

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ecole Nationale Supérieure Agronomique
(Alger)
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences
Agronomiques

Par
DOUZANE MALIKA

Recherche de composés biochimiques de l'huile d'olive, utilisés
comme marqueurs d'identification de variétés locales d'oliviers.

Soutenue le 17/ 04 /2013

Devant le jury composé de :

Président :	AMMOUCHE A.	Professeur (ENSA, Alger)
Directeur de thèse :	BELLAL M. M.	Professeur (ENSA, Alger)
Examineurs :	GUERMOUCHE M.H.	Professeur (USTHB)
	CHEHAT F.	Professeur-Directeur (INRAA)
	TAMENDJARI A.R.	Professeur (Université de Bejaia)

Année Universitaire : 2012/2013

Table des matières

	Page
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Classification botanique de l'olivier.....	4
I.1. Morphologie et biologie de l'olivier.....	4
I.1.1. Généralité.....	4
I.1.2. Cycle végétatif.....	5
I.1.3. Climat.....	5
II. L'oléiculture dans le monde.....	5
II.1 Généralité.....	5
II.2. Répartition géographique et production.....	6
II.3. Consommation de l'huile d'olive.....	8
II.4. Perspectives.....	9
III. Présentation de la filière oléicole en Algérie.....	10
III.1.Introduction.....	10
III.2. Présentation de la filière.....	13
III.2.1. La situation de l'oléiculture.....	13
III.2.2. La situation de l'oléifaction.....	14
III.3. Situation de la production.....	18
III.4. Problématique des produits oléicoles.....	19
III.5. Problématique des sous produits oléicoles.....	20
IV. Quelques caractéristiques des différentes variétés d'olivier cultivées en Algérie	22
IV. 1. Les variétés locales.....	22
IV.2. Les variétés d'introduction.....	24
V. L'Huile d'olive.....	25
V.1. Définition, classification et caractéristiques sensorielles.....	25
V 1. 1. Définition.....	25
V.1. 2. Classification.....	25
V.1. 3. Caractéristiques sensorielles.....	28
V.2. Composition chimique.....	30
V.2.1. La Fraction Saponifiable.....	30
V.2.1.1. Rappels sur la structure des acides gras.....	30
V.2.1.2. Composition en acides gras de l'huile d'olive.....	32
V.2.1.3. Rôle biologique des acides gras.....	34
V.2.1.4. Besoins en acides gras essentiels.....	35
V.2.2. La Fraction Insaponifiable.....	35
V.2.2.1. Différents composés de la fraction insaponifiable	36
V.2. 2.1.1. Les composés phénoliques.....	36
V.2. 2.1.1.1. Généralités.....	36
V.2.2.1.1.2. Les Acides phénols et les coumarines.....	37
V.2.2.1.1.2.1. Les acides benzoïques.....	37
V.2. 2.1.1.2.2. Les acides cinnamiques.....	38
V.2. 2.1.1.2.3. Les coumarines.....	38
V.2. 2. 1.1.2.4. Les flavonoïdes.....	38
a) les anthocyanes.....	38

b) les tanins.....	39
V.2.2.1.1.2. Les composés phénoliques de l'huile d'olive.....	41
V.2.2.1.2. Les stérols.....	42
V.2.2.1.3. Les tocophérols.....	43
V.2.2.1.4. Les pigments.....	44
V.2.2.1.4.1. Les chlorophylles.....	44
V.2.2.1.4.2. Les caroténoïdes.....	45
V. 2.2.1.5. Autres composés.....	46
V.3. Principales caractéristiques de l'huile d'olive	46
V.4. Facteurs conditionnant les caractéristiques de l'huile d'olive	47
V. 4. 1. Influence du climat et de la variété.....	48
V. 4. 2. Période de maturation et méthodes de récolte.....	48
V.4. 3. Conservation du fruit jusqu'à l'extraction.....	49

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

I. 1. Matériel végétal	51
I. 2. Echantillonnage	51
I. 3. Extraction de l'huile	53
I. 4. Méthodes analytiques	53
I. 3.1. Etude physico-chimique des huiles	53
I.3. 1 1. Les indices de qualité.....	53
I. 3.1.1.1. L'acidité.....	53
I.3.1.1.2. L'indice de peroxyde.....	54
I.3.1.1.3. L'absorbance dans L'UV.....	54
I.3.1.1.4. L'évaluation organoleptique.....	54
I.3. 1.3. Les indices physiques.....	54
I.3.1.3.1. L'indice de réfraction.....	54
I.3.1.3.2 Densité ou masse volumique.....	54
I. 3.2. Etude du profil en acide gras des huiles	55
I.3.2.1. Préparation des esters méthyliques.....	55
I.3.2.2. Analyse des esters méthyliques d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	55
I 3.3. Etude de la fraction insaponifiable des huiles	56
I. 3.3.1.1. Dosage colorimétrique des phénols.....	56
I. 3.3.1.1.1. Dosage des poly phénols totaux.....	56
I. 3.3.1.1.2. Dosage des o-diphénols.....	56
I.3.3.1.2. Séparation et quantification des différents phénols par chromatographie phase liquide à haute performance (CPLH).....	57
I.3.3.1.2.1 Extraction de la fraction phénolique.....	57
a) Généralité.....	57
b) Protocole expérimental : Extraction de la fraction phénolique.....	59
I.3.3.1.2.2 Préparation des composés de références.....	60
I.3.3.1.2.3 Séparation et quantification des différents composés phénoliques par chromatographie phase liquide à haute performance « CPLH ».....	60
I.4. Analyse statistique	62
I.4.1. Analyse uni variée des profils quantitatifs	63

I.4.1.1. Analyse de la variance ANOVA.....	63
I.4.1.2. Analyse de Newman-Keuls.....	63
I.4.2. Analyse multi variée.....	64
I.4.2.1. Analyse en composantes principales (ACP)	64
I.4.2.2. Classification ascendante hiérarchique (CAH)	65

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

I. Analyse univariée de l'effet spatio-temporel des différentes "variétés populations"	66
I.1. Etude physico-chimique des huiles des différentes « Variétés Populations ».....	66
I.1.1. <i>Statistique descriptive</i> des caractères quantitatifs.....	66
I.1.2. Les distributions des caractères quantitatifs.....	66
I.1.2.1. Variation de l'acidité.....	66
I.1.2.2. Variation de l'indice de peroxyde	67
I.1.2.3. Variation de l'extinction spécifique dans l'UV à 232 nm et 270 nm.....	71
I.1.2.4. Variation de l'indice de réfraction.....	72
I.1.2.5. Variation de la masse volumique (densité à 20°C)	74
I.1.2.6. Variation des phénols totaux.....	74
I.1.2.7. Variation des o-diphénols.....	76
I.2. Etude de la fraction saponifiable des huiles des différentes « Variétés Populations » : Etude du profil en acide gras.....	77
I.2.1. Statistique descriptive des caractères quantitatifs.....	77
I.2.2. Les distributions des caractères quantitatifs.....	78
I.2.2. 1. Variation de L'acide palmitique (C16 :0)	78
I.2.2. 2. Variation de L'acide palmitoléique (C16 :1)	84
I.2.2. 3. Variation de L'acide heptadecanoïque (C17 :0)	84
I.2.2. 4. Variation de L'acide heptadecenoïque (C17 :1)	85
I.2.2. 5. Variation de L'acide stéarique (C18 :0)	86
I.2.2. 6. Variation de L'acide oléique (C18 :1)	87
I.2.2. 7. Variation de L'acide linoléique (C18 :2)	88
I.2.2. 8. Variation de L'acide linoléique (C18 :3)	89
I.2.2. 9. Variation de L'acide arachidique (C20 :0)	90
I.2.2. 10. Variation de L'acide gadoleique (C20 :1)	90
I.2.2. 11. Variation de L'acide behénique (C22 :0)	91
I.2.2. 12. Variation du rapport C18:1/C18 :2.....	91
I.2.2. 13. Variation du rapport C18:1/C16 :0.....	92
I.2.2. 14. Variation des MUFA.....	92
I.2.2. 15. Variation des PUFA.....	93
I.2.2. 16. Variation du rapport MUFA/ PUFA.....	93
I.3. Etude de la fraction insaponifiable des huiles des différentes « Variétés Populations » : Etude de quelques composés phénolique individuels.....	96
I.3.1. Statistique descriptive des caractères quantitatifs.....	96
I.3.2. Les distributions des caractères quantitatifs.....	96
I.3.2.1. Variation de l'acide protocatéchique (AP)	96
I.3.2.2. Variation de l'acide 3,4-di hydroxyphényléthanol ou hydroxytyrosol (A3,4-DHPE)	97
I.3.2.3. Variation du Tyrosol.....	99
I.3.2.4. Variation de l'acide 4-hydroxybenzoïque (A4-HB)	102
I.3.2.5. Variation de l'acide caféique	102

Résumé

Ce travail représente une étude de la composition chimique des huiles de plusieurs « variétés populations » locales (vingt et une) mise en collection durant deux campagnes oléicoles successives. L'objectif est de mettre en évidence la notion des marqueurs biochimiques comme éléments essentiels pour la caractérisation variétale. Les analyses ont porté sur une étude physico-chimique, une étude qualitative et quantitative en acide gras et une étude des composés phénoliques de la fraction insaponifiable des huiles.

Des méthodes statistiques sont appliquées aux données analytiques, permettant la mise en évidence de facteur d'unification ou de discrimination. Il s'agit de l'analyse de variance simple (ANOVA) et le *Test de Newman-Keuls*. La corrélation entre les différents paramètres analytiques est traitée par l'analyse en composante principale (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH), le but est de mettre en évidence la notion de marqueurs biochimiques pour la structuration, l'identification et la caractérisation des différentes « variétés populations » de l'étude.

A partir de l'ACP, il ressort que l'acide oléique (C18:1), le palmitique (C16:0), le palmitoléique (C16:1), linoléique (C18:2), les PUFA, les MUFA, les rapports MUFA/PUFA, oléique/linoléique, oléique/palmitique, l'indice de réfraction (nD20), les phénols totaux, la masse volumique (MV), l'acide caféique (ACaf), l'acide vanillique (AV), le tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'acide 4-hydroxybenzoïque (A4-HB), l'acide Cinnamique (ACin), l'acide *o*-coumarique (Ao-C), le Taxifolin (T), l'oleuropéine (OG), l'acide protocatéchique (AP) et l'acide férulique (AF) contribuent nettement à la typologie des « variétés populations » étudiées.

Cependant, les « variétés populations » à **gros fruits** (Grosse du Hamma, Aghenfas, Sigoise...) se distinguent des « variétés populations » à petit et moyen fruit, avec les taux les plus élevés en tyrosol, hydroxytyrosol et en acide 4-hydroxybenzoïque (composés majoritaire). Nous constatons que nos « variétés populations » présentent un fort potentiel de conservation (pouvoir anti-oxydant) grâce aux composés phénoliques et aux tocophérols qu'elles renferment.

Quant aux acides gras, ce sont les échantillons des « variétés populations » à **gros et moyens fruits** qui présentent en moyenne les taux les plus élevés d'acide oléique et en acides gras monoinsaturés, à savoir Ronde de Miliana, Rougette de Guelma et Grosse du Hamma respectivement 80,18% ; 78,24% et 76,95 % et pour les MUFA respectivement 82,20% ; 80,23% et 78,45%. Considérant la grosseur du fruit (de l'olive), les valeurs relatives à l'acide oléique indiquent un regroupement distinct entre des « variétés populations », signe probable d'une source parentale commune.

Mots clés : Variétés populations locales, caractérisation, huile d'olive vierge, acides gras, composés phénoliques.

Summary

This work aimed to study the chemical composition of a collection of the oils of several local "varieties of populations" (twenty-one) setting during two successive crop years, which aims to highlight the concept of biochemical markers as essential elements for the varietal characterization. The analyzes focused on a physico-chemical study, a qualitative and quantitative study of the fatty acid profile and a study of phenolic compounds from the unsaponifiable fraction of oils.

Statistical methods are applied to analytical data, allowing the identification of unification or discrimination factor. It involves the analysis of variance (ANOVA) and Newman-Keuls test. The correlation between the analytical parameters is processed by principal component analysis (PCA) and agglomerative hierarchical clustering (AHC) in order to highlight the concept of biochemical markers for the structuring, identification and characterization of different "varieties of populations" of the study.

From the PCA, it appears that oleic acid (C18:1), palmitic (C16:0), palmitoleic (C16:1), linoleic (C18:2), PUFA, MUFA, the ratios MUFA / PUFA, oleic / linoleic, oleic / palmitic, refractive index (nD20), total phenols, density (MV), caffeic acid (CAFA), vanillic acid (VA), the tyrosol, hydroxytyrosol, 4-hydroxybenzoic acid (A4-HB), cinnamic acid (ACin), *o*-coumaric acid (Ao-C), the Taxifolin (T), oleuropein (OG), protocatechuic acid (PA) and ferulic acid (FA) contribute significantly to the typology of "varieties of populations" studied.

However, "varieties of populations" with big fruit (Grosse Hamma, Aghenfas, Sigoise ...) are clearly distinguishable from others (small and meadel), with the highest rates in tyrosol, hydroxytyrosol and 4-hydroxybenzoic acid compounds (majority). We observe that our "varieties of populations" have a high potential for conservation, because they have an important antioxidant power phenolic compounds through the tocopherols which it contains.

As for the fatty acids, the "varieties of people" samples with big and medium fruit which have the highest rates average oleic acid and monounsaturated fatty acids, namely Round Miliana Rougette Guelma and the Grosse Hamma respectively 80.18%, 78.24% and 76.95% respectively and 82.20% MUFA, 80.23% and 78.45%. Considering the size of the fruit (the olive) values for oleic acid show a distinct grouping between "varieties of population," probably a sign of a common parental source.

Key words: Local "Variety of populations", characterization, virgin olive oil, fatty acids composition, phenolic compounds.