jordan, M.J. (2009).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*. 7, 304-308.
- Benabid, H. (2009).** Caractérisation de l'huile d'olive algérienne apports des méthodes chimiométriques. Thèse pour l'obtention du titre de Doctorat en sciences, Spécialités Sciences Alimentaires. Université Mentouri de Constantine, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA) (Algérie). pp. 245.
- Bencheikh, E.D., Goudjil, M.B., Zighmi, S., & Ladjel, S. (2015).** Effet du séchage sur le rendement des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp. *aurasianum* Labiatae. *Annales des Sciences et Technologie*. 7, 67-71
- Bendini, A., Cerretani, L., Vecchi, S., Carrasco-Pancorbo, A. & Lercker, G. (2006).** Protective effects of extra virgin olive oil phenolics on oxidative stability in the presence or absence of copper ions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 4880-4887.
- Benhammou, N., Bekkara, F.A. & Panovska, T.K. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2, 22-28.
- Benyoussef E., Charchari, S., Nacer-Bey, N., Yahiaoui, N., Chakou, A. & Bellatreche, M. (2005).** The essential oil of *Pistacia Lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*. 17, 642-644.
- Berhail Boudouda, H., Kabouche, A., Aburjai, T. & Kabouche, Z. (2013).** GC-MS Analysis of *Inula graveolens* (L.) Desf. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 16, 651-654.

- Bervillé, A. & Breton, C. (2012).** Histoire de l'olivier, Editions Quae, France. pp.224.
- Bhour, W., Derbel, S., Skandrani, I., Boubaker, J., Bouhlel, I., B. Sghaier, M., Kilani, S., Mariotte, A.M., Dijoux-Franca, M.G., Ghedira, K. & Chekir-Ghedira, L. (2010).** Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*. 24, 509-515.
- Blekas, G., Tsimidou, M. & Boskou, D. (1995).** Contribution of α -tocopherol to olive oil stability. *Food Chemistry*. 52, 289-94.
- Borello, E., & Domenici, V. (2019).** Determination of pigments in virgin and extra-virgin olive oils: a comparison between two near uv-vis spectroscopic techniques. *Foods*. 8, 18.
- Borzì, A. M., Biondi, A., Basile, F., Salvatore, L., Enzo Saretto Dant, V. & Vacante M. (2019).** Olive oil effects on colorectal cancer. *Nutrients*. 11, 1-16.
- Boskou, D. (1996).** Olive oil composition. In *Olive oil: Chemistry and Technology*. AOACS Press, USA. 52-83, 85-127.
- Bouchonnet, S. & Libong, D. (2004).** Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Actualite Chimique*. 7-14.
- Boudkhili, M., Greche, H., Boust, D., Farah, A., El Ouali Lalami, A. & Aarab, L. (2011).** Antioxidant activities of some Moroccan's plants. *International Review of Chemical Engineering*. 3, 537-541.
- Boukeloua, A. (2009).** Caracterisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (anacardiaceae). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magistère, Université Mentouri Constantine. Algerie.
- Bourgeois Claude, F. (2003).** Les vitamines dans les industries agroalimentaires Collection Sciences et techniques agro-alimentaires, Editions Tec & Doc, Lavoisier, France. pp. 708.
- Bourkhiss, M. Hnach, M. Bourkhiss, B. Ouhssine, M. Chaouch, A. & Satrani, B. (2009).** Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl). *Agrosolutions*. 20, 44-48.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Lakhlifi, T., Boughdad, A., Farah, A. & Satrani, B. (2011).** Effet de l'âge et du stade végétatif sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de thuya de berbere. *Les Technologies de Laboratoire*. 6, 64-68.
- Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F. & Chefrou, A. (2016).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la

région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 85, 174-189.

Bouzouita, N., El Omri, A., Kachouri, F., Wathelet, J.P., Marlier, M. & Chaabouni, M.M. (2009). Chemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* floral buds essential oil. *Journal of Essential oil and Bearing Plants*. 12, 694-702.

Brada, M., Bezzina, M., Michel Marlier, M., Annabelle Carlier, A. & Lognay, G. (2007). Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du nord de l'Algérie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 11, 3-7

Bradley, D.G. & Min, D.B. (1992). Singlet oxygen oxidation of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 31, 211-236.

Brenes, M., Garcia, A., Garcia, P., Rios, J.J. & Garrido, A. (1999). Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 3535-3540.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, France. pp. 915.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, France. 2, 278-279.

Bruneton, J. (2002). Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Editions Tec & Doc. Paris, France. 381-382.

Burits, M. & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14, 323-328.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94, 223-253.

C.O.I. (2001). Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. T.15/NC n°2/Rev.10. Principe de Vergara, 154, 28002 Madrid, Espagne. 19.

C.O.I. (2005). Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive. COI/T. 15/NC n°2/Rev.10.

C.O.I. (2010). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux l'huiles de grignons d'olives conseil oléicole international, COI/T.15/NC n°3/ Rév.5.

Caldas, L. & Caldas, M. (2008). The laurel leaves toxicity may also be responsible for the trance of the *Delphic pythia*. *Toxicology Letters Brazil*. 180, 232-246.

- Caponio, F., Tersa Bilancia, M., Pasqualone, A., Sikorska, E. & Gomes, T. (2005).** Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage. *European Food Research and Technology*. 221, 92-98.
- Caputo, L., Nazzaro, F., Souza, L., Aliberti, L., De Martino, L., Fratianni, F. & De Feo, V. (2017).** *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. *Molecules*. 22, pp. 930.
- Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Gallina-Toschi, T. & Fernández-Gutiérrez, A. (2005).** Analytical determination of polyphenols in olive oils. *Journal of Separation Science*. 28, 837-858.
- Castilho, P.C., Costa, M.D., Rodrigues, A. & Partidario, A. (2005).** Characterization of laurel fruit oil from Madeira Island, Portugal. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 82, 863-868.
- Ćavar, S., Maksimović, M., Šolić, M.E., Jerković-Mujkić, A. & Bešta, R. (2008).** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chemistry*. 111, 648-653.
- Cerretani, L., Bendini, A., Rotondi, A., Mari, M., Lercker, G. & Gallina Toschi, T. (2004).** Evaluation of the oxidative stability and organoleptic properties of extra-virgin olive oils in relation to olive ripening degree. *Progress in Nutrition*. 6, 50-56.
- Champy, P. (2014).** Huiles essentielles et immunostimulation: Réputation et données d'évaluation. Aromathérapie, huiles essentielles. *Actes du colloque. Ethnopharmacologia*. 52, 26-36.
- Chandran, J., Nayana, N., Roshini, N. & Nisha, P. (2016).** Oxidative stability, thermal stability and acceptability of coconut oil flavored with essential oils from black pepper and ginger. *Journal of Food Science and Technology*. 54, 144–152
- Chang, S., Hossein, A., Mohammadi, Nafchi, A. & hosseini, M.M. (2017).** *Iranian foeniculum vulgare* essential oil and alcoholic extracts: Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and application in olive oil preservation. *Journal of Essential Oil and Bearing Plants*. 19, 1920-1931
- Chiavaro, E., Rodriguez-Estrada, M.T. & Vittadini, E. (2010).** Microwave heating of different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters. *Food Science and Technology*. 43, 1104-1112.
- Chimi, H., Rahmani, M., Cillard, J. & Cillard, P. (1990).** Autoxidation of olive oil: the role of phenols. *Revue Francaise des Corps Gras*. 37, 363-367.

Chimi, H., Cillard, J., Cillard, P. & Rahmani, M. (1991). Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 68, 307-312.

Choe, E. & Min, D.B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5, 179.

Choe, E., Lee, J. & Min, D.B. (2009). Mechanisme of antioxydant in the oxydation of food comprehensive. *Reveiw in Food Science Safety*. 8, 345-358.

Cimato, A. (1990). Effect of agronomic factors on virgin olive oil quality. *Olivae*. 31, 20-31.

Clive, P. P. (1999). Harmacologie intégrée. Editions De Boeck Université, Paris, France. pp. 606.

Commission du codex alimentarius (1993). Graisses, huiles et produits dérivés. pp. 127.

Commission Implementing Regulation (EU) No 1348/2013 (2013). Amending Regulation EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Union L338/31*

Commission Regulation (EEC) No 2568/91 (1991) on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Communities L248/1*

Cortesi, N., Rovellini, P. & Fedeli, E. (2000). Cultivars, technologie et qualité des huiles d'olive. *Olivae*. 81, 26-35.

Covas, M.I. (2007). Benefits of the Mediterranean diet on cardiovascular disease. *Future Cardiology*. 3, 575-578.

Criado, M.N., Romero, Maria, P. & Motilva, MJ. (2007). Effect of the technological and agronomical factors on pigment transfer during olive oil extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 5681-5688.

Croguennec, T. (2006). Science des aliments : Stabilisation biologique et physico-chimique. Tech & doc-.Lavoisier, Paris, France. pp. 382.

Cuvelier, C., Dotreppe, O. & Istasse, I. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 147, 315-324.

Da Silveira, S.M., Luciano, F. B., Fronza, N., Cunha, A., Scheuermann, G.N. & Vieira, C.R.W. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 °C. *LWT -Food Science and Technology*. 59, 86-93.

- Dabbou, S., Gharbi, I., Dabbou, S., Brahmi, F., Nakbi, A. & Hammami, M. (2011).** Impact of packaging material and storage time on olive oil quality. *African Journal of Biotechnology*. 10, 16937-16947.
- Dabire, C., Nebie, R., Belanger, A., Nacro, M. & Sib, F. (2011).** Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 5, 1082-1095.
- Damien, D.H.J., Kosar, M., Kahlos, K., Holm Y. & Hiltunen, R. (2003).** Antioxidant properties and Composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties and cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51, 4563-4569.
- Dashti, N.G., Mirlohi, M., Dashti, M.G., Jafari, M. & Bahreini, N. (2015).** Antioxidant Effect of Thyme Essential Oil on Oxidative Stability of Chicken Nuggets. *International Journal of Food Engeneering*. 1, 115-20.
- David, B., Min Jeffrey, M. & Boff. (2002).** Lipid oxidation of edible oil. Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Editions Casimir, C., Akoh et David B., Min, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Davis, P. (2006).** L'aromathérapie de A à Z. Editions Vigot, Paris, France. pp. 409.
- De la Torre-Robles, A., Monteagudo, C., Mariscal-Arcas, M., Lorenzo-Tovar, M.L., Olea-Serrano, F. & Rivas, A. (2019).** Effect of light exposure on the quality and phenol content of commercial extra virgin olive oil during 12 month storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 96, 381-389.
- De Oliveiraa, T.L. C., de Carvalho, S.M., de Araújo Soaresa, R., Aparecida Andrade, M., das Graças Cardosob, M., Mendes Ramosc, E. & Hilsdorf Piccoli, R. (2012).** Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages form ulated with different levels of sodium nitrite. *LWT - Food Science and Technolohy*. 45, 204 -212.
- Deiana, M., Rosa, A., Cao, C.F., Pirisi F.M., Bandino, G. & Dessi, M.A. (2002).** Novel approach to study oxidative stability of extra virgin olive oils: importance of α -tocopherol concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 4342-4346.
- Dejian, H., Boxin, O., Maureen H-l., Judith A., Flanagan, Ronald L. & Prior, (2002).** High-Throughput assay of oxygen radical absorbancecapacity (ORAC) Using a multichannel liquid handling systemcoupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 437- 4444.

Del Monaco, G., Officioso, A., D'Angelo, S., La Cara, F., Ionata, E., Marcolongo, L., Squillaci, G., Maurelli, L. & Morana, A. (2015). Characterization of extra virgin olive oils produced with typical Italian varieties by their phenolic profile. *Food Chemistry*. 184, 200-228

Del Nobile, M.A., Ambrosino, M.L., Sacchi, R., Masi, P. (2003). Design of plastic bottles for packaging of virgin olive oil. *Journal of Food Science*. 68, 170-175

Delgado-Adámez, J., Baltasar, M.N.F., Concepción Ayuso Yuste, M. & Martín-Vertedor, D. (2014). Oxidative stability, phenolic compounds and antioxidant potential of a virgin olive oil enriched with natural bioactive compounds. *Journal of Oleo Science*. 63, 55-65.

Di Giovacchino, L., Mucciarella, M.R., Costantini, N., Ferrante, M.L., Surricchio, G. & Sestili, S. (2002). Virgin olive oil storage and stability. *Acta Horticulturae*. 586, 567-569.

Dima, C. & Dima, S. (2015). Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*. 5, 29-35.

Djenane D., Yangüela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N. & Roncalés, P. (2011). Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* Against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in Minced Beef. *Food Science and Technologie International*. 17, 505-515.

Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M. & Roncalés, P. (2011). Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*. 22, 1046-1053.

Djenane D., Aïder. M., Javier Y., Idir, L., Diego Gomez, D. & Roncales, P. (2012). Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Science*. 92, 667-674.

Djenane, D., Yangüela, J., Derriche, F., Bouarab, L. & Roncalés, P. (2012a). Extrait de feuilles d'olivier; tests in vitro vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* et *Pseudomonas aeruginosa*: application sur la viande de dinde. *Phytothérapie*. 10, 10-18.

Djenane, D., Lefsih, K., Yangüela, J. & Roncalés, P. (2012b). Composition chimique et activité anti-*Salmonella enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, *Lavandula angustifolia* et *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à 7 ± 1 °C. *Phytothérapie*. 9, 343-353.

- Djenane, D., Yangüela, J., Gómez, D. & Roncalés, P. (2012c).** Perspectives on the use of essential oils as antimicrobials against *Campylobacter jejuni* CECT 7572 in retail chicken meats packaged in microaerobic atmospheres. *Journal of Food Safety*. 32, 37-47.
- Djenane, D., Yangüela, J., Roncalés, P. & Aider, M. (2013).** Use of essential oils as natural food preservatives: effect on the growth of *Salmonella enteritidis* in liquid whole eggs stored under abuse refrigerated conditions. *Journal of Food Research*. 2, 65-78.
- Djenane, D. (2015).** Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of Algerian *Citrus* essential oils and their application in sardina pilchardus. *Foods*. 4, 208-228.
- Djenane, D., Beltrán, J.A., Camo, J. & Roncalés, P. (2016).** Influence of vacuum-ageing duration of whole beef on retail shelf life of steaks packaged with oregano (*Origanum vulgare* L.) active film under high O₂. *Journal of Food Science and Technology*. 53, 4244-4257.
- Djenane, D., Malek, A., Ferhat, MA., Ouelhadj, A. & Ariño, A. (2019).** Effect of the aromatization with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil on the oxidative and microbial stabilities of liquid whole eggs during storage. *Journal of Essential Oil Research*. 20, 1-13.
- Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M. & Ferrari, G. (2011).** Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT Food Science and Technology*. 44, 1908-1914.
- El Riachy, M., Bou-Mitri, C., Youssef, A., Andary, R. & Skaff, W. (2018).** Chemical and Sensorial Characteristics of Olive Oil Produced from the Lebanese Olive Variety 'Baladi'. *Sustainability*. 10, 1-21.
- El-Gharbi, S, Tekaya, M., Bendini, A., Valli, E, Palagano, R., Hammami, M., Toschi, T.G. & Mechri, B. (2018).** Effects of geographical location on chemical properties of Zarazi virgin olive oil produced in the south of Tunisia. *American Journal of Food Science and Technology*. 6, 228-236.
- Elhourri, M., Amechrouq, A., El idrissi, M. & Boughdad, A. (2014).** Etude de la composition chimique et de l'activité insecticide des huiles essentielles de *Dysphania Ambrosioides* (l.) (Chenopodiaceae) et de *daucus carota* (l.) ssp. *carota* (apiaceae) sur *Bruchus lentis* (coleoptra: Chrysomelidae). *Science Lib Editions Mersenne*. 6, 1-11.
- Emam, A., Mohamed M., Diab, Y. & Megally, N. (2010).** Isolation and structure elucidation of antioxidant compounds from leaves of *laurus nobilis* and *Emex spinosus*. *Drug Discoveries & Therapeutics Egypt*. 4, 202-207.
- Endo, Y., Usuki, R. & Kaneda, T. (1984).** Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoléate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 61, 781-784.

Endo, Y., Usuki, R. & Kaneda, T. (1985). Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 62, 1387-1390.

Esmaili, M., Goli, S.A., Shirvani, A. & Shakerardakani, A. (2018). Improving storage stability of pistachio oil packaged in different containers by using rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and peppermint (*Mentha piperita*) essential oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 120, 1-10.

Esposito, S., Taticchi, A., Urbani, S., Selvaggini, R., Veneziani, G., Di Maio, I. & Servili, M. (2017). Effect of light exposure on the quality of extra virgin olive oils according to their chemical composition. *Food Chemistry*. 229, 726-733.

Estévez, M., Ventanas, S. & Cava, R. (2006). Effect of natural and synthetic antioxidants on protein oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver pâté. *Meat Science*. 74, 396-403.

Estévez, M. & Cava, R. (2006). Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Science*. 72, 348-355.

Estevez, M., Ramirez, R., Ventanas, S. & Cava, R. (2007). Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. *Food Science and Technology*. 40, 58-65.

Eymard, S. (2003). Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat, École polytechnique de l'Université de Nantes, France. pp. 125.

Fadda, C.A., Del Caro, A.M., Sanguinetti, P.P., Urgeghe V., Vacca P.P., Arca, A. & Piga. (2012). Changes during storage of quality parameters and in vitro antioxidant activity of extra virgin monovarietal oils obtained with two extraction technologies. *Food Chemistry*. 134, 1542-1548.

Fakourelis, N., Lee, E.C. & Min, D.B. (1987). Effects of chlorophyll and β -carotene on the oxidation stability of olive oil. *Journal of Food Science*. 52, 234-235.

Fernández-Arroyo, S., Gómez-Martínez, A., Rocamora-Reverte, L., Quirantes-Piné, R., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. & Ferragut, J.A. (2012). Application of nano LC-ESI-TOF-MS for the metabolomic analysis of phenolic compound from extra-virgin olive oil in treated colon-cancer cells. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 63, 128-134.

Ferradji, A. (2011). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magister en Biochimie. Université de Sétif, Algérie

Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, I., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A. & Zheljzakov, V.D. (2019). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria. *Molecules*. 24, 804.

Firenzuoli, F., Jaitak, V., Horvath, G., Bassolé, I. H.N., Setzer, W.N. & Gori, L. (2014). Essential oils: new perspectives in human health and wellness. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014, 1-3.

Fisher, K., Rowen, C. & Phylips, C. (2007). The survival of three strains of *Acrobacter butzleri* in the presence of lemon orange and bergamot essential oils and their components in vitro and food. *Letter in Applied Microbiology*. 44, 495-499.

Florentin, M.C.N.F., Maximilienne, A.N., Sylvain, L.S.K., Riwom, H.S.E. & Franccedilois Xavier, E. (2016). Chemical composition, antioxidant effects and antimicrobial activities of some spices essential oils on food pathogenic bacteria. *African Journal of Biotechnology*. 15, 649-656.

Franchomme, P. & Penoel, D. (1990). Matière médicinale aromatique fondamentale. *L'aromathérapie Exactement*. 4, 317-446.

Franchomme, P., Jollois, R. & Penoël, D. (2001). L'Aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. Éditions Roger Jollois, France.

Frankel, E.N. (1984). Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 12, 1908-1917.

Frankel, E.N. (1998). Lipid oxidation. The oily press, Dundee (UK).

Frega, N., Mozzon, M. & Lercker, G. (1999). Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 76, 325-329.

Fregapane, G. & Salvador, M.S. (2013). Production of superior quality extra virgin olive oil modulating the content and profile of its minor compounds. *Food Research International*. 54, 1907-1914.

Frénot, M. & Vierling, E. (2002). Biochimie des aliments: diététique du sujet bien portant. Biosciences et techniques. Sciences des aliments. Editions Doin, France. pp. 297.

Garcia, A., Brenes, F. & Martínez, F. (2001). HPLC evaluation of phenols in virgin olive oil during extraction at laboratory and industrial scale. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78, 625-629.

García-Villalba, R., Carrasco-Pancorbo, A., Oliveras-Ferraros, C., Menéndez, J. A., Segura-Carretero, A. & Fernández-Gutiérrez, A. (2012). Uptake and metabolism of olive oil polyphenols in human breast cancer cells using nano-liquid chromatography coupled to electrospray ionization–time of flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 898, 69-77.

Gargouri, B., Zribi, A. & Bouaziz, M. (2015). Effect of container on quality of chamlali olive oil during storage. *Journal of Food Science and Technology*. 52, 1948-59.

Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L. & Debraux, G. (1961). Ressources médicinales de la flore française. Editions Vigot Frères Editeurs. 665-666.

Gavrilovic, M., Maginot, M.J. & Wallach, J. (1996). Manipulation et analyse biochimique. Editions Wolters Kluwer, France. pp. 453.

German, J.B. & Kinsella, J.E. (1985). Lipid oxidation in fish tissue, enzymatic initiation via lipooxygenase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33, 680-683.

Gertz, C., Klostermann, S. & Kochhar, S.P. (2000). Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 102, 543-551.

Ghanbari Shendi, E., Sivri Ozay, D., Mucahit Taha Ozkaya, TM., Nimeti, F. & Ustunel, H. (2018). Changes occurring in chemical composition and oxidative stability of virgin olive oil during storage. *Oil Seeds & Fats Crops and Lipids*. 25, 602-610

Gimeno, A.I. E.Castellote, R.M. Lamuela-Raventós, M.C. & De López-Sabater La Torre, M.C. (2002). antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*. 78, 207-211.

Gimeno, E., Fitó, M., Lamuela-Raventós, R.M., Castellote, A.I., Covas, M. & Farré, M. (2002). Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56, 114-120.

Giordani, R. & Kaloustian, J. (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles: leurs concomitante avec des médicaments antifongique. *Phytothérapie*. 4, 121-124.

Giuffrida, D., Salvo, F., Andrea, S., La Pera, L. & Giacomo, D. (2007). Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various sicilian olive varieties. *Food Chemistry*. 101, 833-837.

Gómez-Alonso, S., Salvador, M.D. & Fregapane, G. (2002). Phenolic compounds profile of Cornicabra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 6812-6817.

Gómez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Salvador, M.D. & Fregapane, G., (2004). Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf life testing (25-75°C). *European Journal of Lipid Science and Technology*. 106, 369-375.

Gómez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Salvador, M.D. & Fregapane, G. (2007). Evolution of major and minor components and oxidation indexes of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. *Food Chemistry*. 100, 36-42.

Gómez-Rico, A., Fregapane, G. & Salvador, M.D. (2008). Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*. 41, 433-440.

Graille, J. (2003). Lipides et corps gras alimentaires. Editions Tec & Doc: Lavoisier. (Sciences et Techniques Agroalimentaires), Paris, France. pp. 469.

Grosso, A.L., Asensio, C. M., Nepote, V. & Grosso, N.R. (2018). Antioxidant Activity Displayed by Phenolic Compounds Obtained from Walnut Oil Cake used for Walnut Oil Preservation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 95, 1409-1419.

Guil-Guerrero, J.L. & Urda-Romacho, J. (2009). Quality of extra virgin olive oil affected by several packaging variables. *Grasas y Aceites*. 60, 125-133.

Guilhem, J. (2006). Huiles Essentielles: A tous majeurs dans le conseil à l'officine. 2^{ème} Forum Pharmacien, France. pp. 10. http://www.doc-developpement-durable.org/file/Huiles-essentielles/FICHES_PLANTES&HUILES/HE_conseils-a-officine.pdf.

Guillén, M.D. & Cabo, N. (2002). Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Journal of Food Chemistry*. 77, 503-510.

Guillén, M.D. & Goicoechea, E. (2008). Formation of oxygenated α , β -unsaturated aldehydes and other toxic compounds in sunflower oil oxidation at room temperature in closed receptacles. *Food Chemistry*. 111, 157-164.

Guillén, M.D. & Goicoechea, E. (2009). Oxidation of corn oil at room temperature: Primary and secondary oxidation products and determination of their concentration in the oil liquid matrix from ¹H nuclear magnetic resonance. *Food Chemistry*. 116, 183-192.

Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 58, 966-968.

Gutiérrez-Rosales, F., Gómez-Herrera, C. & Gutierrez-González-Quijano, R. (1988). Estudios de la cinética de evolución de los índices de calidad del aceite de oliva virgen durante su conservación en envases comerciales. *Grasas y Aceites*. 39, 245-253.

Gutierrez-Rosales, F., Garrido-Fernandez, J., Gallardo-Guerrero, L., Gandul-Rojas, B. & Minguez-Mosquera, I.M. (1992). Action of chlorophylls on the stability of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 69, 866-71.

Gutiérrez, F. Jimenez, B. Ruiz, A. & Albi, M.A. (1999). Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 121-127.

Gutiérrez, A.F. & Carretero, A.S. (2009). El Aceite de Oliva Virgen 13 perspectivas concatenadas: Tesoro de Andalucía I.S.B.N. 978-84-92526-30-7

Haderbache, K.H. (2011). Les techniques d'extraction des huiles essentielles par: micro ondes. Editions Universitaires Europeennes, Paris. pp. 68.

Hamiani, A., Kambouche, N. & Bellahouel, S. (2016). Chemical composition and antioxidant potential of *Pistacia lentiscus* L. essential oil from Oran (Algeria). *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 7, 539-544

Harzallah-Skhiri, F., Chéraif, I., Ben Jannet, H. & Hammami, M. (2005). Chemical composition of essential oils from leaves-stems, flowers and roots of *Inula graveolens* from Tunisia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8, 249-254.

Hashempour, A., Fotouhi, R., Davood, G., Bakhshi, S. & Sanam, A. (2010). Fatty acids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europea* L.) in five cultivars grown in Iran. *Australian Journal of Crop Science*. 4, 258-263.

Holman, R.T. & Elmer, O.C. (1947). The rates of oxidation of unsaturated fatty acids and esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 24, 127.

Holstein, A., Thiebaut, L. & Lavrdiere, F. (1999). Dossier couplage: les principales methods d'analyse. Centre Sciences des Processus Industriels et Naturel (SPIN). pp. 51.

Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*. 108, 986-995.

Ilyasoglu, H., Ozcelik, B., Van Hoed, V. & Verhe, R. (2010). Characterization of Aegean olive oils by their minor compounds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 87, 627-636.

- Inglese, P. (1994).** L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*. 54, 42-44.
- Inouye, S. & Abe, S. (2007).** Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie*. 1, 2-4.
- Isman, M.B. (2006).** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annals Review Entomology*. 51, 45-66.
- Issaoui, M., Flamini, Gu., Brahmi, F., Dabbou, S., Ben Hassine, K., Taamali, A., Chehab, H., Ellouz M., Zarrouk, M. & Hammami, M. (2010).** Effect of the growing area conditions on differentiation between Chemlali and Chétoui olive oils. *Food Chemistry*. 119, 220-225.
- Issaoui M., Flamini, G., Ellouze Hajaij, M., Luigi Cioni, P. & Hammami, M., (2011).** Oxidative evolution of virgin and flavored olive oils under thermo-oxidation processes. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 88, 1339-1350.
- Issaouia, M., Bendini, A., Souid, S., Flamini, G., Barbieri, S., Toschi, T.G. & Hammami, M. (2019).** Flavored olive oils: focus on their acceptability and thermal stability. *Grasas y Aceites*. 70, 293.
- Ivan, A. (2001).** Ross - medicinal plants of the world, chemical constituents, traditional and modern medicinal uses. Humana Press. United States of America. 2, 261-264.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. & Madhavi, D.L. (1996).** Lipid oxidation in biological and food systems. *Food Antioxidants*. 60, 19-78.
- Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qia, H. & Yao, W. (2018).** Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 58, 1-14.
- Judde, A. (2004).** Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique. *Oléagineux Corps Gras Lipides*. 11, 414-418.
- Juhaimi, F.A., Uslu, N., Özcan, M. M., Ghaffoor, K. & Babiker, E.E. (2016).** The effect of rosemary essential oil on physico-chemical properties of extra-virgin olive oil stored in colourful bottles. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 8, 327-331.
- Kalantzakis, G., Blekas, G., Pegklidou, K. & Boskou, D. (2006).** Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 108, 329-335.

Kalua, C.M., Allen, M.S., Bedgood, D.R., Bishop, A.G., Prenzler, P.D. & Robards, K. (2007). Olive oil volatile compounds flavour development and quality: *A Critical Review Food Chemistry*. 100, 273-286.

Kanavouras, A. & Coutelieris, F.A. (2006). Shelf-life predictions for packaged olive oil based on simulations. *Food Chemistry*. 96, 48-55

Kanner, J. & Osenthal, I. (1992). Assessment of Lipid Oxidation in Foods. *Pure and Applied Chemistry*. 64, 1959-1964.

Keceli, T. & Gordon, M.H., (2002). Ferric ions reduce the antioxidant activity of the phenolic fraction of virgin olive oil. *Journal of Food Science*. 67, 943-947.

Keramat, M., Golmakani, M.T., Aminlari, M. & Shekarforoush, S.S. (2016). Comparative effect of *Bunium persicum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their synergy with citric acid on the oxidation of virgin olive oil. *International Journal of Food Properties*. 19, 2666-2681.

Keramat, M., Golmakani, M.T., Aminlari, M. & Shekarforoush, S. (2017). Oxidative stability of virgin olive oil supplemented with *Zataria multiflora* Boiss. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils during accelerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 41, 1-12.

Keramat, M., Golmakani, M.T., Aminlari, M. & Shekarforoush, S.S. (2018). Improving Oxidative Stability of Virgin Olive Oil: Comparison of Zataria Multiflora Essential Oil with α -Tocopherol. *Nutrition and Food Sciences Research*. 5, 19-28.

Khemakhem, I., Yaiche, C., Ayadi, M.A. & Bouaziz, M. (2015). Impact of aromatization by *Citrus limetta* and *Citrus Peels* on olive oil quality, chemical composition and heat stability. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 92, 701-708.

Kim, H.J., Hahm, T.S. & Min, D.B. (2007). Hydroperoxid as a prooxidant in the oxidative stability of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 84, 349-355.

Kiritsakis, A. & Dugan, L.R. (1985). Studies in photooxidation of olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 62, 892-896.

Kiritsakis, A. & Markakis, P. (1987). Olive oil: a review. *Advances in Food Research*. 31, 453-482.

Kiritsakis, A.K. (1990). Chemistry of olive oil. In: Kiritsakis AK., ed. *Olive oil*. Champaign, IL: *American Oil Chemists' Society*. 25-55.

Kiritsakis, A. & Tsepeli, A. (1992). Relationship of the acidity of olive oil to its resistance to oxidation. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 69, 513-515.

- Kiritsakis, A.K. (1993).** La chimie de l'arôme de l'huile d'olive. *Olivae*. 45, 28-33.
- Kiritsakis, A.K. (1998).** Flavor of olive oil. *A Review Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75, 673-681.
- Knasmuller, H., Negishi, T. & Arimoto-Kobayashi, S. (2009).** Chemoprevention of cancer and DNA damage by dietary factors. Wiley-VCH Editions. pp. 787.
- Koffi Apeti, G., Komlan B., Kouassi, A. & Koffi, A. (2013).** Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum basilicum L.* (Lamiaceae) et *Cymbopogon schoenanthus L.* Spreng. (Poaceae) sur des micromycètes influençant la germination du Maïs et du Niébé . *Acta botanica Gallica: bulletin de la Société botanique de France*.
- Koul, O., Walia, G.S. & Dhaliwal, S. (2008).** Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. *Biopesticides International*. 4, 63-84.
- Kristott, J. (2000).** The stability and shelf-life of food. Fats and oils. In Kilcast D & Subramaniam P. Editions. 279-309.
- Ksouda, G., Sellimi, S., Merlier, F., Falcimaigne-cordin, A., Thomasset, B., Nasri, M. & Hajji, M. (2019).** Composition, antibacterial and antioxidant activities of *Pimpinella saxifraga* essential oil and application to cheese preservation as coating additive. *Food Chemistry*. 288, 47-56
- Lamy, S., Ouanouki, A., Béliveau, R., Richard, R. & Esrosiers, D. (2014).** Olive oil compounds inhibit vascular endothelial growth factor receptor-2 phosphorylation. *Experimental Cell Research*. 322, 89-98.
- Laurain Mattar, D. (2018).** Critères de qualité des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*. 57, 18-20.
- Lavelli, V., Fregapane, G. & Salvador, M.D. (2006).** Effect of storage on secoiridoid and tocopherol contents and antioxidant activity of monovarietal extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 3002-3007.
- Lawrence, B. M. (2010).** Genuine essential oils: Mother Nature's chemical factory, *Bulletin Technique Gattefossé*. 103, 31-50.
- Leandro, T., De Oliveiraa, C., Malfitano, S., De Carvalho, B., De Araújo Soaresa, R., Aparecida Andrade, M., Das Graças Cardosob, M., Ramosc, E.M. & Piccoli, R.H. (2012).** Antioxidant effects of *Satureja montana L.* essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages form ulated with different levels of sodium nitrite. *LWT - Food Science and Technology*. 45, 204-212.

- Lichtenthaler, H.K. (1987).** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*. 148, 350-382.
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Pichardo, S., Bermudez, J.M., Baños, A., Ariza, J.J., Guillamón, E. & Cameán, A.M. (2018).** Characterisation and antimicrobial activity of active polypropylene films containing oregano essential oil and Allium extract to be used in packaging for meat products. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 35, 783-792.
- Lobstein, A., Couic-marinier, F. & Briot, C. (2017).** Huile essentielle de Laurier noble. *Actualités Pharmaceutiques*. 571, 57-60.
- Lombard, A. & Filoche, S. (2002).** *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter, 1973. In Muséum national d'Histoire naturelle [Ed]. Conservatoire botanique national du Bassin parisien, site Web. <http://www.mnhn.fr/cbnp>.
- Luna, G., Morales, M.T. & Aparicio, R. (2006).** Changes induced by UV radiation during virgin olive oil storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 4790-4794.
- Madani, L., Derriche, R. & Haoui, I.E. (2014).** Essential oil of Algerian *Inula viscosa* leaves. *Journal of Essential Oil and Bearing Plants*. 17, 164-168.
- Maestri, D., Jose, M., Labuckas, D.O., Lamarque, A.L., Zygodlo, J. & Guzmán, CA. (1997).** Evaluation of the antioxidant potentiality of anethole, eugenol, thymol and 1, 8-cineole in soybean oil. *An Asoc Quim Argent*. 85, 179-187.
- Maggio, R.M., Valli, E., Bendini, A., Gómez-Caravaca, A.M., Toschi, T.G. & Cerretani, L. (2011).** A spectroscopic and chemometric study of virgin olive oils subjected to thermal stress. *Food Chemistry*. 127, 216-221.
- Mahboubi, M. (2011).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Dittrichia graveolens* L. Greuter essential oil. *Herba Polonica*. 57, 20-31.
- Malheiro, R., Casal, S., Lamas, H., Bento, A. & Pereira, J.A. (2012).** Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International*. 48, 148-154.
- Marc, F., Davin, A. & Deglene-Benbrahim, L. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine /Sciences*. 20, 458-463.
- Marouf, A. & Tremblin, G. (2009).** Cellules végétales et animales. In: abrégé de biochimie appliquée. Editions Grenoble Science Abrégé de Biochimie Appliquée, France. 341-351.
- Marzouki, H., Khaldi, A., Chamli, R., Bouzid, S., Piras, A., Falconieri, D. & Marongiu, B. (2009).** Biological activity evaluation of the oils from *Laurus nobilis* of Tunisia and Algeria extracted by supercritical carbon dioxide. *Natural Product Research*. 23, 230-237.

Mascret, C. (2010). La réglementation régissant les huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*.49, 54-56.

Mateos, R.M.B. (2002). Caracterización de componentes fenólicos del aceite de oliva y su relación con la estabilidad oxidativa y el amargo. PhD thesis, Universidad de Sevilla, Espane.

Maurice, R. (2014). Livre Angiospermes Arbres et arbustes feuillus. Editions Ulmer, Paris (France).

Mazandarani, M., Ghafourian, M. & Khormali, A. (2014). Ethnopharmacology, antibacterial and antioxidant activity of *Dittrichia graveolens* [L.] W Greuter. which has been used as remedies antirheumatic, anti-inflammation and antiinfection against *Leishmaniasis* in the traditional medicine of Gorgan, Iran. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*. 1, 125-129.

Médart, J. (2009). Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative *Médecine : spécialités* . Éditions De Boeck Supérieur, France. pp.314.

Medeiros, M.D. (2001). Olive oil and health benefits. In R.E.C. Wildman (Ed). The handbook of nutraceutical and functional foods, Boca Raton, FL: CRC Press. 261-267

Mediouni, Ben Jemâa J., Tersim, N., Taleb Toudert, K. & Larbi Khouja, M. (2012). Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*. 48, 97-104.

Meftah, H., Latrache, H., Hamadi, F., Hanine, H., Zahir, H. & El louali, M. (2014). Comparison of the physico-chemical characteristics of the olive oil coming from different zones in Tadla Azilal area (Morocco). *Journal of Materials and Environmental Science*. 5, 641-646.

Mendez, A.I. & Falqué, E. (2007). Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. *Food Control*. 18, 521-529.

Messaoudi, S. (2008). Les plantes médicinales. Troisième édition, Dar Elfikr. Tunis. 23-181

Michele, V. (2001). Tecnologie e trasformazioni dei prodotti agrari. Bologna, Edagricole. Editions Edagricole Scolastico, Italie. pp. 630.

Miguel, M., Antunes, M.D., Rohaim, A., Figueired, A.C., Perdo, L.G. & Barroso, J.G. (2014). Stability of fried olive and sunflower oils enriched with *Thymbra capitata* essential oil. *Czech Journal of Food Science*. 32, 102-108.

Millet, F. (2014). Huiles essentielles et essence de citronnier (*Citrus limon* (L.) Burm. f.). *Phytotherapie*. 12, 89-97

- Minguez-Mosquera, M.I., Rejano-Navarro, L., Gandulrojas, B., Sanchez Gomez, A.H. & Garrido-Fernandez, J. (1991).** Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 86, 332-336.
- Mirjana, S. & Nada, B. (2004).** Chemical composition and antimicrobial variability of *Satureja montana* L. essential oils produced during ontogenesis. *Journal Essential Oil Research*.16, 387-91.
- Mirza, M. & Ahmadi, L. (2000).** Composition of the Essential Oil of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter. *Journal of Essential Oil Research*. 12, 507-508.
- Miyashita, K., Frankel, E.N., Neff, W.E. & Awl, R.A. (1990).** Autoxidation of polyunsaturated triacylglycerols III Synthetic triacylglycerols containing linoleate and linolenate. *Lipids*. 5, 48-53.
- Mohammadian, M.A., Sharifi, M., Abolghasemi, S.N. & Mohammadi, N. (2015).** Investigation of some medicinal secondary metabolites and antioxidants of *Dittrichia graveolens* L. Greuter. *Nova Biologica Reperta*. 22, 140-150.
- Moll, M. & Moll, N. (1998).** Les additifs alimentaires et auxiliaires technologiques. Editions Dunod, Paris, France. pp. 218.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26, 211-219.
- Morales, M.T. & Przybylski, R. (2000).** Olive oil oxidation. In Harwood J, Aparicio R (Eds). Handbook of olive oil. Analysis and properties. Gaithersburg Maryland: Aspen Publ. Inc. 459-485.
- More, D. & White, J. (2013).** Encyclopédie des arbres plus de 1800 espèces et variétés du monde. Editions Flammarion, Paris, France. pp. 831.
- Morel, J.M. (2008).** Traité pratique de phytothérapie: remèdes d'hier pour médecin de demain. Editions Jacques Grancher, France. pp. 618
- Morelle-Lauzanne, E. (2006).** L'alimentation, le stress oxydatif: sources de lipoperoxydation, comment s'en protéger. *Phytothérapie*. 4, 234-240.
- Morello, J.R., Motilva, M.J., Tovar, M.J. & Romero, M.P. (2004).** Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*. 85, 357-64.
- Morot, J.F. & farineau, G.J. (2011).** La photosynthèse: processus physique, moléculaire et physiologique, Editions Quae, France. pp. 403.

Moussard, C. (2002). Biochimie structurale et métabolique: médecine, pharmacie, sciences. Editions De Boeck Supérieur, Belgique. pp. 336.

Moyano, M.J., Antonio, J. Meléndez-Martínez, J., Alba, A. & Heredia Francisco, J. (2008). A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIEXYZ non-uniform colour space. *Food Research International*. 41, 505-512.

Multon, J.L. (2002). Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. (Sciences et Techniques Agroalimentaires). Editions Tec & Doc, Lavoisier Paris, France. pp .747.

Muratore, G. (2014). Quality changes of extra virgin olive oil packaged in coloured polyethylene terephthalate bottles stored under different lighting conditions. *Packaging and Technology Science*. 27, 437-448.

Nalda, R., Saavedra, J., Tapia F., Sepúlveda, B. & Aparicio, R. (2015). Influence of agroclimatic parameters on phenolic and volatile compounds of Chilean virgin olive oils and characterization based on geographical origin, cultivar and ripening stage. *Journal of Science Food and Agriculture*. 96, 583-592.

Nasrin Aghel, A., Mahmoudabadi A.Z. & Darvishi, L. (2011). Volatile constituents and anti candida activity of the aerial parts essential oil of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter grown in Iran. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5, 772-775.

Negro, C., De Bellis, L. & Miceli, A. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* essential oil from Southern Italy (Apulia). *Journal of Essential Oil Research*. 27, 23-29.

Nemati, Z., Talebi, E., Khosravinezhad, M. & Golkari, H. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of Iranian *Satureja montana*. *Science International*. 6, 39-43

Nocella, C., Cammisotto, V., Fianchini, L., D'Amico, A.I., Novo, M., Castellani, V., Stefanini, L., Violi, F. & Carnevale, R., (2018). Extra Virgin Olive Oil and Cardiovascular Diseases: Benefits for Human Health. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*. 18, 4-13.

Nour, V., Corbu, A.R., Rotaru, P., Karageorgou, I. & Lalas, S. (2018). Effect of carotenoids, extracted from dry tomato waste, on the stability and characteristics of various vegetable oils. *Grasas y Aceites*. 69, 238.

Ocakoglu, D., Tokatli, F., Ozen, B. & Korel, F. (2009). Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*. 113, 401-410.

- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. & Altundag, S. (2009).** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*. 112, 874-879.
- Okogeri, O. & Tasioula-Margari, M. (2002).** Changes occurring in phenolic compounds and tocopherol of virgin olive oil during storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50, 1077-1080.
- Okogeri, T.M. (2001).** Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. *Food Chemistry*. 74, 377-383.
- Olfa, O., Chahed, T., Ksouri, R., Ben Taarit, M., Faleh, H., Abdelly, C., Kchouk, M.E. & Marzouk, B. (2011).** The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24, 103–110.
- Oliveiraa, T.L. C., Carvalho, S.M., Araújo Soares, R., Aparecida Andrade, M., Das Graças Cardosob, M., Mendes Ramosc, E. & Hilsdorf, P.R. (2012).** Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *Food Science and Technology*. 45, 204-212.
- Ootani, MA., Raimundo, WA., Ramos, A.C.C., Brito DR., Da Silva, J.B. & Cajazeira, J.P. (2013).** Use of essential oils in agriculture. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 4, 162-174
- Ouibrahim, A., Tlili-Ait kaki, Y., Bennadja, S., Mansouri, R., Ait kaki, S., KHBIZI, S. & Djebbar, M.R. (2015).** Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal of Natural Products*. 3, 209-216.
- Ouni, Y., Taamalli, A., Guerfel, M., Abdelly, C., Zarrouk, M. & Flamini, G. (2012).** The phenolic compounds and compositional quality of Chétoui virgin olive oil: Effect of altitude. *African Journal of Biotechnology*. 11, 11842-11850.
- Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L. & Lacroix, M. (2004).** Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 5598-5605.
- Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B. & Bartsch, H. (2000).** Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chemistry and Toxicology*. 38, 647-59.

- Ozcan, B., Esen, M., Sangun, M.K., Coleri, A. & Caliskan, M. (2010).** Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*. 31, 637-641.
- Ozcan, M. & Chalchat, J. (2005).** Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves growing wild in Turkey. *Journal of Medicinal Food*. 8, 408-411.
- Ozen, T., Demirtas, I. & Aksit, H. (2011).** Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *Skorpilii*. *Food Chemistry*. 124, 58-64.
- Ozkan, G., Simsek, B. & Kuleasan, H. (2007).** Antioxidant activities of *Satureja Cilicica* essential oil in butter and in vitro. *Journal of Food Engineering*. 79, 1391-1396.
- Ozogul, Y., Kuley, E., Ucar, Y. & Ozogul, F., (2015).** Antimicrobial impacts of essential oils on food borne-pathogens. Recent patents on food. *Nutrition & Agriculture*. 7, 53-61.
- Palacio, S., Milla, R. & Montserrat-Martí, G. (2005).** A phenological hypothesis on the thermophilous distribution of *Pistacia lentiscus* L. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 200, 527-534.
- Palozza, P. & Krinsky, N.I. (1992).** β -carotene and α -tocopherol and synergic antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 297, 184-187.
- Papadopoulos, G. & Boskou, D. (1991).** Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 68, 669-671.
- Park, I.K., Lee, S.G., Choi, D.H., Park, J.D. & Ahn, Y.J. (2003).** Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Stored Products Research*. 39, 375-384.
- Pejovic, J, Barbarić, M., Jakobusic. & Brala, C. (2014).** Olive oil - Composition and biological activity of phenolic compounds. *Farmaceutski Glasnik*. 70, 69-86.
- Pelletier, X., Belbraouet, S. & Mirabel, D. (1995).** A diet moderately enriched in phytosterols lowers plasma cholesterol concentrations in normocholesterolemic humans. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 39. 291-295.
- Pérez, S.G., Ramos-López, M.A. & Zavala-Sánchez, M.A.N.C. (2010).** Cárdenas-Ortega, activity of essential oils as a biorational alternative to control coleopteran insects in stored grains. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4, 2827-2835.

- Perino, S., Petitcolas, E. & Chemat, F. (2017).** Microwave extraction of natural products in the teaching laboratory: fundamentals of essential oils green extraction. In book: Microwave Chemistry. 293-301
- Perrin, J.L. (1992).** Minor constituents and natural antioxidants in olives and olive oil. *Revue Francaise des Corps Gras*. 39, 25-32.
- Perry, N.B., Anderson, R.E. & Bernnan N.J. (1999).** Essential oils from Dalmatian sage (*Salvia officinalis*): variation among individuals, pants, seasons, and sites. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47, 2084-2054.
- Petropoulou, A., Tzakou, O. & Verykokidou, E. (2004).** Volatile constituents of *Dittrichia graveolens* [L.] Greuter from Greece. *Journal of Essential Oil and Research*.16, 400-401.
- Phillips, T.W. & Trone, J.E. (2009).** Biorational approaches to managing stored-product insects. *Annuels Reviwes and Entomology*. 55, 375-397.
- Pinatel, C., Petit, C., Ollivier, D. & Artaud, J. (2004).** Outils pour le suivi de la qualité de l'huile d'olive vierge et son amélioration. *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*. 11, 217-219.
- Polese, J.M. (2006).** La culture des plantes aromatiques: Les clefs du jardinage. Editions Artemis, France. pp. 93.
- Politeo, O., Juki, M. & Milo, M. (2007).** Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (*Laurus nobilis* L.) compared to its essential oil. *Croatica Chemica Acta*. 80, 121-126.
- Prieto, J.M., Patrizia, I., Pierluigi, C. & Silvio, C. (2007).** In vitro activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents inperoxyinitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*. 104, 889-895.
- Prior, E. (2003).** Lipides et corps gras alimentaires : usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. Editions Tech et Doc-Lavoisier, Paris, France. 157-187.
- Pristouri, G., Badeka, A. & Kontominas, M.G. (2010).** Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission, temperature and storage time on quality characteristics of oil extra virgin olive oil. *Food Control*. 21, 412-418.
- Psomiadou, E. & Tsimidou, M. (1998).** Simultaneous HPLC Determination of Tocopherols Carotenoids, and Chlorophylls for Monitoring Their Effect on virgin Olive Oil Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, 5132-5138.
- Psomiadou, E., Tsimidou, M. & Boskou, D. (2000).** α -tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 1770-1775.

- Puértolas, I. E. & De Marañón, M. (2015).** Olive oil pilot-production assisted by pulsed electric field: Impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food Chemistry*. 167, 497-502.
- Quezel, P. & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions CNRS. Tome I, France. pp. 565.
- Quezel, P. & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions CNRS Tome II, France. pp. 940.
- Rafiee, Z., Alami, M., Jafari, S.M. & Khomeir, M. (2018).** Antioxidant effect of microwave-assisted extracts of olive leaves on sunflower oil. *Journal of Agriculture Science And Technology*. 4, 1497-1509.
- Rahmani, M. & Saad, L. (1989).** Photooxidation of olive oils: effect of chemical composition. *Revue Francaise des Corps Gras*. 36, 355-360.
- Rahmani, M. (1989).** Mise au point sur le rôle des pigments chlorophylliens dans la photooxydation de l'huile d'olive vierge. *Olivae*. 26, 30-32.
- Rahmani, S. & Csallany, A. (1998).** Role of minor constituents in the photooxidation of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75, 837-843.
- Raicht, R.F., Cohen, B.I., Fazzini, EP., Sarwal, A.N. & Takahashi, M. (1980).** Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *Cancer Research*. 40, 403-405.
- Raynaud, J. (2006).** Prescription et conseil en aromathérapie. Editions Lavoisier, Paris, France. pp. 930.
- Rizzo, V., Torri, L., Licciardello, F, Piergiovanni, L. & Muratore, G. (2014).** Quality Changes of Extra Virgin Olive Oil Packaged in Coloured Polyethylene Terephthalate Bottles Stored under Different Lighting Conditions. *Packaging Technology and Science*. 27, 437-44
- Romani, P., Pinelli, C., Galardi, N., Mulinacci, M. & Tattini, M. (2002).** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus L.* *Phytochemical Analysis*.13, 79-86.
- Rowan, K.S. (1989).** Photosynthetic pigments of algae. Cambridge University Press. Editions CUP, Archive, France. pp. 334.
- Rubio, L., Motilva, MJ., Macia, A., Tomás Ramo, T. & Romero, M.P. (2012).** Development of a phenol-enriched olive oil with both its own phenolic compounds and complementary phenols from Thyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60, 3105-3112.

- Saavedra, T., Dandlen, S., Neves, Maria A. & Miguel, M. (2015).** Stability of olive oils during storage in the presence of *Thymbra capitata* essential oil: Stability of olive oils. *Agro Food Industry Hi Technology*. 26, 61-65
- Saguy, I.S. & Dana, D. (2003).** Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. *Food Chemistry*. 50, 143-152.
- Sahin, F., Güllüce, M. & Daferera, D. (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the eastern Anatolia region of Turkey. *Food Chemistry*. 15, 549-557.
- Sahraoui, N., Abchich, H. & Mellal, M. (2018).** Optimisation par plan d'expériences de l'extraction de l'huile essentielle du *thymus palleseus*. *International Journal of Scientific Research and Engineering Technology*. 85-93.
- Salazar, D.M., López Cortés, I. & Salazar García, D.C. (2017).** Olive oil: composition and health benefits. In: Fritjof T., Henning B. (Eds.). *Olive Oil. Sensory Characteristics, Composition and Importance in Human Health*. New York, Nova Science Publishers. 1-37.
- Salvador, M.D., Aranda, F. & Fregapane, G. (2001).** Influence of fruit ripening on Corincaabra Virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*. 73, 45-53.
- Samaniego-Sanchez, C., Oliveras-Lopez, M.J., Quesada-Granados, J.J., Villalón-Mir, M. & Lopez-G-Serrana, H. (2012).** Alterations in picual extra virgin olive oils under different storage conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 114, 194-204.
- Sánchez-Rubio, M., Taboada-Rodríguez, A. & Cava-Roda, R. (2018)** Combined use of thermo-ultrasound and cinnamon leaf essential oil to inactivate *Saccharomyces cerevisiae* in culture broth and natural orange juice. *Journal of Food Science and Technology*. 55, 4623-4633.
- Sanmartin, C., Venturi, F., Sgherri, C., Nari, A., Macaluso, M., Flamini, G. & Zinnai, A. (2018).** The effects of packaging and storage temperature on the shelf-life of extra virgin olive oil. *Heliyon*. 4, 1-18.
- Satue, M.T., Huang, S.W. & Frankel, E.N. (1995).** Effect of natural antioxidant in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 72, 1131-1137.
- Savarese, M., De Marco, E., Caporaso, N. & Sacchi, R. (2013).** Extra virgin olive oil overall quality assessment during prolonged storage in PET containers. *1st Global Virtual Conference - Section Agriculture*. 1, 674-679.

Sayyari, Z. & Farahmandfar, R. (2017). Stabilization of sunflower oil with pussy willow (*Salix aegyptiaca*) extract and essential oil. *Food Science & Nutrition*. 5, 266-272.

Schaich, K.M. (2005). Lipid Oxidation: Thorical aspects. In F.Shahidi (Ed), Bailey's Industrial Oil and Fat Products. John Wiley & Sons, Inc. 269-354.

Scoditti, E., Capurso, C., Capurso, A. & Massaro, M. (2014). Vascular effects of the Mediterranean diet—Part II: Role of omega-3 fatty acids and olive oil polyphénols. *Vascular Pharmacology*. 63, 1-8.

Servili, M., Sordini, B., Esposito, S., Urbani, S., Veneziani, G., Di Maio, I., Selvaggini, R. & Taticchi, A. (2014). Biological activities of phenolic compounds of extra virgin olive oil. *Antioxidants*. 3, 1-23.

Shaaya, E. & Kostyukovsky, M. (2009). The potential of biofumigation as alternatives to methyl bromide for the control of pest infestation in grain and dry food. In Kirakosyan A., Kaufman P.B. *Recent Advances in Plant Biotechnology*. 389-403.

Shadi, C., Hossein, A., Abdorreza, M.N., Heydari, A. & Hosseini, M.M. (2016). Iranian *Foeniculum vulgare* Essential Oil and Alcoholic Extracts: Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxidant and Application in Olive Oil Preservation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 19, 1920-1931.

Sharafati-Chaleshtori, R., Rokni N., Rafieian-Kopaei M., Drees, F. & Salehi, E. (2015). Antioxidant and Antibacterial Activity of Basil (*Ocimum basilicum L.*) Essential Oil in Beef Burger. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 17, 817-826

Sharma, N. & Tripathi, A. (2006). Fungitoxicity of *Citrus sinensis L.* essential oil on post-Harvest pathogens. *World Journal of Microbiological and Biothechnology*. 22, 587-593.

Sidi Boulenuar, K. & Ziane, A. (2003). Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas L.* de la région de Tlemcen. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études supérieur en biologie. Option: Biochimie. Faculté des Sciences. Univ. ABB. Tlemcen. pp.54.

Singleton, V.L., Ortofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. In: Packer L. (Eds.), *Methods in Enzymology*. Orlando: Academic Press, 152-178.

Slavkovska, V., Jančić, R., Bojović, S., Milosavljević, S. & Djoković, D. (2001). Variability of essential oils of *Satureja montana L.* and *Satureja kitaibelii Wierzb. exHeuff.* from the central part of the Balkan peninsula. *Phytochemistry*. 57, 71-76.

Snuossi, M., Trabelsi, N., Ben Taleb, S., Dehmeni, A., Flamini, G. & De Feo, V. (2016). *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: composition,

antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*. 21, 1414.

Sonavane, G.S., Sarveiya, V.P., Kasture, V.S. & Kasture, S. B. (2002). Anxiogenic activity of *Myristica fragrans* seeds. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 71, 239-244.

Sousa, A., Casal, S., Ricardo Malheiro, R., Hugo, L., Albino, B. & Pereira, J.A. (2015). Aromatized olive oils: Influence of flavouring in quality, composition, stability, antioxidants, and antiradical potential. *Food Science and Technology*. 60, 22-28.

Stanic, G., Petricic, J. & Blazevic, N. (1991). Gas chromatographic investigations of essential oils of *Satureja montana* and *Satureja subspicata* from Yugoslavia. *Journal of Essential Oil Research*. 3, 153-158.

Stewart, D. (2005). The chemistry of essential oils made simple: gods loves manifestes in molecules. Care publication, France . pp. 625.

Suarez, M., Romero, M.P., Ramo, T. & Motilva, M.J. (2011). Stability of a phenol-enriched olive oil during storage. *Europeen Journal of Lipid Science Technology*. 113, 894-903.

Taha, E.M.A. & Ahmed, Z.F.R. (2018). Fruit characteristics and olive oil quality in response to some environmental factors. *VI International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits*. 1216, 12-26.

Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. & Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 21, 1199-1218.

Tanouti, K., Elamrani, A., Serghini-Caid, H., Khalid, A., Bahetta, Y., Benali, A., Harkous, M. & Khiar, M. (2010). Caracterisation d'huiles d'olive produites dans des cooperative pilotes (lakrarma et kenine) au niveau du Maroc oriental. *Les Technologies de Laboratoire*. 5, 18-26.

Tanouti K., Serghini-Caid, H., Chaieb, E., Benali, A., Harkous, M. & Elamrani, A. (2011). Amelioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le maroc oriental : Quality Improvement of Olive Oils Produced In The Eastern Morocco. *Les Technologies de Laboratoire*. 6, 22, 1-12.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M. & Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. sipyleus var. sipyleus and *Thymus sipyleus* subsp. sipyleus var. rosulans. *Journal of Food Engineering*. 66, 447-454.

Teuscher, E., Anton R. & Lobstien, A. (2005). Effets délétères de certaines plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. In : épices, aromes, condiment et huiles essentielles. Editions Lavoisier, Tec & Doc. Paris, France. 26-32.

- Trapani, G., Vagliano, L., Giribaldi, M., Cavallarin, L. & Coscia, A. (2017).** Olive oil: maternal and pediatric health. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine*. 6, 1-7.
- Trifan, A., Aprotosoiaie, A.k., Brebu M., Cioancă, O., Gille, E., Hăncianu, M. & Miron, A. (2015).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from Romanian *Satureja montana* L. *Farmacologia*. 63, 413-416.
- Tripathi, K.A., Upadhyay, S., M.Bhuiyan, P. & Bhattacharya, R. (2009).** A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect –pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 1, 052-063.
- Tsimidou, M., Papadopoulos, G. & Boskou, D. (1992).** Phenolic compounds and stability of virgin olive oil—Part I. *Food Chemistry*. 45, 141-144.
- Tsimidou, M. (2006).** Olive oil quality. In Harwood J, Aparicio R (Eds). Handbook of olive oil. *Analysis and Properties*. 93-111.
- Turk, M., Mathe, C., Fabiano-Tixier, A.S., Carnaroglio, D. & Chemat, F. (2018).** Parameter optimization in microwave-assisted distillation of frankincense essential oil. *Comptes Rendus Chimie*. 22, 622-627.
- Ünal, K. Babaoglu, A.S. & Karakaya, M. (2014).** Effect of oregano, sage and rosemary essential oils on lipid oxidation and color properties of minced beef during refrigerated storage. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 17, 797 -805.
- Van den Berg H., Faulks, R., Granado, HF., Hirschberg, J., Olmedilla, B., Sandmann, G., Southon, S. & Stahl, W. (2000).**The potential for improvement of carotenoid levels in foods and likely systemic effects. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 80, 880-912.
- Vaz-Freire, L., Manuel José, Gouveia, J. & Costa Freitas, A.M. (2008).** Analytical characteristics of olive oils produced by two different extraction techniques, in the Portuguese olive variety *Galega Vulgar*. *Grasas y Aceites*. 59, 260-266.
- Vekiari, S.A., Oreopoulou, V., Kourkoutas, Y., Kamoun, N., Msallem, M., Psimouli, V. & Arapoglou, D. (2010).** Characterization and seasonal variation of the quality of virgin olive oil of the Throumbolia and Koroneiki varieties from Southern Greece. *Grasas y Aceites*. 61, 221-231.
- Velasco, J. & Dobarganes, C. (2002).** Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104, 661-676.
- Velasco, V. & Williams, P. (2011).** Improving meat quality through natural antioxidants. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 71, 313-322.

- Venkateshwarlu, G., Let, M.B., Meyer, A. S. & Jacobsen, C. (2004).** Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 1635-1641.
- Verdú, M. & García-Fayos, P. (1998).** Ecological causes, function, and evolution of abortion and parthenocarpy in *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae). *Revue Canadienne de Botanique*. 76, 134-141.
- Viuda-Martos, M., Ruíz-Navajas, Y., Fernández-López, J. & Pérez-Álvarez, J.A. (2007).** Chemical Composition of the Essential Oils Obtained From Some Spices Widely Used in Mediterranean Region. *Acta Chimica Slovenica*. 71, 79-83.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G. & Fu, Y.J. (2008).** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*. 108, 1019-1022.
- Wichtl, M. & Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques. Editions Tech & doc, Paris, France. pp. 692.
- Willem, J.P. (2004).** Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé : aromathérapie, médecine d'avenir. Editions LMV, France. pp. 318.
- Xiang, C., Xu, Z., Liu, J., Li, T., Yang, Z. & Ding, C. (2017).** Quality, composition, and antioxidant activity of virgin olive oil from introduced varieties at Liangshan. *LWT-Food Science and Technology*. 78, 226-234.
- Yakhlef, G. (2010).** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Thèse Magister. Université EL hadj lakhdar –Batna. pp. 78.
- Yalcin, S. & Schreiner, M. (2017).** Stabilities of tocopherols and phenolic compounds in virgin olive oil during thermal oxidation. *Journal of Food Science and Technology*. 55, 244-251.
- Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y. & Jiang, L. (2016).** Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*. 80, 141-147
- Yildirim, G. (2009).** Effect of storage time on olive oil quality. Master of Science in Food Engineering, Izmir, Institute of Technology. pp. 177.
- Yousefi, Z., Rezaeigolestani, M. & Hashemi, M. (2018).** Biological properties of olive oil. *Journal of Human Environment and Health Promotion*. 4, 50-54.

Annexes

Annexe 1 : Test ORAC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		PhB	STD 50	STD 20	Sample 1 dil A	Sample 1 dil C	Sample 2 dil A	Sample 2 dil C	Sample 3 dil A	Sample 3 dil C	Sample 3 dil E	
C		PhB	STD 50	STD 20	Sample 1 dil A	Sample 1 dil C	Sample 2 dil A	Sample 2 dil C	Sample 3 dil A	Sample 3 dil C	Sample 3 dil E	
D		PhB	STD 50	STD 20	Sample 1 dil A	Sample 1 dil C	Sample 2 dil A	Sample 2 dil C	Sample 3 dil A	Sample 3 dil C	Sample 3 dil E	
E		STD 75	STD 35	STD 10	Sample 1 dil B	Sample 1 dil D	Sample 2 dil B	Sample 2 dil D	Sample 3 dil B	Sample 3 dil D	PhB	
F		STD 75	STD 35	STD 10	Sample 1 dil B	Sample 1 dil D	Sample 2 dil B	Sample 2 dil D	Sample 3 dil B	Sample 3 dil D	PhB	
G		STD 75	STD 35	STD 10	Sample 1 dil B	Sample 1 dil D	Sample 2 dil B	Sample 2 dil D	Sample 3 dil B	Sample 3 dil D	PhB	
H												

Figure 21: Microplaque de fluorimètre



Figure 22: Biotek pour ORAC

Annexe 2 : Test d'accélération d'oxydation (oxitest)



Figure 23:Appareil VELEP utilisé pour oxitest

Annexe 3: Récapitulatif de l'ANOVA de l'effet de l'HE, d'emballage et de condition et le temps de stockage

Tableau 23: Récapitulatif de l'ANOVA de l'effet de l'huile essentielle, d'emballage et de condition et le temps de stockage

Facteur	<i>P</i>						
	Acidité	Indice de peroxyde	K ₂₃₂	K ₂₇₀	Composés phénoliques	Chlorophylle	Caroténoïdes
ord. Origine	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
{1} huile	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
{2} emballage	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
{3} temps	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
{4} condition de stockage	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
huile*emballage	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
huile*temps	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
emballage*temps	<0,05	<0,05	0,125	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
huile*condition de stockage	<0,05	<0,05	0,075	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
emballage*condition de stockage	<0,05	<0,05	0,893	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
temps*condition de stockage	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
huile*emballage*temps	<0,05	<0,05	0,722	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
huile*emballage*condition de stockage	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
huile*temps*condition de stockage	<0,05	<0,05	0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
emballage*temps*condition de stockage	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
1*2*3*4	<0,05	<0,05	0,073	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Annexe 4

Tableau 24: Encodage des échantillons au cours de la période de "Retail-display".

Echantillons	Conditions de stockage
HOEV/Témoin	Echantillon d'origine
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /PET	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>L. nobilis</i> conservée dans le PET transparent
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /PETO	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>L. nobilis</i> conservée dans le PET opaque
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /VT	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>L. nobilis</i> conservée dans le verre transparent
HOEV/ <i>L. nobilis</i> /VO	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>L. nobilis</i> conservée dans le verre opaque
HOEV/ <i>S. montana</i> /PET	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>S. montana</i> conservée dans le PET transparent
HOEV/ <i>S. montana</i> /PETO	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>S. montana</i> conservée dans le PET opaque
HOEV/ <i>S. montana</i> /VT	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>S. montana</i> conservée dans le verre transparent
HOEV/ <i>S. montana</i> /VO	L'huile d'olive additionnée de l'HE de <i>S. montana</i> conservée dans le verre opaque

Annexe 5

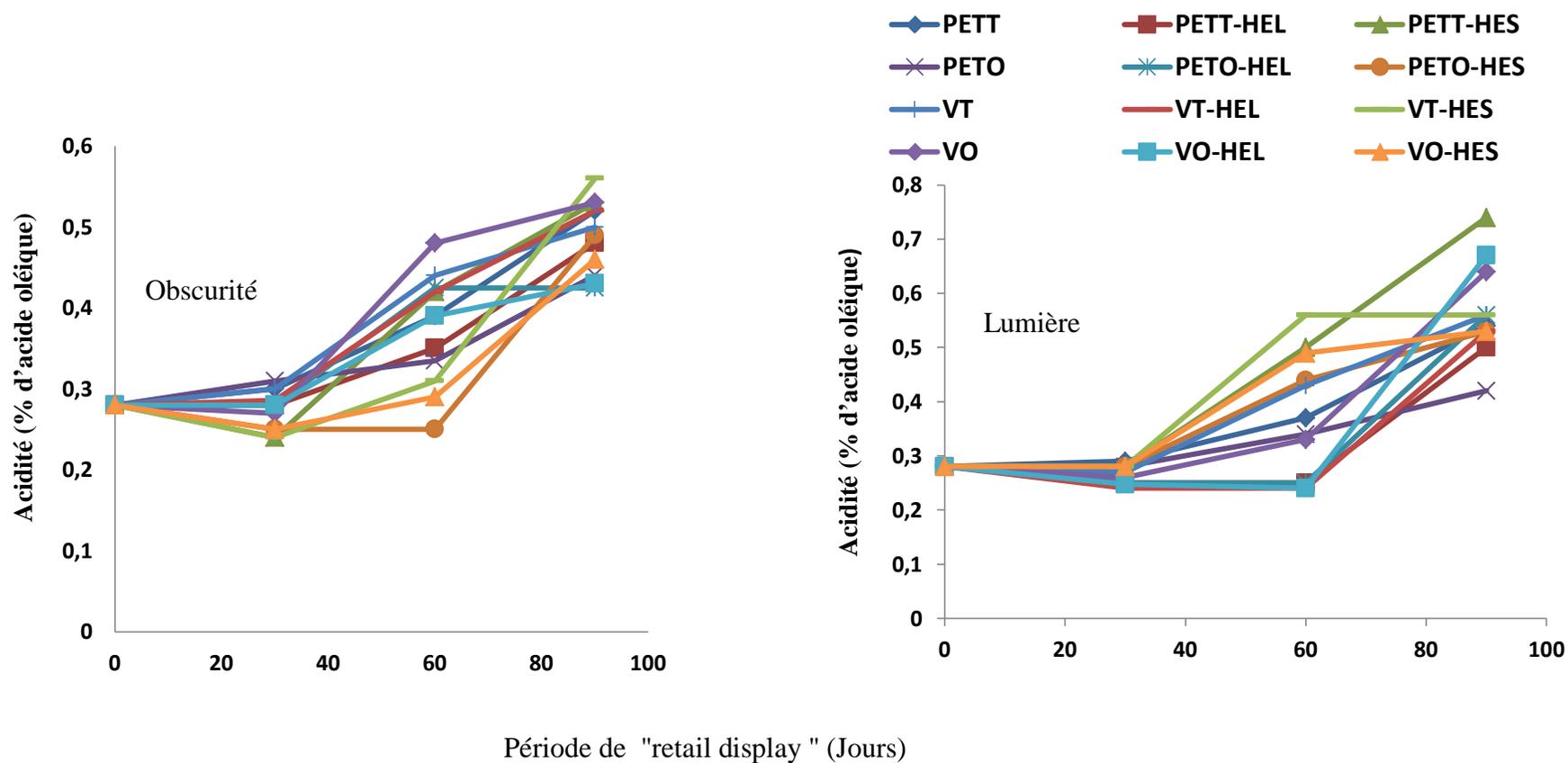


Figure 24 : Evolution de l'acidité de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display "

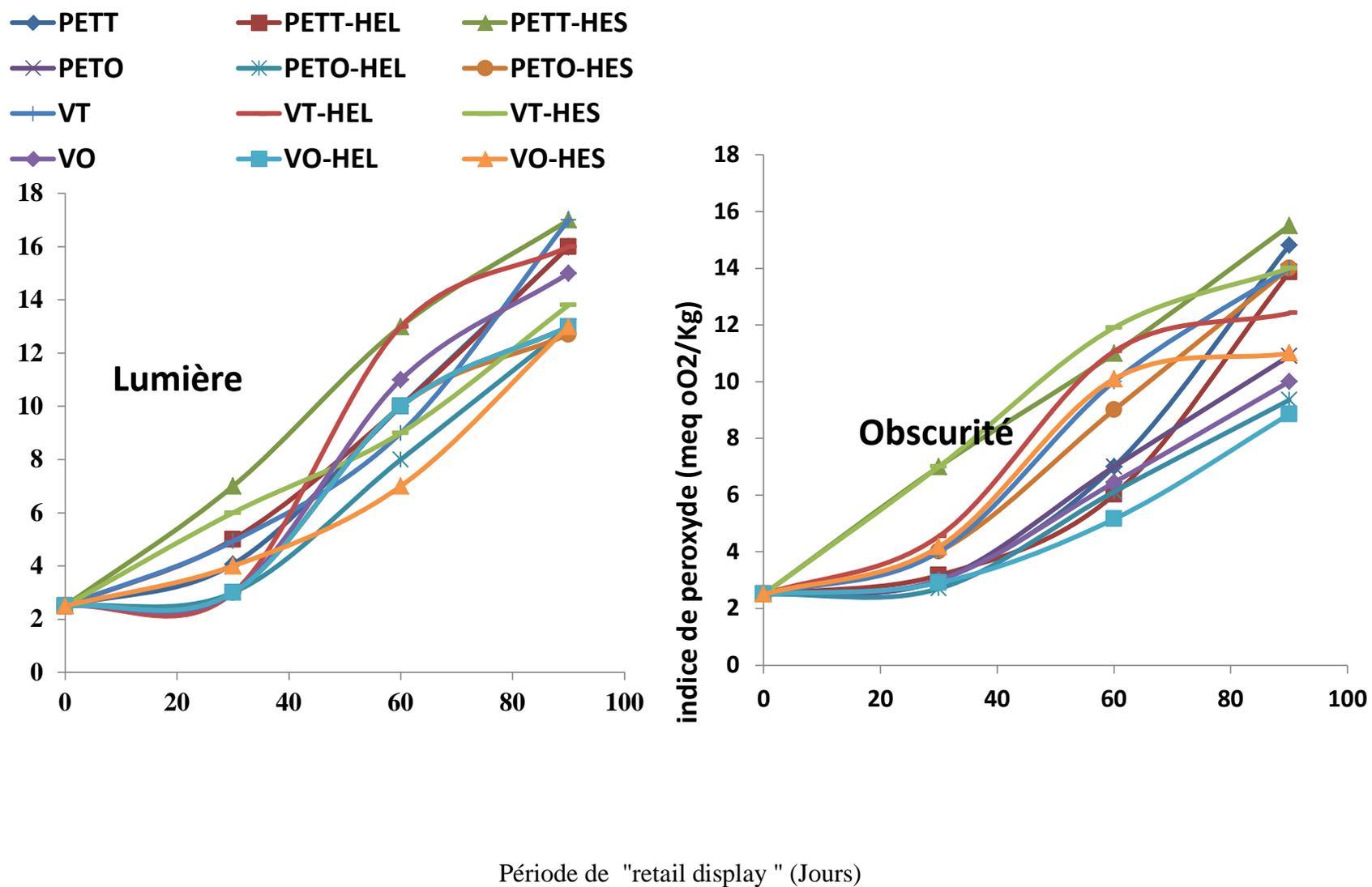


Figure 25: Evolution de l'IP de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"

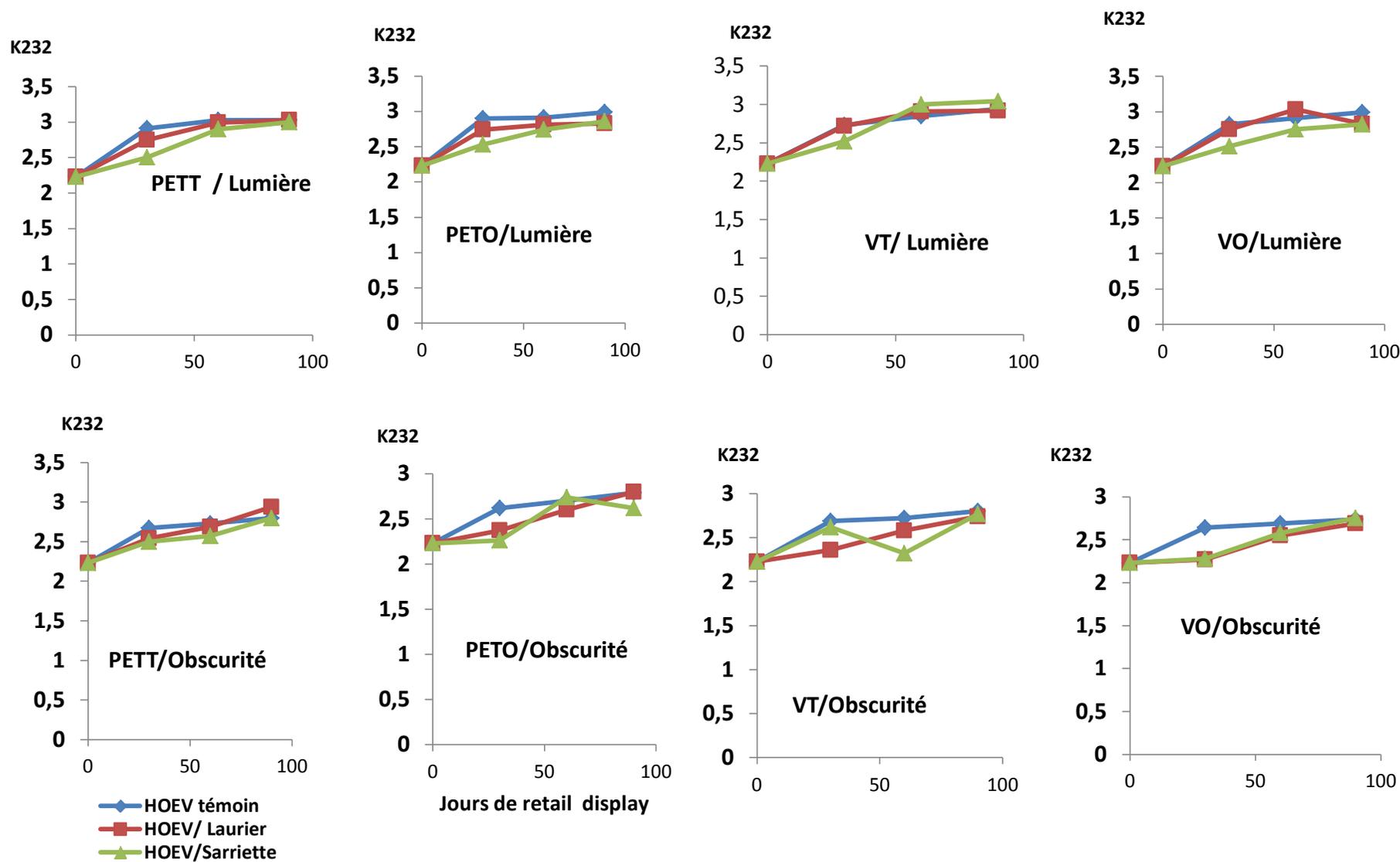


Figure 26: Evolution de K232 de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"

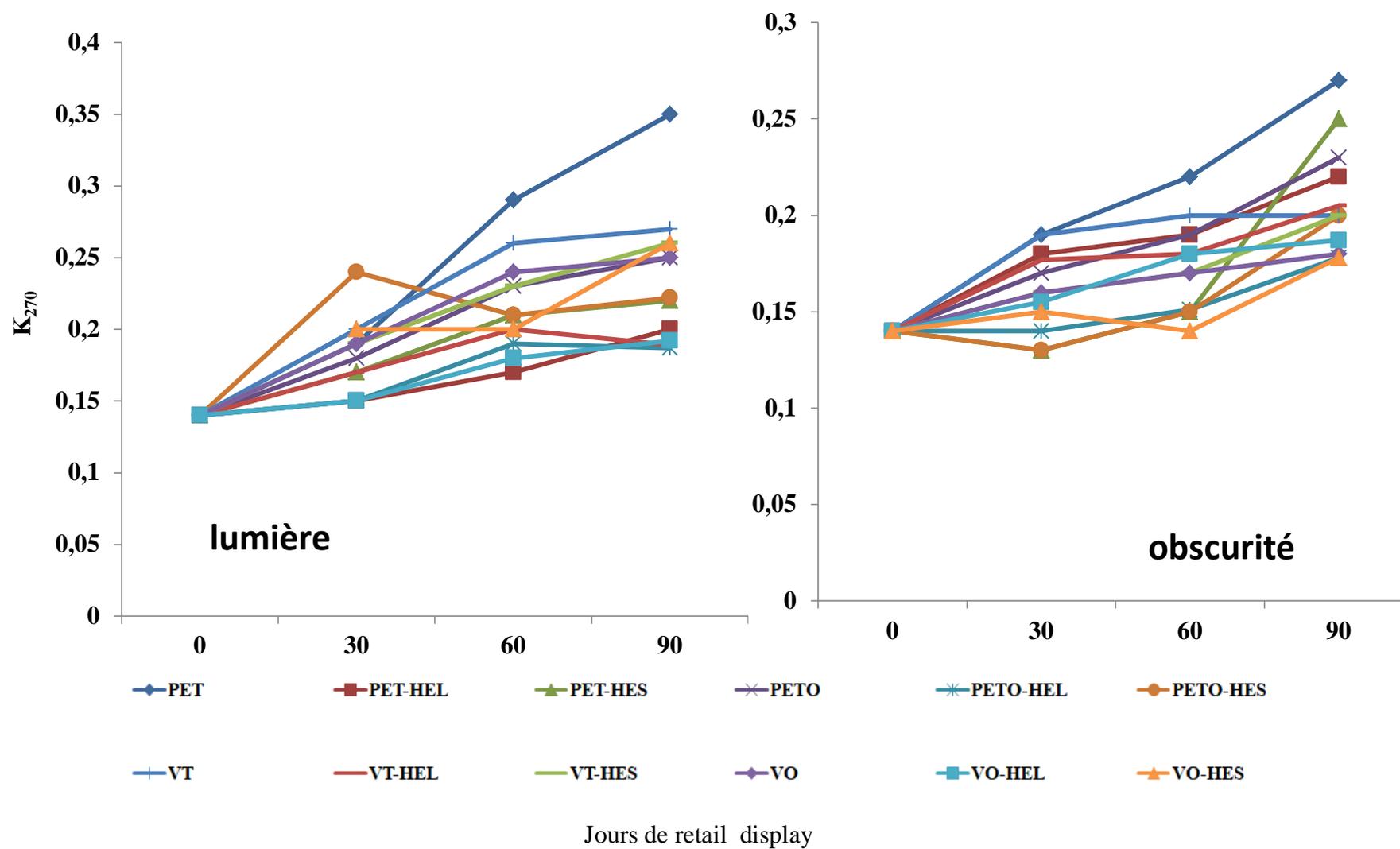


Figure 27: Evolution de K_{270} de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"

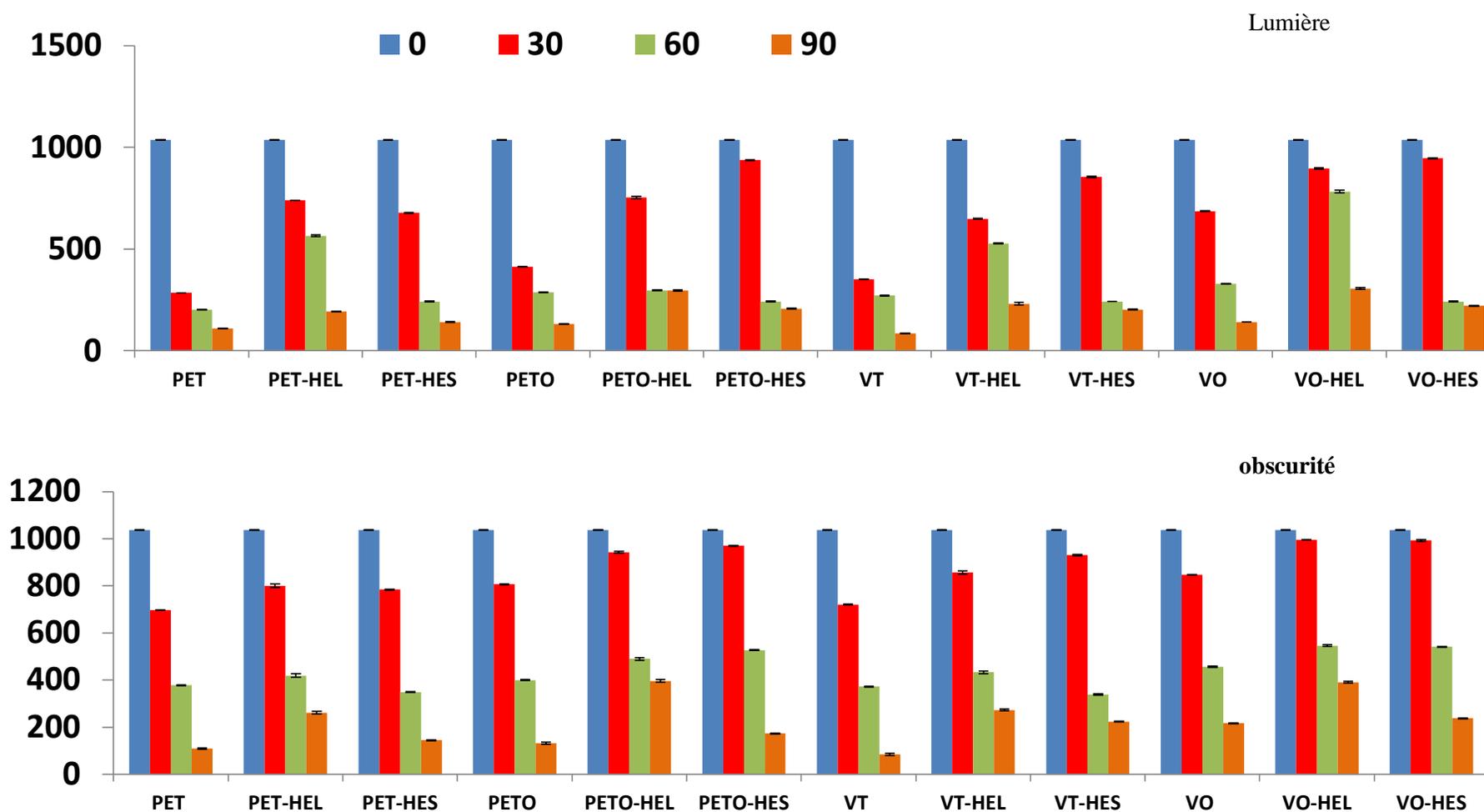


Figure 28 : Evolution de la teneur en composés phénoliques de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display" (0, 30, 60, 90 jours)

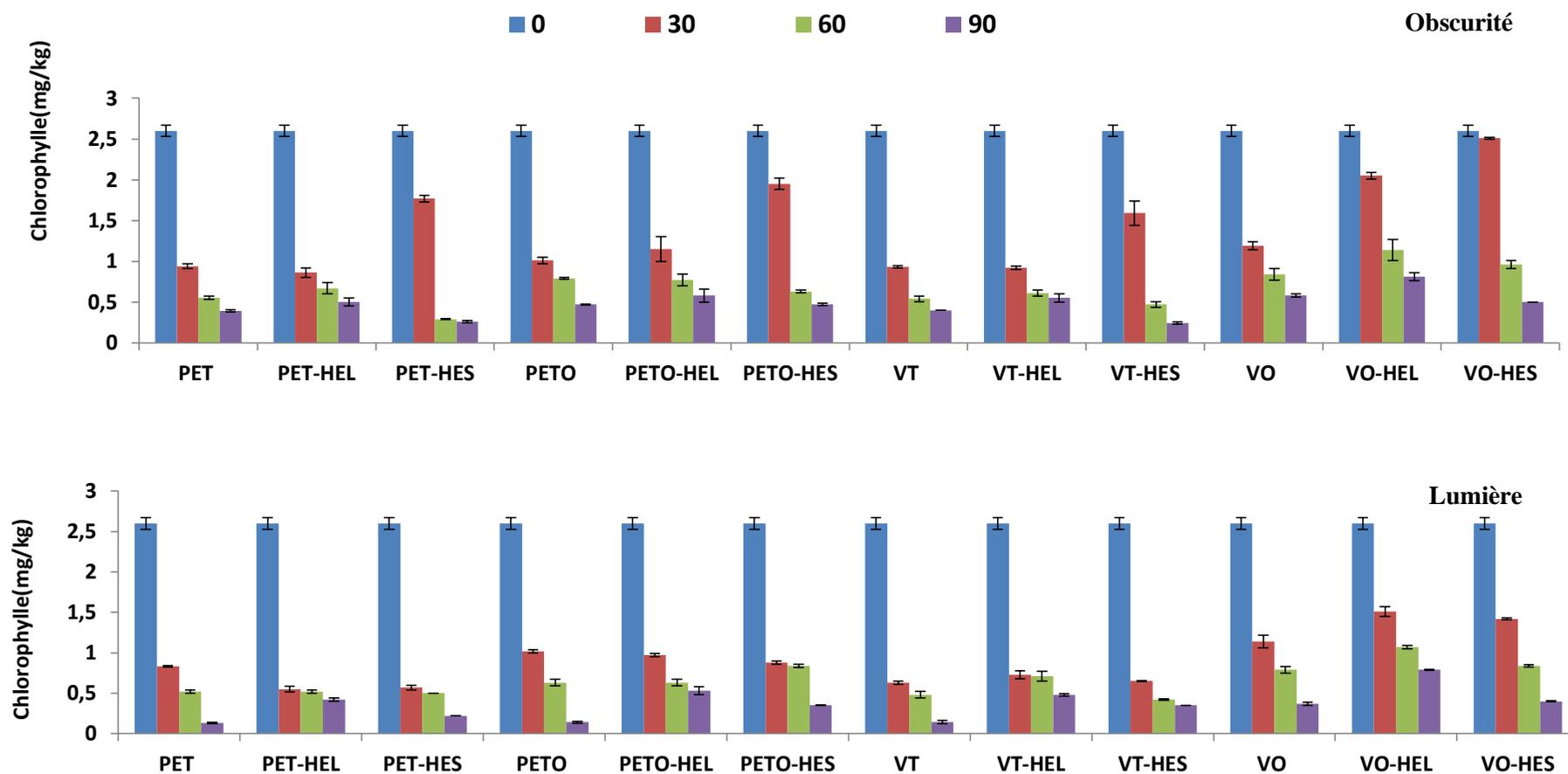


Figure 29 : Evolution de la teneur en chlorophylles de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display" (0, 30, 60, 90 jours)

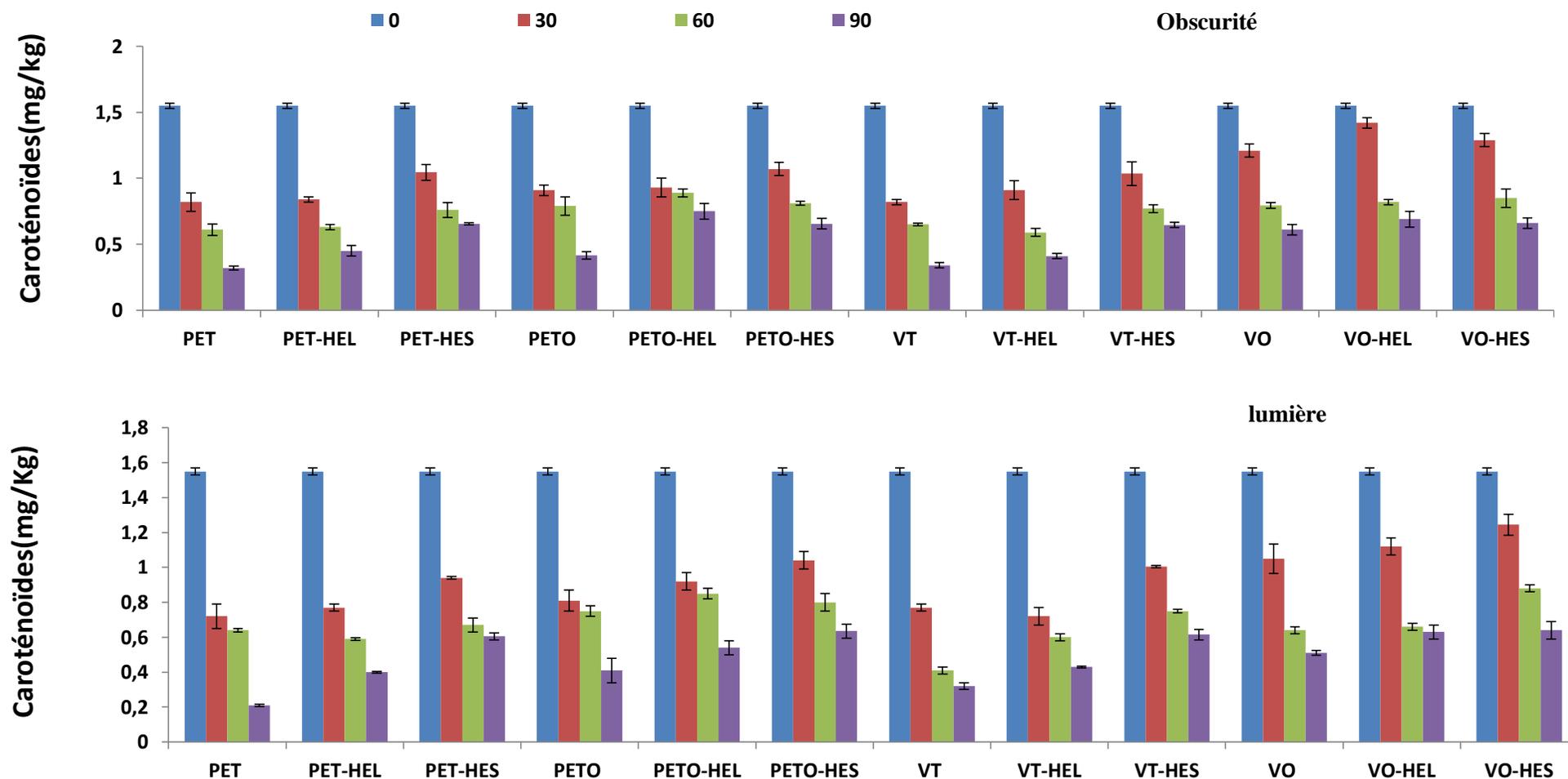


Figure 30: Evolution de la teneur en caroténoïdes de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display"(0, 30, 60, 90 jours)

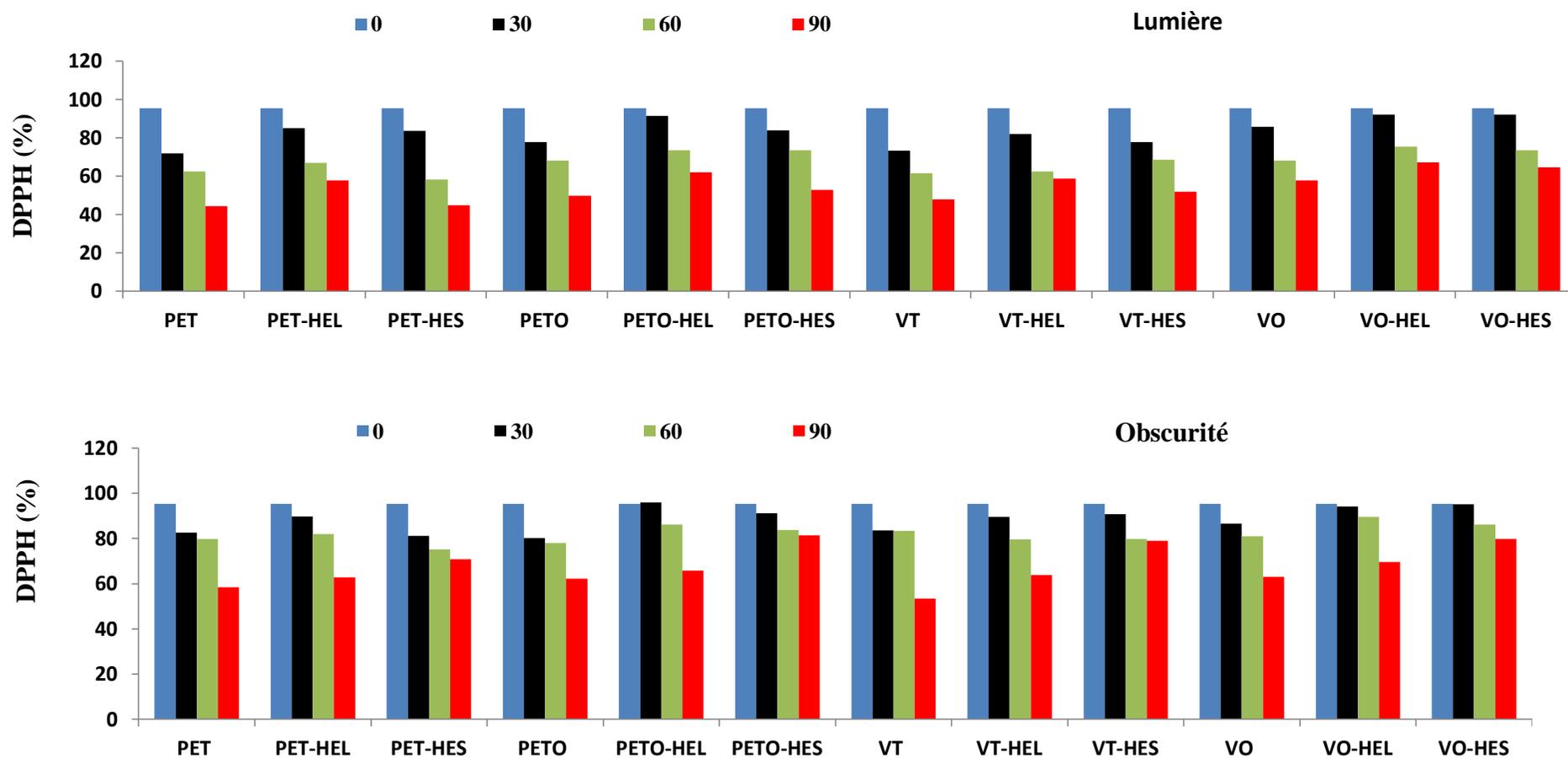


Figure 31: Evolution de l'activité antioxydante de l'huile d'olive enrichie et non enrichie en HE durant le "Retail-display" (0, 30, 60, 90 jours)

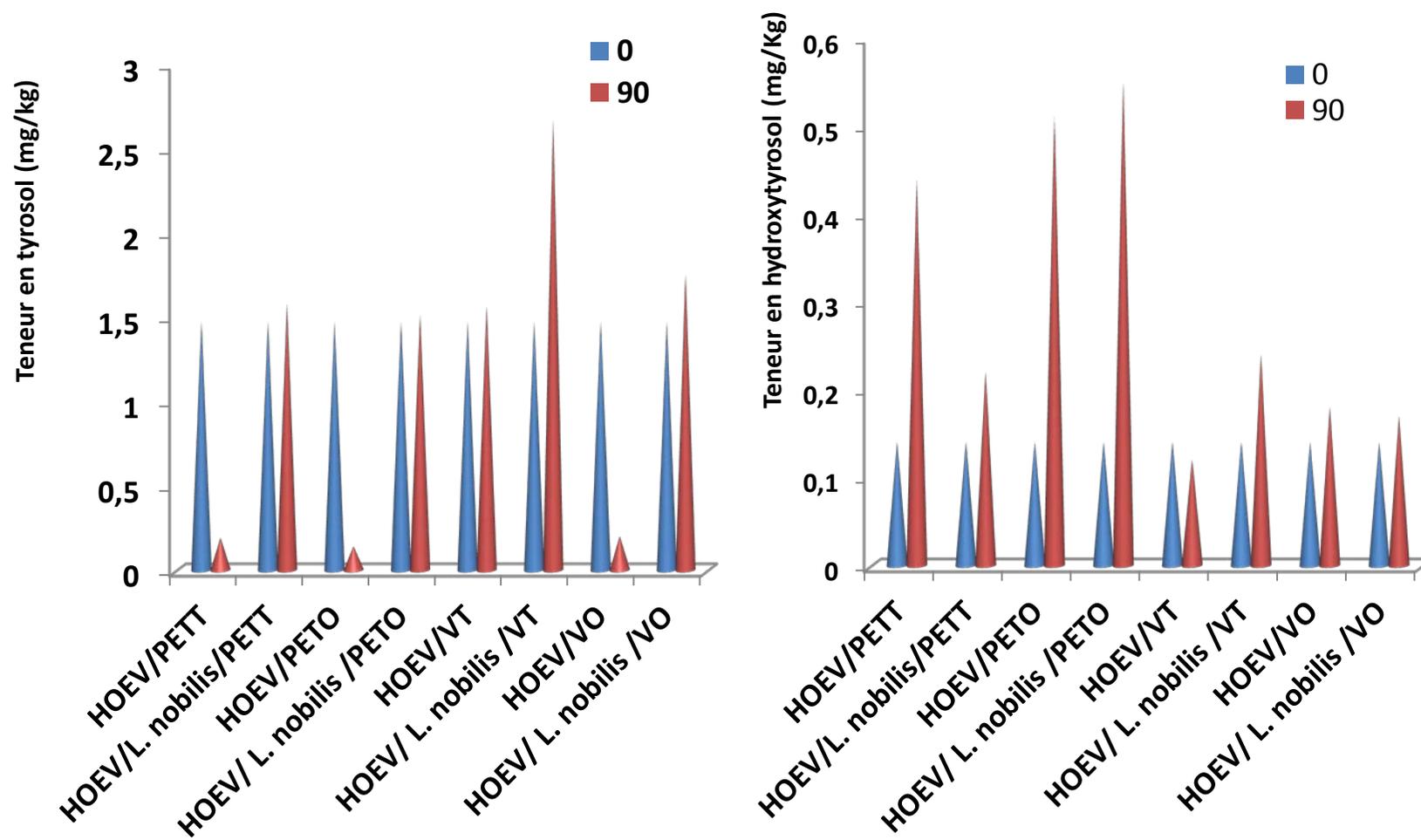


Figure 32: Evolution de la teneur en tyrosol et en hydroxytyrosol de complexe HOEV/ *L. nobilis* avant l'exposition (au temps zéro: t_0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours

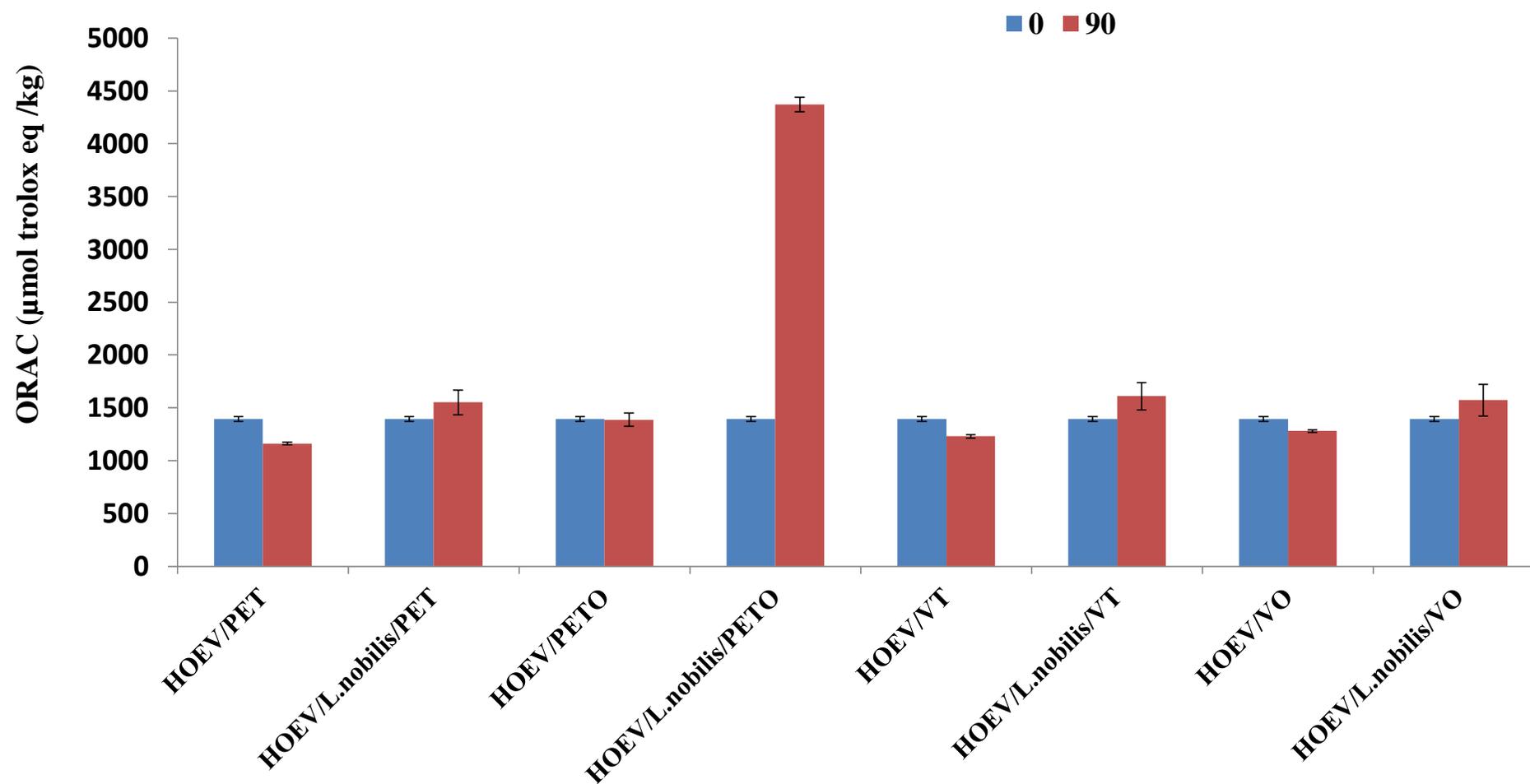


Figure 33: Evolution de l'activité antioxydante de complexe HOEV/ *L. nobilis* avant l'exposition (au temps zéro: t_0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours

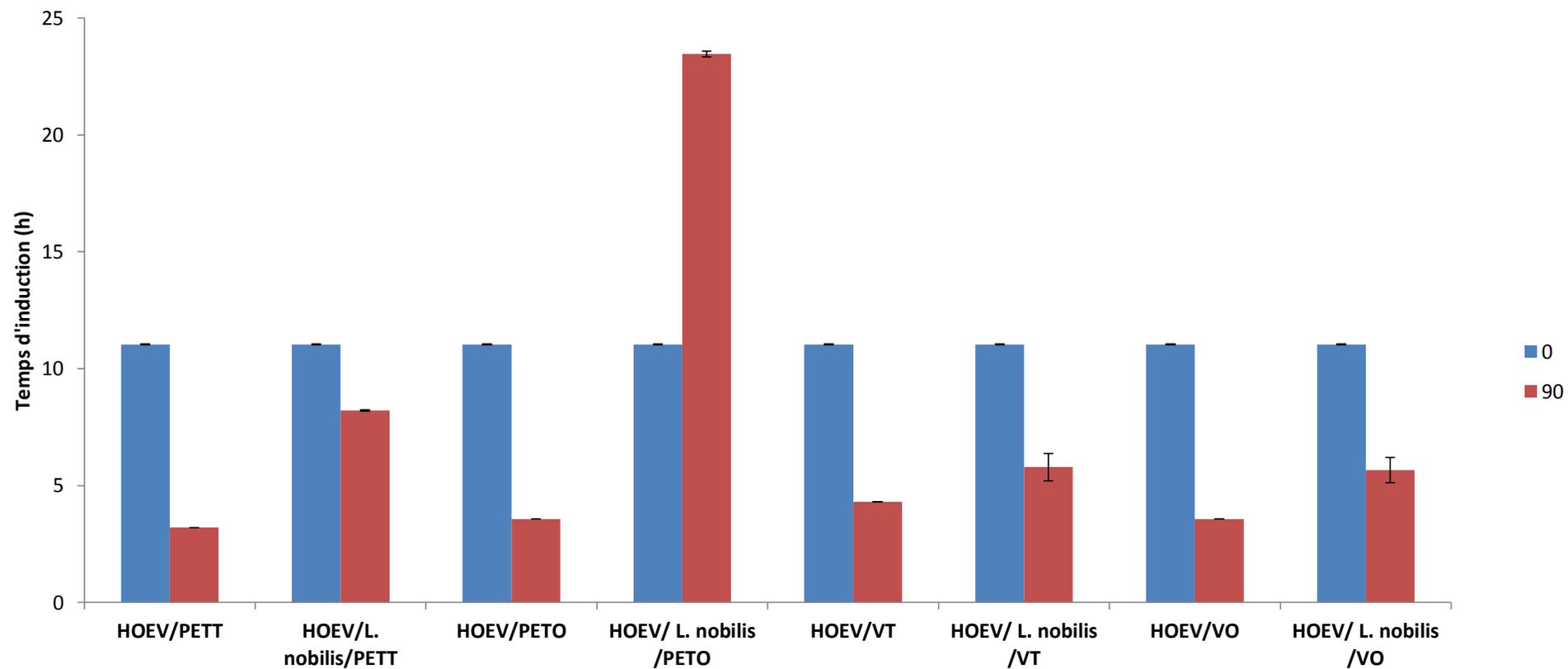


Figure 34: Evolution de temps d'induction de complexe HOEV/ L. nobilis avant l'exposition (au temps zéro: t_0) à la lumière fluorescente (900 lux) et après 90 jours

ملخص:

تتركز هذه الدراسة على لتحديد مدى تأثير الزيوت العطرية أثناء الأكسدة الضوئية على الاستقرار و الخصائص الفزيوكيميائية لزيت الزيتون المخزنة في قارورات زجاجية أو بلاستيكية لمدة ثلاثة أشهر في وجود الضوء (900 لوكس) وفي درجة حرارة 25. دراسة النوعية والشبه كمية للزيوت الأساسية المستخلصة بالتقطير المائي تمت بواسطة MS-CPG و مكنتنا من معرفة نوعية و كمية مكونات هذه الزيوت. تم ادراج هذه الزيوت العطرية في زيت الزيتون بمقدار 0.01 بالمئة. اظهرت النتائج أن المركبات الفينولية و الأصبغة (الكوروفيل و الكاروتينات) تنخفض بصفة معتبرة في زيت الزيتون المخزنة في العبوات البلاستيكية والزجاجية الشفافة مقارنة بالعبوات البلاستيكية و الزجاجية القاتمة. كما أظهرت النتائج أيضا أن الزيوت العطرية تخفض من الأكسدة الضوئية لزيت الزيتون.

الكلمات السرية

الزيوت العطرية, زيت الزيتون , الأكسدة الضوئية, التعبئة و التغليف.

Résumé :

L'objectif de ce travail est la détermination du pouvoir antioxydant des HEs, de laurier (*Laurus nobilis*), de lentisque (*Pistacia lentiscus*) et de la sarriette (*Satureja montana*), lors de "Retail-display" de l'huile d'olive vierge algérienne. L'huile d'olive utilisée dans cette étude provient de la variété connue sous le nom de «Chemlal de la Kabylie». L'extraction des HEs des trois plantes a été effectuée par hydrodistillation, et leur composition chimique a été identifiée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). 0,01% de chacune de ces HEs ont été ajoutées dans l'huile d'olive vierge. Le pouvoir antioxydant a été évalué par le suivi de, l'acidité, l'indice de peroxyde, l'indice d'extinction, la composition en acides gras, et la teneur en pigments, au cours de la photo-oxydation des échantillons. L'évaluation de la stabilité oxydative durant le stockage par le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) montre que l'huile d'olive additionnée d'huile essentielle (HE) de laurier révèle une activité de piégeage du radical DPPH relativement plus élevée que celle de l'huile d'olive additionnée des HE de la sarriette. Les résultats obtenus ont montré que tous les échantillons d'huile d'olive contenant des antioxydants ont subi une photo- oxydation moins accentuée que le témoin.

Mots clés: Huile essentielle, Huile d'olive, Photo-oxydation, Stockage.

Abstract

This study is undertaken to determine the effect of essential oil (EO) during "Retail-display" of olive oil stored in different packaging for three months under fluorescent light (900 lux) or darkness at room temperature. EO composition was analyzed by Gas Chromatography with mass Spectrometry (GC-MS). This essential oil was added into olive oil at 0.01%. Pigments, total phenol, the antioxidant capacity (DPPH, ORAC) and oxidative stability were studied. Olive oil with EO in brown glass packaging exhibited the highest amount of chlorophyll (2.6 to 0.79 mg/Kg) and carotenoid (1.55 to 0.63 mg/Kg) values followed by those stored in brown PET and transparent glass and PET. The lowest total phenolic compound values were recorded in oil without EO from the transparent glass packaging (1036.72 to 84.74 mg GAE/Kg). The oil in brown PET and glass packaging had the highest antioxidant activities values. Olive oil enriched with EO is less photooxidized than olive oil without EO. Moreover, EO improved the stability oxidative of olive oil. This study shows that brown glass and PET can be the best commercial packaging for olive oil.

Keywords: Essential oil, Olive oil, Packaging, Photo-oxidation.

