



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la
Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : chimie pharmaceutique

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Maarouf Kahina.

Melizi Ikram

Le : Mercredi 26 Juin 2019

Inhibition de l'oxydation de l'huile d'olive

Jury :

Khamouli Saida	MAA	President
Boukraa Aissam	MCB	Rapporteur
Ouakkaf Amira	MCB	Examineur

Année universitaire : 2018/2019

Dédicace

On dédie ce mémoire

*A nos chers parents, Pour leur patience, leur amour, leur soutien et
leurs encouragements*

A nos frères

A nos amies et tous nos camarades

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen,
du secondaire*

ou de l'enseignement supérieur.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Chimie de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie de l'université Mohamed Khider Biskra.

On tient à exprimer notre reconnaissance, notre haute considération et notre profond respect à notre encadreur, Monsieur Boukraa Aissam Maître de conférence à l'université Med Khider de Biskra, qui nous a orienté au cours de ce travail, également pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa patience.

On tient à remercier Madame Khamouli Saida maître Assistant à l'université Med Khider de Biskra de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos remerciements vont également à Madame Ouakkaf Amira Maître de conférence à l'université Med Khider de Biskra, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de juger ce travail.

On exprime bien entendu nos remerciements les plus sincères à Madame le chef de service Ben machiche Hayet, aux ingénieurs et techniciens du laboratoire de Chimie de l'université de Biskra pour leurs disponibilités et aides précieuses.

Liste des abréviations :

A : Acidité.

A_λ : Absorbance à la longueur d'onde λ .

AGS : Acides gras saturés.

AGMI : Acides gras mono insaturés.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

IA : Indice d'acide.

IP : Indice de peroxyde.

C.O.I : Conseil oléicole international

K_{232} : Coefficient d'extinction spécifique à 232 nm

K_{270} : Coefficient d'extinction spécifique à 270 nm

M_{eq} : milliéquivalent.

ppm : Partie par million.

KOH : Hydroxyde de potassium.

$Na_2S_2O_3$: Thiosulfate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

UV : ultra-violet.

IRTF : Infra rouge à transformée de Fourier.

AW : Activité de l'eau

pH : Potentiel d'hydrogène.

Liste des tableaux :

Tableau.1 : Tableau récapitulatif des résultats de différentes caractéristiques chimiques et physiques.	43
Tableau.2 : Résultats des caractéristiques organoleptiques.	43
Tableau.3. Evolution de l'acidité au cours du temps	44
Tableau.4. Evolution de l'indice de peroxyde au cours du temps.	46
Tableau.5. Evolution des absorbances à 232 nm.	49
Tableau.6. Evolution des absorbances à 270 nm.	51

Liste des figures

Figure .1 Constituants des huiles végétales	05
Figure .2 .les triglycéride d'acide gras	06
Figure .3. Structure des acides gras	06
Figure.4. structure et nomenclature des principales familles des acides gras	08
Figure.5. Structure de vitamine E	09
Figure.6 Structure de caroténoïdes	09
Figure.7. Malaxage de la pate	12
Figure.8 Pâte mise sur des scourtins	12
Figure.9. Appareil de soxhlet à gauche, et appareil de Lickens-Nickerson à droite	14
Figure.1 Réactions d'oxydation des lipides	22
Figure.2. Mécanisme d'auto-oxydation des acides gras mono insaturés	23
Figure.1. Huile d'olive	33
Figure.2. Acide rosmarinique	34
Figure.3. Acide carnosique	34
Figure.4. Romarin	35
Figure.5. Structure chimique de l'acide gallique	35
Figure.6. Mesure de l'acidité : « a » avant et « b » après le titrage	37
Figure.7. Mesure de l'indice de peroxyde : « a » avant et « b » après le titrage	38
Figure.8. Spectrophotomètre U V /VIS	39
Figure. 9. : Spectre IRTF de l'huile d'olive	41
Figure.10. Evolution de l'acidité au cours du temps : Série A= romarin, Série B= Acide gallique	44
Figure.11. Evolution de l'indice de peroxyde au cours du temps : Série A= romarin, Série B= Acide gallique	46
Figure.12. Evolution des absorbances à 232nm au cours du temps: Série A= romarin, Série B= Acide gallique	50
Figure.13. Evolution des absorbances à 270 nm au cours du temps : Série A= romarin, Série B= Acide gallique	51

Sommaire :

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Chapitre I Les huiles végétales	
I.1. Historique	04
I.2. Définition	04
I.3. Composition chimique des huiles végétales	05
I.3.1. la fraction saponifiable	06
I.3.2. la fraction insaponifiable	08
I.3.2.1. Les vitamines liposolubles	08
I.3.2.2. les antioxydants	09
I.4. les caractéristiques des huiles végétales	10
I.4.1. les propriétés physiques	10
I.4.1.1. le point de fusion	10
I.4.1.2. la densité	10
I.4.1.3. La solubilité	10
I.4.1.4. La viscosité	10
I.4.2. Propriétés chimiques	10
I.4.2.1. Hydrolyse et saponification	11
I.4.2.2. Hydrogénation	11
I.5. Méthodes d'extraction des huiles végétales	11
I.5.1. Procédé classique ou traditionnel	11
I.5.1.1. Broyage	11
I.5.1.2. Séparation des phases	12
I.5.2. Procédé discontinu ou système à super presse	12
I.5.2.1. Broyage	12
I.5.2.2. Malaxage	12
I.5.2.3. Séparation des phases	12
I.5.2.4. Décantation	12
I.5.3. Procédé continu	13
I.5.3.1. Système d'extraction par centrifugation à trois phases	13
I.5.3.1.1. Broyage	13
I.5.3.1.2. Malaxage	13
I.5.3.1.3. Séparation des phases	13
I.5.3.1.4. Décantation	13
I.5.3.2. Système d'extraction par centrifugation à deux phases	13
I.5.4. Extraction par solvant	13
I.6. Le rôle des huiles végétales	14
Références bibliographiques	

Chapitre II Etude de l'oxydation des huiles végétales	
II.1.Introduction	19
II.2.Dosage des produits d'oxydation	19
II.3.Substrat lipidique exposés au phénomène d'oxydation	21
II.4. Oxydation de l'huile d'olive	21
II.4.1. Composé exposés à subir l'oxydation	21
II.4.2.Mécanisme réactionnel de l'auto-oxydation	22
II.4.2.1.Initiation	23
II.4.2.2. Propagation	24
II.4.2.3.Terminaison	25
II.4.3.L'impact de l'oxydation des huiles d'olives	25
II.4.3.1. Impact nutritionnel et organoleptique	25
II.4.3.2.Impact secondaire	25
II.4.4.Facteur influençant l'oxydation	25
II.4.4.1. Facteurs physico-chimiques	25
II.4.4.1.1. Activité de l'eau (AW)	25
II.4.4.1.2. Le pH	26
II.4.4.1.2.1. La température	26
II.4.5.Inhibiteurs de l'oxydation des huiles d'olives	27
II.4.6.Action anti radicalaire des antioxydants	27
II.4.6.1.Contrôle et prévention de l'oxydation des huiles d'olive	28
II.5.Paramètres chimiques d'évaluation de l'oxydation	29
II.5.1. Indice d'acide (I.A)	29
II.5.1.1.Définition	29
II.5.1.2. Principe	29
II.5.2.Indice de peroxyde	29
II.5.2.1.Définition	29
II.5.2.2. Principe	29
II.5.3.Indice d'iode	29
II.5.3.1.Définition	29
II.5.3.2. Principe	30
Références bibliographiques	
Première partie : Matériel et méthodes	
Chapitre III Résultats et discussion	
III.1Matériel	33
III.1.1.Huile d'olive vierge	33
III.1.2.Romarin	33
III.1.3.L'acide gallique	35
III.2.Méthodes	36
III.2.1. Acidité	36
III.2.2.Indice de peroxyde	37
III.2.2.1.Préparation des solutions	37
III.2.2.1.1.Préparation de la solution d'empois d'amidon	37

III.2.2.1.2.Préparation de la solution de thiosulfate de sodium	37
III.3.Absorbance aux rayonnements ultraviolets	38
III.4.Préparation de l'échantillon d'huile d'olive	39
Deuxième partie : discussion et Résultats	
III.1.Caractérisation de l'huile d'olive utilisée par spectroscopie FTIR	40
III.2.Les paramètres chimiques et organoleptiques	41
III.3.Suivi de l'oxydation de l'huile d'olive par méthodes chimiques	43
III.3.1. Acidité	43
III.3.2.Indice de peroxyde	45
III.4.Suivi de l'oxydation de l'huile d'olive par méthode physique	48
III.4.1.Absorbance au rayonnement UV	48
Références bibliographiques	
Conclusion	

Introduction

L'olivier est une plante emblématique de la Méditerranée. En effet, il n'est pas étonnant que la plupart de la superficie mondiale dédiée à cette culture se trouve, justement, dans le Bassin méditerranéen. C'est ici que se concentrent 95 % de la production et 85 % de la consommation mondiale [1].

Les propriétés nutritionnelles, biologiques, gustatives, et physicochimiques de l'huile d'olive expliquent l'intérêt du consommateur pour cette huile qui est reconnue pour être un composant essentiel de la diète méditerranéenne [2].

L'huile d'olive est composée d'environ 99 % de triglycérides. Sa composition en acides gras est caractérisée par une teneur importante en acides gras mono-insaturés, en particulier en acide oléique et en acides gras polyinsaturés (linoléique, et acide linoléique). Outre ce bagage intéressant, l'autre attrait de l'huile d'olive réside en sa richesse en composés minoritaires tels que les polyphénols. L'intérêt nutritionnel de ces composés phénoliques réside dans leur forte capacité antioxydante qui pourrait prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies dégénératives ainsi que les maladies cardiovasculaires [3].

Les polyphénols ont une grande importance pour la stabilité de l'huile d'olive vierge comparativement à d'autres huiles raffinées où ces derniers sont éliminés durant les processus du raffinage [4]. Les composés phénoliques majoritaires dans les huiles d'olives vierges sont le tyrosol et l'hydroxytyrosol, suivis de traces d'acides cinnamiques substitués dont l'acide caféique, d'oléuropeilaglycone et d'oléuropéine [5].

Cette résistance à l'oxydation peut être améliorée par plusieurs méthodes. L'une des approches les plus appropriées est l'incorporation des antioxydants qui consiste à retarder l'oxydation de l'huile et prolonger sa durabilité. Ceci peut être réalisé par l'incorporation des plantes végétales (romarin) contenant des molécules naturelles dotées d'activité antioxydant dans la masse d'huile d'olive. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui est réparti comme suit :

Chapitre I : Etudes des huiles végétales.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

Chapitre III (première partie) : Matériels et Méthodes.

Chapitre III (deuxième partie) : Discussion des résultats

Références bibliographiques :

- [1] Mili.S. « Olive oil marketing on non-traditional Marktes: Prospects and Stratgies, New Medit », vol. 5, n°1, pp. 27-37. (2006)
- [2] Claude. J. « Olive oil, OCL, 21(5) D501». (2014).
- [3] Velleits. « Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation ». Mémoire de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, p 160. (2010).
- [4] Joaqin. V., Carmen. D. « Oxydative stability of virgin olive oil ».Eur.J.Lipidsc Technol.104 661-676. (2002).
- [5] Chimi. H., A.Sadik, B Tutour., M .Rahmani « Contribution à L'étude comparative des pouvoirs antioxydants dans l'huile d'olive du tyrosol, de l'hydroxytyrosol, de l'acide caféique, de l'oleuropéine et du BHT ; Revue française des corps gras » N° 8/9 ; 339-343. (1988).

Chapitre I : Etude des huiles végétales.

Chapitre 01 : Les huiles végétales

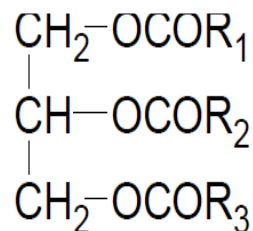
I.1. Historique :

Les huiles sont utilisées par l'homme depuis les temps anciens et leurs utilisations ont évolué au cours des siècles. Les premières huiles pressées furent probablement l'huile de sésame et l'huile d'olive, l'olivier étant cultivé en Méditerranée il y a 6000 ans.

La première utilisation de l'huile n'avait pas de vocations alimentaires mais plutôt combustible servant à l'éclairage [1].

I.2. Définition :

En général, le mot « huile » se rapporte aux triglycérides qui se trouvent dans leur état liquide à température ambiante. On les trouve dans plusieurs plantes notamment les légumineuses (arachide, soja), les graines (de colza, de tournesol), les fruits (amande, olive, palme, pépins de raisin), les céréales (maïs) ou encore dans le coton. Leur formule générale s'écrit :



Les huiles végétales sont des composés organiques non-volatiles, hydrophobes et parfois amphiphiles. Elles sont insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques non-polaires et font partie de la constitution naturelle de certaines plantes cultivées ou non.

Une huile végétale est extraite de la plante par pression à froid à partir de deux organes principaux, les graines et les fruits. Les plantes riches en huile sont appelées des oléagineux ou plante oléagineuses [2].

Les huiles végétales sont habituellement subdivisées en deux classes principales :

Huiles végétales fluides : huile d'arachide, de colza, de germe de maïs, de tournesol, de soja et d'olive.

Huiles végétales concrètes (graisse) : coprah (provenant de la noix de coco), huile de palme [3].

Les huiles végétales sont des sources privilégiées des macronutriments essentiels à savoir l'acide linoléique (famille des omégas 6) et l'acide alpha-linoléique (famille des omégas 3) et de micronutriments (vitamine E, phytostérols) [4].

I.3.Composition chimique des huiles végétales :

Les huiles végétales sont composées d'une grande variété de constituants (figure 01) et leurs compositions chimiques sont représentées par des fractions appelées fractions saponifiable (98-99%) et insaponifiable (1-2%).

Les triglycérides sont largement majoritaires et représentent au moins 95% du poids des huiles brutes et 98% du poids des huiles raffinées. D'autres constituants naturellement présents en plus faible quantité, sont dits constituants mineurs (1à5%) et regroupent des composés dont les structures varient tels que les phospholipides (0.1-0.2%), les stéroïls, les tocophérols (vitamine E) et quelques substances anti-nutritives [5].

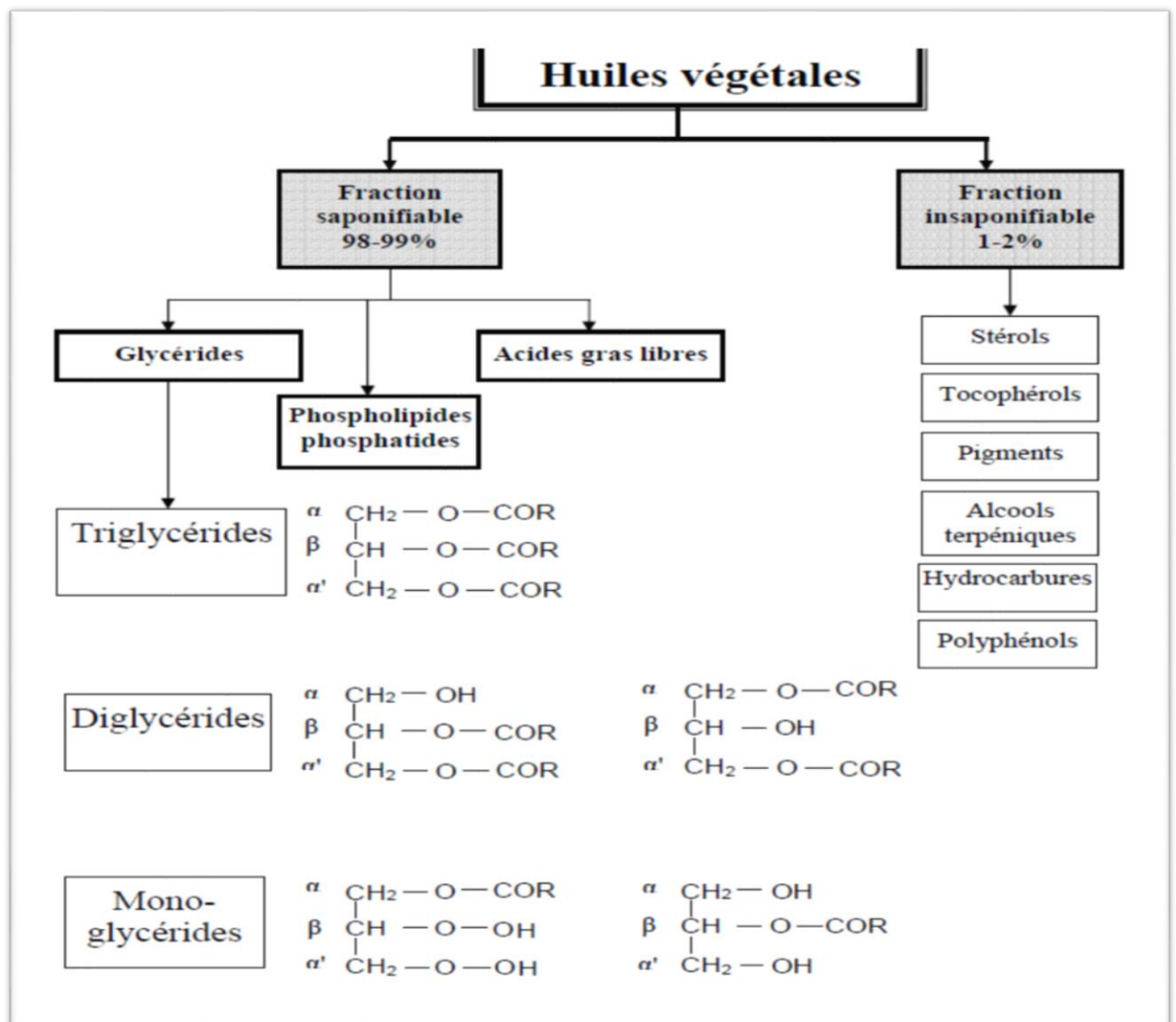


Figure 01 : Constituants des huiles végétales.

I.3.1. La fraction saponifiable :

Cette fraction est formée de deux constituants, les triglycérides et les acides gras.

A) Les triglycérides :

Du point de vue structurel, un triglycéride est composé d'une molécule de glycérol combiné à trois molécules d'acides gras. Le glycérol est formé d'une chaîne de trois atomes de carbone comportant chacune un groupement hydroxyle (-OH). Ces groupements hydroxyles entrent en réaction avec le groupement carboxyle (-COOH) des acides gras pour former des esters [6].

Lorsqu'une molécule de glycérol est liée à trois molécules d'un même acide, le triglycéride formé est dit homogène ou monoacide. Dans le cas contraire, le triglycéride est dit mixte [6].

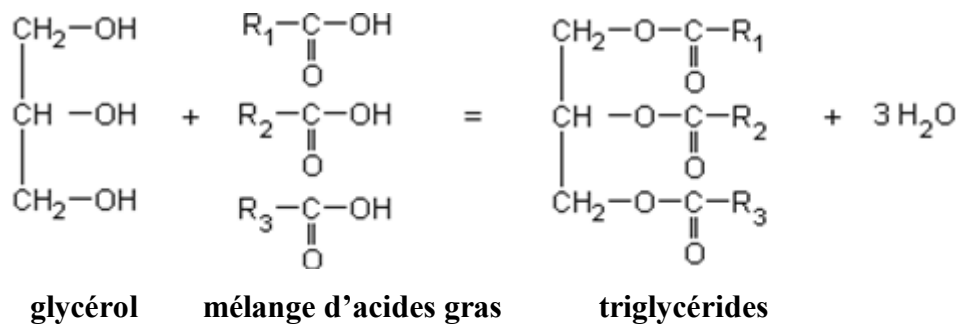


Figure 02 : Les triglycérides d'acide gras.

B) Les acides gras :

Les acides gras sont des composés organiques de structure générale R-COOH, constitués exclusivement de carbone (C), d'hydrogène (H) et d'oxygène. Le poids d'une molécule d'acide gras est réparti entre ces trois éléments selon les proportions respectives de 76%, 12.7% et 11.3% [6].

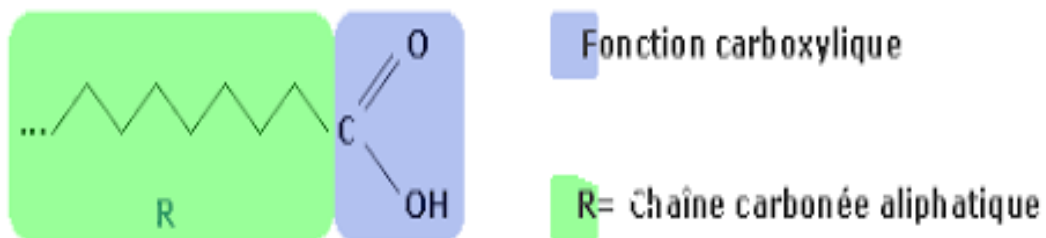


Figure 03 : Structure des acides gras.

Plusieurs acides gras différents peuvent être présents dans un même corps gras et, un acide gras (acide oléique par exemple) peut se retrouver dans de nombreux corps gras différents. La composition en acide gras est souvent caractéristique de leurs sources, en particulier végétales. Cependant, on observe des variations d'origine climatique ou bien encore liées aux saisons, à l'état physiologique et à l'alimentation [7].

Les acides gras diffèrent entre eux par :

- ✚ La longueur de la chaîne carbonée.
- ✚ Le nombre, la position et la structure spatiale (cis, trans) des doubles liaisons [8].

On peut donc classer les acides gras en trois groupes :

❖ Les acides gras saturés :

Ils sont constitués d'une chaîne hydrocarbonée ne renfermant pas de double liaisons et ont pour formule générale $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$. Ils sont solides et assez stables à température ambiante.

Les plus rencontrés sont : l'acide palmitique (C16 :0) et l'acide stéarique (C18 :0) [7].

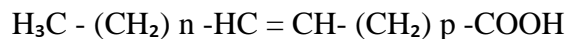
❖ Les acides gras insaturés :

Ils sont fluides à température ambiante et sont classés en deux catégories :

➤ Les acides gras mono-insaturés :

On parle d'acide gras mono-insaturé lorsqu'il n'y a qu'une seule double liaison.

Les acides gras mono-insaturés ont la formule chimique suivante :



Où : n et p sont des nombres entiers positifs ou nuls.

Exemple : L'acide oléique : (18 :1n-9) ou (ω 9).

➤ Les acides gras polyinsaturés :

Ce sont des acides qui contiennent plusieurs insaturations. Il existe deux familles d'acide gras polyinsaturé essentiels nommés n-3 (famille des ω 3) et n-6 (famille des ω 6) par rapport à la position des dernières doubles liaisons. Deux acides gras sont à l'origine de ces familles ; il s'agit de l'acide linoléique (C18 :2 n-6), précurseur des oméga 6 et l'acide α -linoléique (C18 :3 n-3), précurseur de la famille oméga 3 [9].

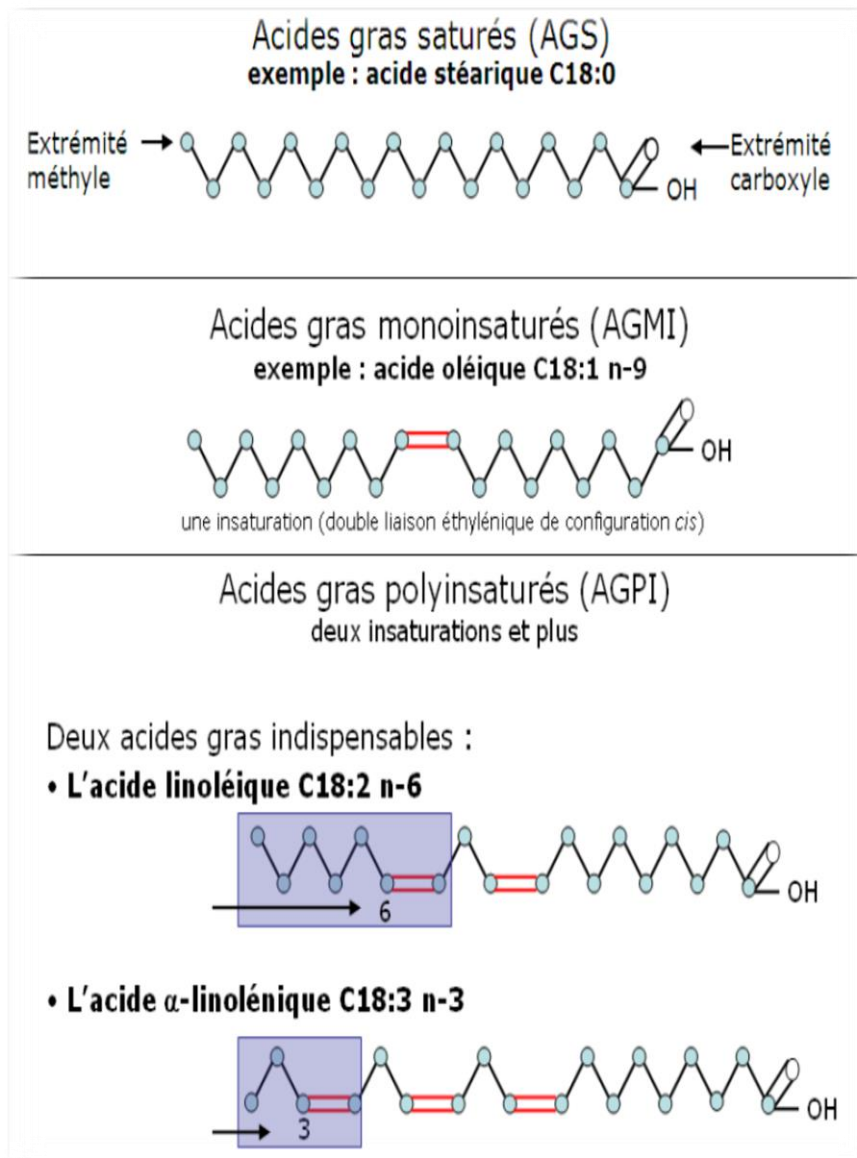


Figure 04 : Structure et nomenclature des principales familles des acides gras [10].

I.3.2.La fraction insaponifiable

Les huiles végétales contiennent aussi des constituants non glycéridiques et des lipides complexes appelés « constituants mineurs ». La teneur de ces constituant est très faible.

I.3.2.1.Les vitamines liposolubles :

🚩 Vitamine E (tocophérol) :

La vitamine E dite également tocophérol se trouve en quantité notable dans les huiles végétales et possède essentiellement des propriétés antioxydantes qui participent à la conservation des huiles. Elle se présente sous quatre formes (α , β , γ , δ). Sa teneur varie de 200 à 1200 mg/kg dans les huiles végétales.

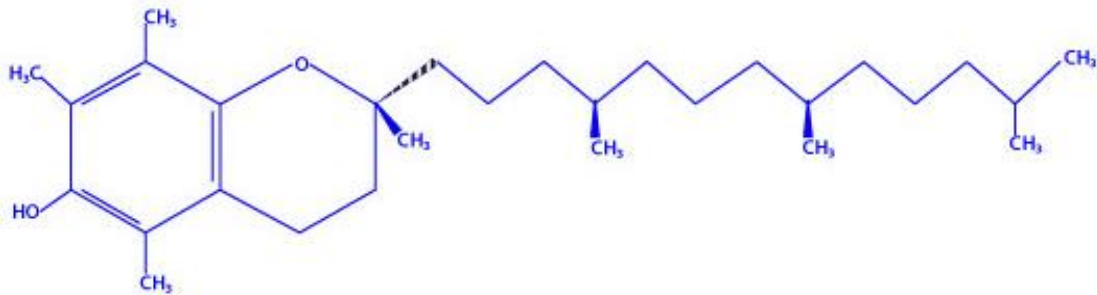


Figure 05 : Structure de vitamine E [11].

✚ Vitamine A et caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des hydrocarbures fortement insaturés, de couleur allant du jaune à l'orange [12]. Ils constituent des pigments liposolubles sensibles à la chaleur, à la lumière et aux rayons ultraviolets et ayant pour formule brute C₄₀H₅₆. Ils comprennent les carotènes et les xanthophylles et se présentent sous plusieurs types (α , β , γ). Les principaux carotènes rencontrés dans les huiles végétales sont les β carotènes [12].

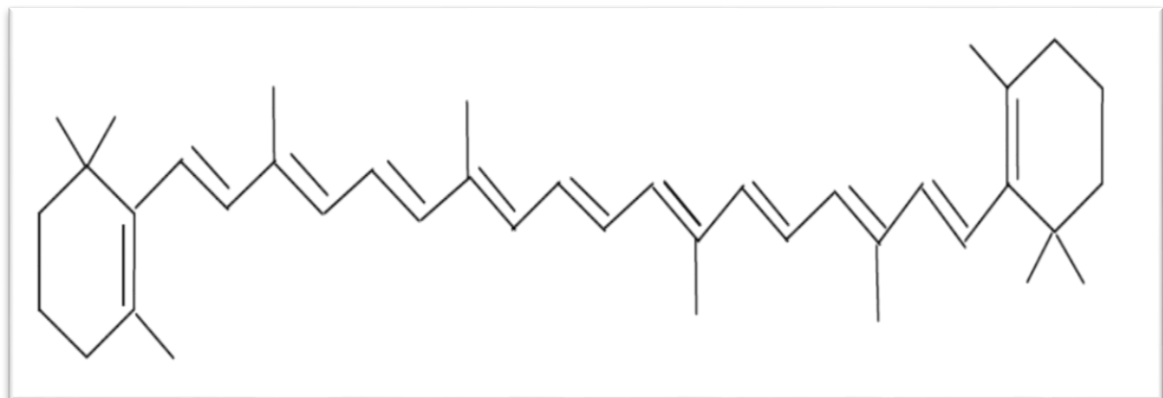


Figure 06 : Structure de caroténoïdes [13].

I.3.2.2. Les antioxydants

✚ Le tocotriénol :

C'est un analogue de la structure du tocophérol qui possède certaines propriétés physiologiques qu'on n'observe pas chez le tocophérol; par exemple son activité hypocholestérolémiant [14].

✚ Le phytostérol :

Toutes les huiles végétales en contiennent (de 0.1 à 0.5% en moyenne) et leur structure moléculaire présente de fortes analogies avec le cholestérol. Apportés en quantité suffisante par l'alimentation (de 2 à 3 g/j), ils ont un rôle hypocholestérolémiant qui ne peut être

obtenu qu'avec la consommation de produits enrichis en phytotrons puisque l'apport total journalier est estimé à moins de 500 mg [15].

I.4. Les Caractéristique des huiles végétales :

I.4.1. Propriétés physiques :

I.4.1.1. Le point de fusion :

Il permet d'apprécier le degré de pureté d'un corps gras. Il dépend du degré d'insaturation et de la longueur de la chaîne carbonée.

Dans les acides gras insaturés, le point de fusion augmente avec la longueur de la chaîne hydrocarbonée.

Les acides gras insaturés ont un point de fusion inférieur à celui des acides gras saturés [16].

I.4.1.2. La densité :

La densité est le rapport de masse d'un certain volume d'huile par la masse du même volume d'eau distillée. Elle doit être toujours inférieure à 1 [17].

I.4.1.3. La solubilité :

Tous les acides gras dont le nombre de carbone est supérieur à 8 sont insolubles dans l'eau et généralement solubles dans les solvants organiques tels que l'éther, le chloroforme et le benzène [16].

I.4.1.4. La viscosité :

La viscosité des acides gras et des triglycérides est liée à leurs structures (longueur de la chaîne et saturation). Elle augmente avec le poids moléculaire et diminue avec l'augmentation du nombre d'insaturation (doubles liaisons) et de la température.

I.4.2. Propriétés chimiques :

I.4.2.1. Hydrolyse et saponification :

L'hydrolyse de corps gras conduit à la libération d'un ou de plusieurs acides gras fournissant du glycérol et un mélange de carboxylates (de sodium et de potassium). La réaction peut se faire par l'acide sulfurique ou par voie enzymatique.

Il y a deux types de réactions d'hydrolyse :

✚ **Hydrolyse enzymatique :** elle n'affecte que les huiles brutes.

✚ **Hydrolyse spontanée :** elle se produit au cours du stockage et du traitement thermique.

La saponification est une réaction qui permet la transformation des acides gras libres ou combinés en savon en présence de potassium ou de soude (KOH ou NaOH) [18].

1.4.2.2. Hydrogénation :

L'hydrogénation des acides gras insaturés se fait en utilisant l'hydrogène (H₂) en présence de catalyseurs, sous une haute pression (de 100 à 200 bar) et la température variant de 200 à 400 °C [19].

I.5.Méthodes d'extraction des huiles végétales :

La production des huiles végétales a toujours été le principal objectif de la culture des graines .Les méthodes d'extraction ont évolué mais le processus d'extraction des huiles reste toujours le même. Généralement il existe quatre méthodes qui sont basées soit sur l'expression ou la volatilité.

I.5.1.Procédé classique ou traditionnel :

Dans les unités d'extraction classique (traditionnelle), le processus d'extraction d'huile consiste aux différentes étapes suivantes :

I.5.1.1.Broyage :

Il est réalisé par des meules en pierre de granit, qui tournent dans un bac dont le sol est également en pierre. Ce broyage est réalisé manuellement ou par l'intermédiaire d'un animal. Cette étape permet donc d'obtenir une pâte qui contient de la matière solide (débris de noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires, etc.) et des fluides (huile et eau de végétation, c'est-à-dire l'eau contenue dans les cellules de la graine).

I.5.1.2.Séparation des phases :

La pâte produite est mise sur des scourtins (des disques en fibres végétales). Ensuite, une extraction de l'huile est réalisée par une pression. Le pressage génère un sous-produit solide appelée grignons. Ces grignons sont les résidus solides récupérés à la suite de la première pression ou centrifugation. Ils sont constitués par les résidus de la peau, de la pulpe, et les fragments des noyaux.

Une séparation par décantation des phases liquides (huile et eau de végétation) est effectuée. Cette séparation se fait à l'air libre dans des bacs en ciment, en faïence ou en argile.

Un sous-produit liquide a été généré à la fin de cette étape, appelé les margines. C'est le résidu liquide aqueux brun qui s'est séparé de l'huile par sédimentation après le pressage ou centrifugation. Ce liquide a une odeur agréable mais un goût amer. Cet effluent relativement riche en matières organiques constitue un facteur de pollution qui crée un problème réel à l'industrie oléicole

I.5.2.Procédé discontinu ou système à super presse :

Les graines réceptionnées dans les huileries traditionnelles passent directement par les étapes suivantes :

I.5.2.1.Broyage :

Il est réalisé par des meules. Les meules utilisées pour le broyage sont légèrement décentrées par rapport à l'axe de rotation, ce qui accentue la possibilité d'écrasement des graines.

I.5.2.2.Malaxage :

Cette étape permet de libérer le maximum d'huile. Des raclettes ramènent en permanence la pâte sous les meules qui jouent alors le rôle de malaxeuses. La pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ.



Figure 7: Malaxage de la pâte.

I.5.2.3.Séparation des phases :

La pâte est alors placée en couche de 2 cm d'épaisseur environ sur des disques en fibre de nylon (les scourtins), eux-mêmes empilés les uns sur les autres autour d'un pivot central (appelé aiguille) monté sur un petit chariot. L'ensemble est placé sur un piston de presse hydraulique qui permet de faire subir à la pâte une pression de l'ordre de 100 kg.cm^{-2} .

La phase liquide s'écoule dans un bac. Les grignons restent sur les scourtins. Cette opération dure environ 45 minutes. Ensuite, chaque scourtin est débarrassé de ses grignons en le tapant comme lors du nettoyage d'un tapis.



Figure 8 : Pâte mise sur des scourtins.

I.5.2.4.Décantation :

L'huile, ayant une densité inférieure à celle de l'eau, donc elle remonte à la surface. Il s'agit de la décantation naturelle. Cependant cette méthode n'est presque plus utilisée, en raison de sa lenteur et de la difficulté pour bien séparer l'huile de l'eau au voisinage de

l'interface entre les deux fluides. Ce sont des centrifugeuses verticales à assiettes qui permettent aujourd'hui de séparer l'huile des margines.

I.5.3.Procédé continu :

Il existe deux types du procédé d'extraction continu : système par centrifugation à trois phases et système par centrifugation à deux phases.

I.5.3.1.Système d'extraction par centrifugation à trois phases :

Les graines, une fois réceptionnées, subissent des traitements préliminaires tels que l'effeuillage, l'épierrage (enlèvement des pierres) et le lavage afin d'avoir de l'huile de bonne qualité.

I.5.3.1.1.Broyage :

Il est réalisé par des broyeurs mécaniques à disques ou à marteaux. Ces broyeurs peuvent travailler en continu, la pâte étant obtenue presque instantanément.

I.5.3.1.2.Malaxage :

La pâte est versée dans un bac en inox modérément fluidifiée avec l'eau tiède, dans lequel tourne une spirale ou une vis sans fin, également en inox.

I.5.3.1.3.Séparation des phases :

Elle consiste à séparer la partie solide (grignons) de la partie fluide (margines). La pâte malaxée est injectée par une pompe dans une centrifugeuse dont l'axe est horizontal (décanteur horizontal)

I.5.3.1.4.Décantation :

On utilise des centrifugeuses verticales à assiettes qui permettent de séparer l'huile des margines.

I.5.3.2.Système d'extraction par centrifugation à deux phases :

Les grains subissent les mêmes étapes d'effeuillage, d'épierrage, de lavage et de broyage, de malaxage et de décantation que celles du système précédent à trois phases. Cependant, ce présent procédé d'extraction des grains fonctionne avec un nouveau décanteur avec centrifugation à deux phases qui ne nécessite pas l'adjonction d'eau pour la séparation des phases huileuses et solides contenant des grignons et les margines.

Ce décanteur à deux phases permet l'obtention de rendements en huile légèrement plus élevés que ceux obtenus par le décanteur conventionnel à trois phases et le système de presse. En outre, il ne procède pas à l'augmentation du volume des margines.

I.5.4.Extraction par solvant :

L'extraction par solvants des huiles et graisse est essentiellement réalisée industriellement en mettant en contact la matière oléagineuse à traiter avec un solvant approprié. On obtient

ainsi une solution d'huile dans le solvant ou mélange dont la concentration varie suivant la qualité du solvant et la richesse en huile de l'oléagineux traité.

Ce mélange, après filtration et concentration, est soumis à l'action de la chaleur dans un évaporateur puis dans une colonne finisseuse sous vide comportant une injection de vapeur pour l'élimination totale des dernières traces de solvant. Les vapeurs ainsi produites sont condensées dans des appareils classiques et l'huile obtenue est refroidie et stockée en attendant le raffinage.

Le solvant condensé est recueilli dans un séparateur où il est débarrassé de l'eau provenant de la vapeur injectée et de l'humidité des produits traités.

Les farines d'extraction retiennent toujours une quantité de solvant assez importante, que l'on récupère dans des appareils sécheurs. Là aussi, les dernières traces de solvant sont chassées à l'aide de vapeur vive ou sous vide plus ou moins poussé.

L'extraction est réalisée par un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

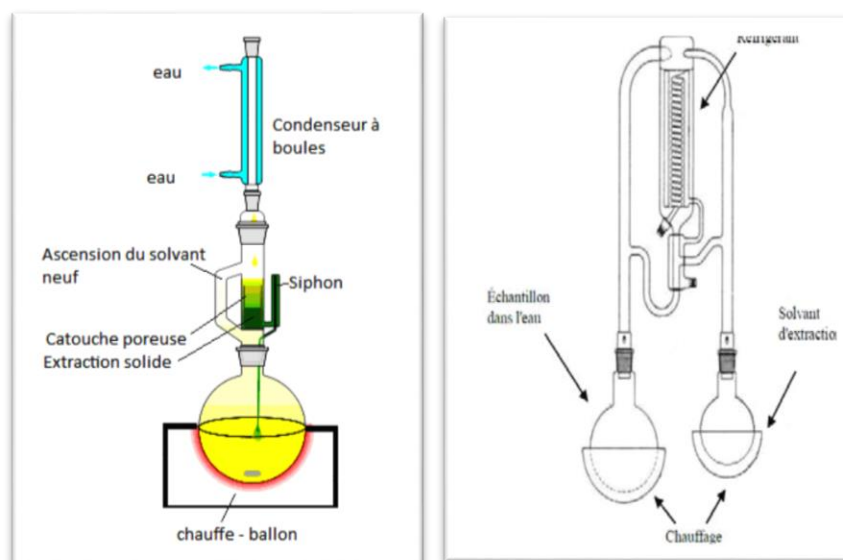


Figure 9 : Appareil de Soxhlet à gauche, et appareil de Lickens-Nickerson à droite.

Parmi les solvants utilisables, nous pouvons citer plusieurs types : les dérivés du pétrole, les solvants chlorés et les alcools.

I.6. Le rôle des huiles végétales :

Les huiles végétales peuvent contribuer notablement, en fonction de leurs compositions en acides gras, à améliorer l'équilibre global de la part lipidique d'une alimentation. Elles remplissent, comme les corps gras en général, quatre rôles principaux :

- ✚ **nutritionnel (apport d'énergie et de nutriments) :** acides gras, vitamines liposolubles, constituants mineurs d'intérêt tels que les phytostérols,

- ✚ **organoleptique** : flaveur et support d'arômes,
- ✚ **rhéologique** : texture,
- ✚ **technologique** : fluide caloporteur, par exemple dans les utilisations en friture [19].

Il faut signaler que seul un tiers de la production mondiale des corps gras est destiné à un usage industriel. Les deux tiers de la production sont en effet destinés à l'alimentation. Parmi les multiples usages industriels des corps gras, on peut citer la fabrication des savons et cosmétiques, des acides gras, etc. Les triglycérides sont également à l'origine de nombreux produits chimiques qui peuvent entrer dans la composition d'une multitude de produits : lubrifiants, produits cosmétiques, produits pharmaceutiques, peintures, etc... [20].

Références bibliographiques

- [1] Debruyme. I. « Soja : Transformation et aspects industriels ». Techniques de l'ingénieur, F6030, p 1-12. (2001).
- [2] Rakotorimana. S.R. «Contribution à l'amélioration de la comestibilité de l'huile d'arachide artisanale par raffinage ». Mémoire d'Ingénieur en Génie chimique.Université d'Antananarivo, p 110. (2010).
- [3] Uzzan. A. « Olive et huile d'olive ». In (Manuel des corps gras) Karleskind A.Tome1. Ed : Lavoisier. Paris, p 221-228. (1992).
- [4] Cmolikk. J ; Pokorny. J ; Dolezal .M . « Svobodaz. Geometrical isomerization of polyunsaturated fatty acids in physically refined raspessed oil during plante_scale deodorization ». Eur J Lipid Scitechnol 2007; 109 : p 656-662. (2007).
- [5] Morin.O. « Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et interet nutritionnel ». OCL, 19 (2) : p 63-64. (2012).
- [6] Brissong.J. « In Corps gras alimentaires et autres composés lipidiques : La signification des mots. Lipides et nutrition humaine ». Ed : Les presses de l'université laval. p 10-12. (1982).
- [7] Karleskind.A. « Manuel des corps gras ». Edition : Lavoisier Tec et Doc, Tome 1 et 2, Paris, (1992).
- [8] Cuvelier.C ; Cabaraux .J.F ; Du Frasné. I; Hornick. J.L; Istassel. « Acides gras : nomenclature et sources alimentaires ». p 134. (2004).
- [9] Siret. C. « Les composants chimiques des produits alimentaires ».Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés. F 1010. p 19. (2004).
- [10] Guesnet.P; Alessandri. J.M; Astorgp, Pifferi F, Lavallem. « Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI) ».OCL 12 : p 333-343. (2005).
- [11] Amadou. M.B.S. « Etude de la phytochimie et des activités biologiques de conbretun ». Pour obtenir le garde de Docteur en Pharmacie. Université de Bamako. p124. (2005).
- [12] Alais.C., Lindeng. « Lipides, Vitamines in Abrégé de biochimie alimentaire ».Ed: Masson, Paris: p70-112. (1997).
- [13] Frankelen. « Lipid oxidation ». Ed: The oily press, Dundee, UK (1988).
- [14] Kandji.N. « Etude de la composition chimique et de la qualité d'huile végétales artisanale consommées au Sénégal ». Docteur en pharmacie Université Cheik Anta Diop de Dakar. p 6. (2001).

- [15] Morino, Pagés-Xatart-Parès. « Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel ». OCL, 19 (2) : p 63-64. (2012).
- [16] Frenot ; Vierling.E. « Biochimie des aliments diététique du sujet bienportant ». Ed : Doin éditeurs, centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. Bordeaux. France. p 297. (2001).
- [17] Formom.M.W. «Physical properties of fats and fatty acids in Bailey's Industrial Oil and Fat Products». Vol.1 (ed.D.Swern), 4 Th edn, John Wiley & Sons, Inc., New York,p 177-232. (1979).
- [18] Djadoun.S. «Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par micro ondes ». Mémoire de magister en chimie de l'environnement. Université de Tizi-Ouzou. P9-10. (2012).
- [19] Seghier. Y ; Benahmed. L. «Raffinage de l'huile de soja et élimination des acides gras libres au niveau de l'usine de (Afia) Mémoire de Projet de Fin d'Etude pour l'obtention du diplôme de Master en Génie des Procédés ». (2014).
- [20] Jacques.E ; Xavier Pages-Xatart-Pares2 ; Christian A ; Odile M. « Procédés d'obtention et compositions nutritionnelles des huiles de tournesol, olive et colza ». (2007).

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

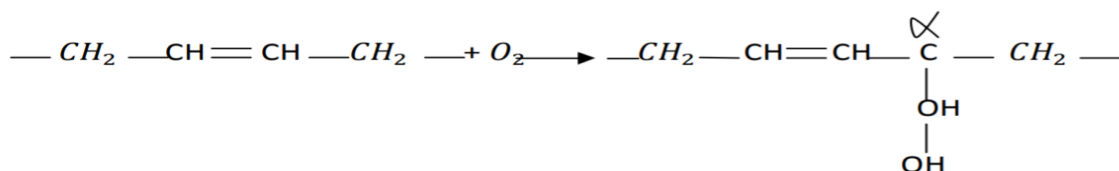
Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

II.1.Introduction :

Des phénomènes d'oxydation peuvent se produire durant le traitement des huiles à partir des matières premières jusqu'à l'entreposage de l'aliment, ainsi que pendant le stockage, la consommation et l'utilisation. La forme sous laquelle se présentent les huiles est un élément important, à savoir sous forme libre, de graisse tissulaire ou confinée dans une structure tissulaire ou encore en phase dispersée.

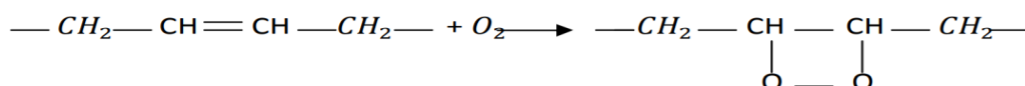
II.2.Dosage des produits d'oxydation [1] :

L'oxydation est un phénomène fondamental dans toutes les industries des corps gras: huilerie, margarinerie, savonnerie, cosmétique, alimentation de bétail l'altération chimique des corps gras insaturés par l'oxygène de l'air conduit à la formation d'un peroxyde .Cette réaction étant une réaction auto catalytique, commence lentement puis après une période d'induction ou l'oxydation est pratiquement indécélable s'accélère de façon exponentielle. L'oxygène se fixe sur les chaînes grasses suivant la température à laquelle a lieu l'oxydation: en dessous de 60%, la réaction prédominante est la formation d'un hydroperoxyde en α de la double liaison



La fixation d'oxygène s'accompagne d'un déplacement de la double liaison qui conduit pour les acides polyinsaturés plus facilement oxydables que les acides mono insaturés à la formation de systèmes diéniques conjugués majeure partie sous forme trans.

- Entre 60°et 130°, le mode de formation du peroxyde est différent car l'oxygène se fixe pour le double liais on pour donner un épiperoxyde.



- ❖ Les «produits de scission » résultants de la coupure de la chaîne grasse au niveau de la double liaison qui donne toute une série de composés à chaîne courte dont les

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

plus importants sont : les aldéhydes et les cétones .Ces aldéhydes peuvent eux même se peroxyder puis se dégrader en un aldéhyde à un atome de carbone de moins que l'aldéhyde primitif et en acide formique.

Ce sont les produits de scission qui sont responsables de l'odeur des corps gras rances.

- ❖ Les produits oxydés de même longueur de chaîne que l'acide de départ les cétones insaturés, α dicétones, hydroxy acides qui constituent la plus grande partie des «acides oxydés». Sous certaines influences ,en particulier celle des ions H^+ ,les peroxydes insaturés se décomposent de façon très particulière pour donner un acide insaturé ayant une double liaison de plus que l'acide de départ la totalité des doubles liaisons du nouveau composé formé étant conjugué.

Les ions H^+ ne sont pas les seuls responsables de cette décomposition et s'observent également dans les corps gras ayant subits des centrifugations accompagnés accidentellement d'une oxydation.

- ❖ Les produits d'oxydation de poids moléculaire supérieur à ceux du départ résultants de la polymérisation de deux ou plusieurs chaînes oxydées liées entre elles soit par des ponts oxygènes soit par des liaisons carbonées carbonées.

Les systèmes diéniques et triéniques conjugués paraissent donner plus facilement naissance à des produits de polymérisation qu'à des produits volatiles de leur oxydation.

Pour évaluer l'état d'oxydation d'une huile on détermine on indice de peroxyde : Il existe de nombreuses méthodes de mesure d'un indice de peroxyde (IP). Il existe aussi, ce qui est une grave source de confusion, de nombreux modes d'expression de l'IP. Actuellement, les trois modes d'expression les plus fréquemment employés définissent donc l'IP:

- ✚ Comme le nombre de micro gramme d'oxygène actif par gramme de corps gras,
- ✚ Comme le nombre le milli moles de peroxyde par kilo gramme de corps gras,
- ✚ Comme le nombre de milli équivalent d'oxygène actif par kilogramme de corps gras.

Dans une molécule de peroxyde (qu'il s'agisse d'hydroperoxyde ou d'épiperoxyde il y a une molécule d'oxygène fixée. Mais sur les deux atomes d'oxygène un seul est "actif", c'est-à-dire sur le plan analytique capable d'oxyder Par exemple des iodures en iode.

Les deux méthodes les plus employées sont des méthodes iodométriques, l'une à chaud qui est la plus rapide et la plus simple à exécuter, l'autre à froid qui est la méthode normalisée sur le plan international.

Le principe donc est le même : Oxydation d'iodure en iode par l'oxygène actif du peroxyde.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

II.3.Substrats lipidiques exposés au phénomène d'oxydation [1] :

Les substrats lipidiques de ces réactions sont principalement les acides gras insaturés, libres, ils s'oxydent généralement plus vite que lors qu'ils font partie de molécules de triglycérides ou phospholipides .Mais c'est surtout le degré d'insaturation qui influence la vitesse d'oxydation : à 100°C les vitesses relatives d'oxydation des acides stéariques (C18 :2 et linoléique C18 : 3).

Les acides gras insaturés et saturés ne sont s'oxydent qu'à 60°C, tandis que les acides gras poly insaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé.

Les principaux problèmes posés par ces réactions d'oxydation de lipides résident dans la formation de composés volatils d'odeur désagréable, ce qui peut limiter la durée de conservation d'aliment divers.

Les principaux substrats non saturés de l'oxydation sont souvent les phospholipides insaturés, lécitines.

D'autres substrats non saturés peuvent subir des réactions d'oxydation analogues : certains hydrocarbures présents dans les huiles, en particulier le squalène (C₃₀H₅₀) la vitamine A et les pigments caroténoïdes et chlorophylliens la vitamine E (tocophérol) et les alcools triterpéniques.

Les composés formés peroxydés sont au départ des hydroperoxydes puis par décomposition ils se forment des composés secondaires volatils ou non volatils (aldéhydes, cétones) de flaveur désagréable qui déprécie les qualités organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles.

II.4.Oxydation de l'huile d'olive :

II.4.1.Composés exposés à subir l'oxydation :

Les substances de ces réactions sont principalement les acides gras insaturés libres .Mais surtout le degré de l'insaturation qui influe la vitesse d'oxydation, le principal problème posé par les réactions d'oxydation de l'huile réside dans la formation de composés volatils d'odeur désagréable, ce qui peut limiter la durée de conservation d'aliment.

On peut distinguer dans l'oxydation des lipides, trois groupes de réactions (figure1)

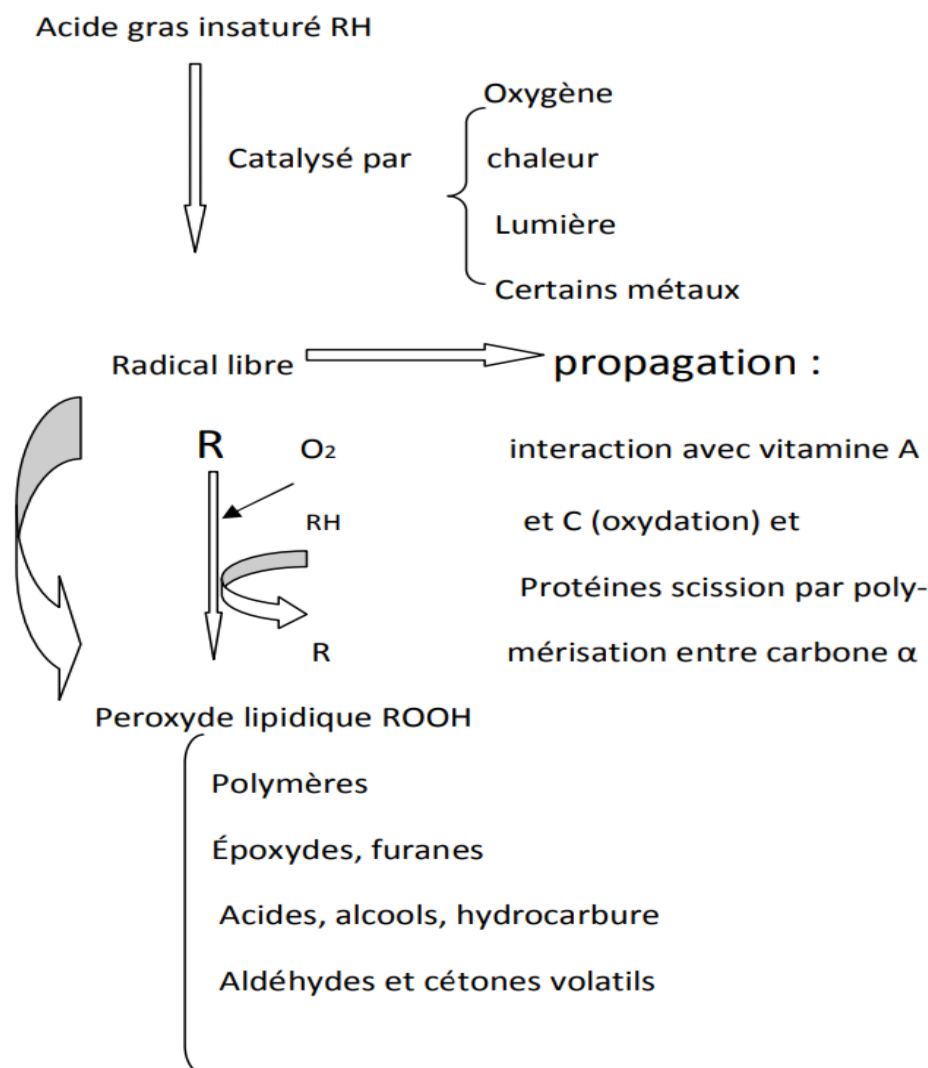


Figure 1 : Réactions d'oxydation des lipides

L'évaluation de la stabilité oxydative des huiles peut répondre à plusieurs objectifs tels que :

- ✚ l'évaluation de l'efficacité des antioxydants.
- ✚ la résistance d'une matière grasse à l'oxydation
- ✚ la conformité à un cahier de charges
- ✚ la détermination de la durabilité d'un corps gras

II.4.2.Mécanisme réactionnel de l'auto-oxydation [1] :

L'auto-oxydation de la matière grasse abandonnée au contact de l'oxygène constitue un ensemble complexe de réactions non complètement élucidées.

Elles conduisent à la rupture des chaînes carbonées avec le développement de produits par la plus part volatils à structure carboxylée. Les propriétés organoleptiques sont altérées: c'est le rancissement.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

L'auto-oxydation des acides gras insaturés (RH) procède par un ensemble de réactions en chaîne auxquelles participent surtout des radicaux libres $\{R^\bullet\}$. Une séquence impliquant une étape d'initiation correspondant à l'activation de la molécule d'acide gras, une phase de propagation et des réactions de terminaison.

II.4.2.1. Initiation[1] :

L'initiation de la réaction consiste en la formation d'un radical libre par arrachement d'un atome d'hydrogène d'une chaîne d'acide gras généralement insaturé :



L'oxydation des huiles est d'abord très lente du fait de la faible vitesse d'initiation.

En effet le départ de l'atome hydrogène est peu probable en raison de l'énergie d'activation élevée de la réaction. Il est cependant facilité par :

- le chauffage (thermolyse)
- la lumière (photolyse)
- des radiations ionisantes

Lors que l'arrachement de l'atome d'hydrogène s'effectue en α du double liaison, l'électron célibataire de la structure radicalaire est stabilisé par résonance.

Dans le cas de l'acide oléique, le radical est formé en position n-7 ou n-10.

En raison de la délocalisation de l'électron célibataire par résonance, quatre radicaux libres d'acides gras, isomères de positions ont obtenus figure 2.

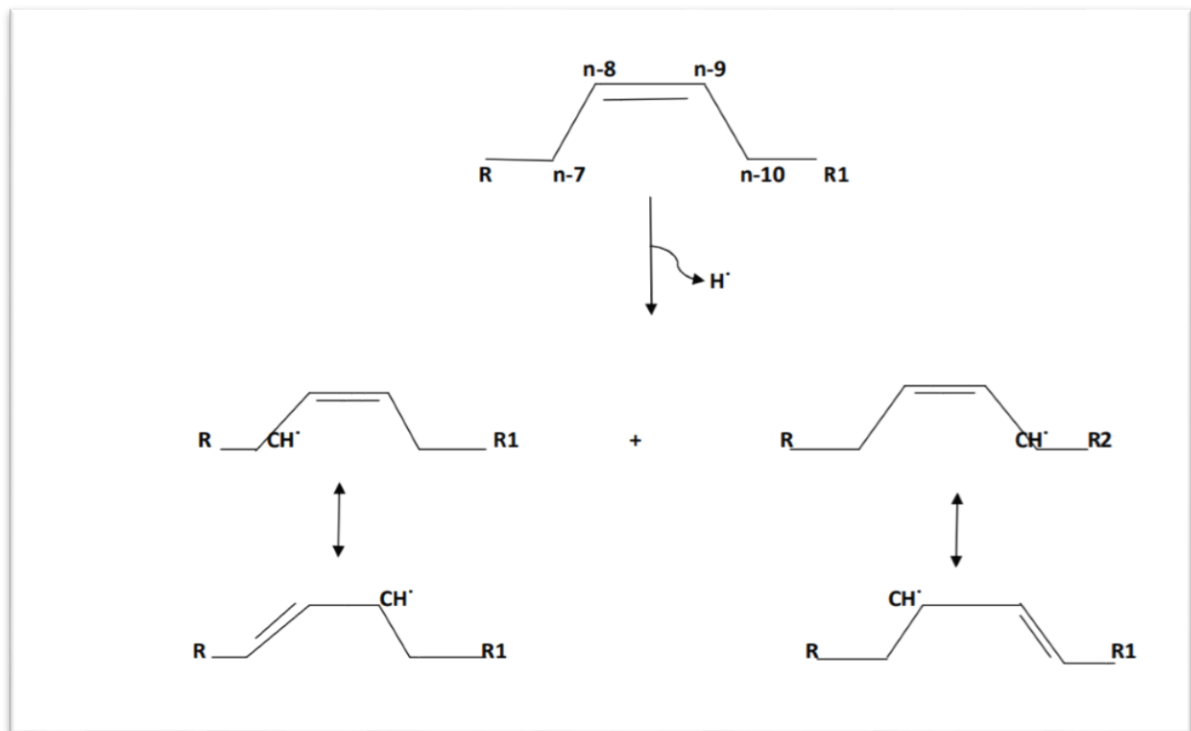


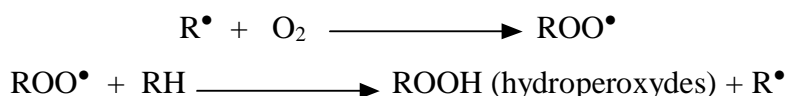
Figure 2: Mécanisme d'auto-oxydation des acides gras mono insaturés.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

Les radicaux d'acide gras en position n-7 ou n-10 sont légèrement plus abondants que les radicaux d'acides gras en position n-8 ou n-9.

Cependant la proportion relative de chacun des radicaux libres d'acide gras varie en fonction de la température. Son augmentation tend à homogénéiser les populations des radicaux.

II.4.2.2.Propagation[1] :



Les radicaux d'acides gras ainsi formés réagissent avec l'oxygène triplé $3O_2$ dissout dans la phase lipidique ou atmosphérique après diffusion. La réaction d'un radical libre avec une molécule d'oxygène est très rapide lorsque la teneur en oxygène n'est pas limitant.

L'interaction conduit à la formation d'un radical peroxy (ROO^\bullet).

Le dernier se stabilise sa structure par l'arrachement d'un atome d'hydrogène sur une autre chaîne d'acide gras (RH). Le radical libre d'acide gras (R^\bullet) ainsi formé peut continuer la réaction suivant le même principe, c'est la phase de propagation.

Elle est possible sans apport extérieur car le potentiel d'oxydo-réduction des hydroperoxydes ($ROO^\bullet/ROOH$)-1V est supérieur à celui des acides gras (R^\bullet/RH)-0,6V elle est catalytique.

La constante de vitesse de la réaction de propagation est de l'ordre de 10 mol.L.S . Ceci explique que lors que la teneur en oxygène n'est pas limitante, la très large majorité des radicaux est sous forme peroxy.

Il existe plusieurs types d'oxydations qui mettent en œuvre les mécanismes réactionnels très différents, aboutissant au rancissement oxydatif ou hydrolytique

Les altérations conduisant au rancissement oxydatif sont l'auto-oxydation, la photo-oxydation et l'oxydation enzymatique catalysée par la lépoxygénase. Les produits primaires de ces oxydations sont des hydroperoxydes qui peuvent générer, après leur dégradation, des composées, de faible poids moléculaire (carboxyles, alcools, acides) dont certains sont très olfactifs. Ce stade de rance se développe dans l'huile altérée, ce qui réduit sa qualité marchande et conditionne directement sa durée de conservation alimentaire.

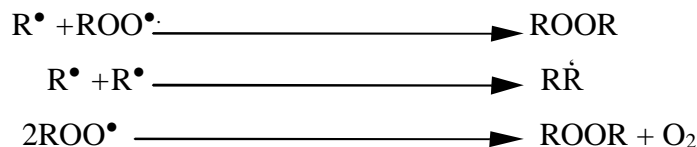
Lors de la phase de propagation, un seul radical libre d'acide gras peut initier la formation de nombreuses molécules d'hydroperoxyde. les quantités d'hydroperoxydes générés correspondent à la quantité d'hydrogène consommé lors de l'oxydation des chaînes d'acide gras.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

La vitesse de formation des hydroperoxydes s'accélère au cours de temps.

II.4.2.3.Terminaison[1]:

Lorsque la concentration en radicaux libres devient suffisamment importante, ces derniers peuvent se combiner pour terminer la réaction :



La dernière de ces réactions prédomine, la pression partielle de l'oxygène est élevée. L'enthalpie d'activation des réactions de terminaison est faible, mais la limite provient de facteur de probabilité de rencontre des radicaux entre eux.

Sur la base de ces réactions l'auto-oxydation de la matière grasse fraîche évolue en trois périodes distinctes :

- ✚ La période d'induction où il ya formation d'hydroperoxydes stable, le goût de la matière grasse n'est pas altéré.
- ✚ La période d'oxydation active où la formation d'hydroperoxydes s'accélère.
- ✚ La période d'accélération des réactions secondaires.
- ✚ L'absorption de l'oxygène est rapide sous qu'il y ait augmentation de l'indice de peroxyde. Le goût de la matière grasse est fortement altéré.

II .4.3.L'impact de l'oxydation des huiles d'olives [2]

II.4.3.1.Impact nutritionnel et organoleptique :

Dégradation des vitamines liposoluble et des acides gras essentiels, développement des flaveur sa normales, changement de couleur.

II.4.3.2.Impact secondaire :

Les produits secondaires d'oxydation montrent des effets cytoséiques et mutagènes (cas de malondialdéhyde qui réagit avec l'ADN) ou encore des effets cancérigènes, mutagènes et athérogènes (cas des monomères cycliques et oxystérols).

II.4.4.Facteurs influençant l'oxydation [3]:

II.4.4.1.Facteurs physico-chimiques :

II.4.4.1.1.Activité de l'eau (AW) :

L'AW et l'état physique de l'eau influencent fortement la stabilité oxydative d'un aliment la stabilité maximale des lipides observée pour les AW comprises entre 0,2 et 0,4.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

La vitesse relative d'oxydation des lipides augmente très significativement de part et d'autre de cette fenêtre, sur les plages d'AW comprises entre 0,2 et 0,4 ou entre 0,4 et 0,7. Au-delà d'une AW de 0,7, la vitesse d'oxydation des lipides est ralentie en décroît

L'influence de l'AW est complexe car elle implique plusieurs mécanismes. En effet, l'eau peut augmenter la vitesse d'oxydation des lipides en augmentant la mobilité des réactants. Elle peut également la ralentir en retardant la décomposition des hydroperoxydes et en diluant les catalyseurs d'oxydation.

II.4.4.1.2.Le pH:

Le pH intervient sur le mécanisme d'oxydation des lipides, principalement en modifiant la solubilité de l'activité des catalyseurs et des inhibiteurs de l'oxydation.

L'activité des antioxydants est généralement couplée à leur solubilité mais pas uniquement. Ainsi, les polyphénols sont plus actifs à pH basique ou leur solubilité est la meilleure. En effet, l'affaiblissement énergétique des fonctions hydroxyles avec l'augmentation de pH facilite le transfert de l'atome d'hydrogène aux radicaux lipidiques.

L'accessibilité de la matière grasse aux catalyseurs vus aux inhibiteurs d'oxydation module également la vitesse d'oxydation des lipides.

II.4.4.1.2.1.La température :

L'effet de la température sur l'oxydation de lipides est complexe et dépend de la concentration en oxygène dans le milieu. Lorsque celle-ci est pas limitant la vitesse d'oxydation des lipides est de façon générale régie par la loi d'Arrhenius et augmente avec la température.

Cependant la contribution relative des divers mécanismes d'initiation de l'oxydation des lipides augment avec la baisse de la température du fait de la solubilité accrue de l'oxygène dans la phase aqueuse.

Aussi la baisse de la température, lors de la cristallisation de la fraction lipidique à plus haut point de fusion exclue l'oxygène des zones cristallisées. L'oxygène se trouve alors concentré avec la fraction lipidique la plus instaurée ce qui facilite la propagation de l'oxydation des lipides. Une augmentation de l'espérance de vie, le rôle antioxydant de ces composés pourrait de façon plus spécifique protéger les lipoprotéines des processus oxydatifs mais leur activité est variable selon leur structure.

*Les arômes : ces composés sont responsables de la saveur de l'huile, globalement, ils représentent 250 à 300 ppm. Le profil des composés aromatiques d'huile dépend de sa

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

qualité...ainsi une huile d'olive fraîche de bonne qualité un profil de composés issus principalement des voies de bio synthèse normales.

*Par contre une huile d'olive de moindre qualité aurait un profil plus complexe qui renferme aussi des composés volatiles responsables du gout défectueux. Les principaux défauts de l'huile d'olive sont évalués par les arômes moisi, humide vineuse, rance et métallique.

* La raison principale de l'apparition du gout indésirable est la formation de composés volatiles produits par une sur maturation du fruit, une oxydation des acides gras instaurés suite à une attaque bactérienne ou un stockage des olives avant l'extraction des huiles.

II.4.5. Inhibiteurs de l'oxydation des huiles d'olives [3]:

Certaines molécules naturellement présentes dans le règne végétal (plantes) exercent une action, antioxydants sur les huiles soit en limitant la propagation des radicaux libres soit par un contrôle de l'activité des catalyseurs d'oxydation. Ainsi elles retardent en ralentissant la décoloration ou l'apparition de flaveur indésirables due à l'oxydation des huiles.

II.4.6.Action anti radicalaire des antioxydants [3]:

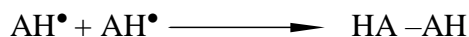
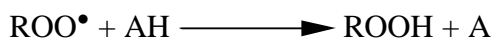
Certains composés ayant la propriété antioxydants sont des piègeurs à radicaux libres, ils interviennent en transférant un atome d'hydrogène à l'espèce radicalaire. Les antioxydants réagissent préférentiellement avec les radicaux peroxydes car ce sont les radicaux majoritaires lors de l'expiration des huiles d'olives.

Les échanges d'atome d'hydrogène retardent significativement la propagation dès l'oxydation.

L'efficacité d'un antioxydant résulte de la présence sur les molécules d'une liaison de faible énergie faisant intervenir un atome d'hydrogène .Plus l'énergie de cette liaison est faible, plus le transfert de l'atome d'hydrogène à un radical lipidique est favorisé énergiquement et donc se produit rapidement.

L'efficacité d'un antioxydant dépend aussi de son aptitude à réduire l'énergie de sa structure radicalaire afin qu'il ne soit pas à son tour un catalyseur d'oxydation. (Ainsi les antioxydants) (Les antis radicalaires) ainsi les antioxydants radicalaires (AH°) sont souvent stabilisés par une délocalisation des électrons par résonance. Ils peuvent transmettre un second hydrogène à un autre radical lipidique et adopter une structure moléculaire plus stable non radicalaire (A) ou réagir entre eux pour former un dimère stable (HA-AH):

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.



Les structures chimiques les plus communes qui participent au piégeage des radicaux libres sont les groupements hydroxydes des dérivés phénoliques, car ils transfèrent rapidement un ou deux atomes d'hydrogène et forment un dérivé phénolique stable, radicalaire ou non, les dérivés ortho-et-para sont les plus efficaces, parce qu'ils donnent des radicaux libres relativement stables du fait de la délocalisation de l'électron entre les formes de résonance.

Le radical libre antioxydant est d'autant plus stable que le groupement substituant est plus grand, l'action antioxydante diminuant toute fois dans ce cas :

La cinétique de disparition des antioxydants est directement liée à l'instauration de la matière grasse. Les matières grasses fortement instaurées et par conséquent prompt à la formation des structures radicalaires consomment rapidement les antioxydants tant que l'antioxydant est présent dans le système.

II.4.6.1. Contrôle et prévention de l'oxydation des huiles d'olive [3]:

L'oxydation des huiles est dépendante de la composition, la concentration et l'activité de substances de réaction, de la balance des agents pro-oxydants d'antioxydants.

Elle est responsable d'une perte de qualité nutritionnelle (diminution de la teneur en acides gras polyinsaturés ou des vitamines antioxydants) organoleptique ('formation de molécules responsables de saveurs indésirables).

En outre, les réactions mises en jeu dans l'oxydation des huiles d'olives font la plupart du temps intervenir des radicaux libres ou de formes très actives de l'oxygène, qui sont mises en cause dans le processus de vieillissement dégénératif de l'organisme ou dans des pathologies graves (en particulier certaines formes de cancer, l'athérosclérose, les maladies cardio-vasculaires et le diabète).

Lutter contre l'oxydation des huiles d'olives représente un enjeu considérable pour les huileries. Pour ce faire, il faudra minimiser les pertes en antioxydants durant les étapes technologiques, sélectionner des plantes ou des ingrédients issus des plantes naturellement riches en molécules antioxydantes ou bien incorporer des antioxydants dans l'action alimentaire.

Parallèlement il faudra éviter d'exposer les huiles obtenues à des catalyseurs d'oxydation (les températures élevées, ou la lumière en particulier les denrées contenant des photosensibilisateurs).

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

L'usage des antioxydants naturels appartient à des familles chimiques diverses (composés phénoliques, tocophérols divers, acide ascorbique).

Les composés phénoliques sont essentiellement les acides phénoliques, les flavonoïdes les anthocyanes. Ils interviennent soit en interrompant la phase de propagation de l'oxydation soit en activant les catalyseurs d'oxydation.

Les limites à la mise en œuvre des antioxydants dans les matrices alimentaires sont liées à leur matrices a leurs interactions avec d'autres constituants (protéines et composés phénoliques) ou aux modifications de couleur ou de flaveur.

II.5. Paramètres chimiques d'évaluation de l'oxydation :

II.5.1. Indice d'acide (I.A) :

II.5.1.1. Définition :

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de sodium nécessaires pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme de corps gras [4].

II.5.1.2. Principe :

Consiste à neutraliser les acides libres par une solution alcoolique d'hydroxyde de sodium titrée.

II.5.2. Indice de peroxyde :

II.5.2.1. Définition :

L'indice de peroxyde est une mesure permettant d'estimer la quantité de peroxydes présents dans une matière grasse. Les peroxydes sont des constituants caractéristiques de l'oxydation des acides gras insaturés, ils sont déterminés en se basant sur leur propriété de libérer l'iode de l'iodure de potassium dans les milieux acides. L'iode libéré est mesuré par la réaction avec le thiosulfate, sachant que 1ml de thiosulfate 0,01 N correspond à une quantité de 80 mg d'oxygène fixé sur les acides gras [4].

II.5.2.2. Principe :

Il est basé sur le traitement de l'huile en solution dans de l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI), c'est le titrage de l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

II.5.3. Indice d'iode :

II.5.3.1. Définition :

Cet indice mesure globalement le degré d'insaturation d'une matière grasse en déterminant le nombre de grammes d'iode se fixant sur les doubles liaisons présentes dans 100g de

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

lipides. Les matières grasses animales très saturées, ont des indices d'iode de l'ordre de 45, dans les huiles végétales, cette valeur atteint 150 [4].

II.5.3.2.Principe :

Addition, à une prise d'essai d'une solution de monochlorure d'iode dans un mélange formé d'acide acétique et de tétrachlorure de carbone. Après un temps donné de réaction, réduction de l'excès de monochlorure d'iode par addition d'une solution d'iodure de potassium et d'eau et titrage de l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium.

Chapitre II : Etude de l'oxydation des huiles végétales.

Références bibliographiques

- [1] Jeanretr ; Croguennec.T ; Schuck ; Brulureg. « Science Des Aliments » Ed – Tech et Doc Vol 1, ISBN – 2 – 730 – 0833 – 4p 197 – 223 (2006).
- [2] M.Rahmani « – 18 – Les technologies de laboratoires : Méthodes d'évaluation de stabilité oxydative des lipides » Janvier / Février (2007).
- [3] J.C ; Henry. C « Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments » Vol1 Tech, Paris. (1976).
- [4] Wolf., J.P « Manuel des corps gras » Edition Azoulay, Paris (1968).

Chapitre III : Résultats et discussion

Première partie: Matériels et Méthodes.**III.1. Matériel :**

Le matériel utilisé au cours de notre étude consiste en : l'huile d'olive vierge, le romarin et l'acide gallique.

III.1.1. Huile d'olive vierge :

L'huile d'olive vierge utilisée lors de la réalisation de notre travail provient d'une huilerie semi moderne située à SEFIANE village situé à 80km de Batna. C'est une huile extraite par première pression à froid. Les olives triturées sont de variété «sigoise». Cette huile provient de la campagne oléicole janvier 2019.



Figure.1 : Huile d'olive

III.1.2. Romarin :

Le Romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin ros, rosée et marinus, marin. En effet, d'après la légende, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin Rosa marina qui a donné son nom au genre [1].

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance et de récolte ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif (idéal quand le végétal a le maximum d'essence) [2].

Les feuilles séchées et l'HE (de type Espagne et du type Maroc-Tunisie) de *Rosmarinus officinalis* L. sont inscrits comme drogues végétales à la Pharmacopée Européenne 11ème édition.

D'après la Pharmacopée Européenne [3], la feuille entière séchée de *Rosmarinus officinalis* L. doit avoir une teneur minimale de :

- ✚ 3% de dérivés hydroxycinnamiques totaux, exprimés en acide rosmarinique ($C_{18}H_{16}O_8$; Mt 360,3) (drogue anhydre)
- ✚ 12 mL/kg d'HE (drogue anhydre).

Afin de déterminer la composition chimique des feuilles et sommités fleuries de Romarin, nous avons effectué un relevé à partir de plusieurs études. Nous avons pu ainsi calculer des valeurs moyennes pour les molécules les plus souvent citées.

Acides phénols :

Acide rosmarinique : 1,7-2,83% en moyenne (Figure 2)

Acide caféique : (= aucune valeur précisée) associé avec l'acide chlorogénique

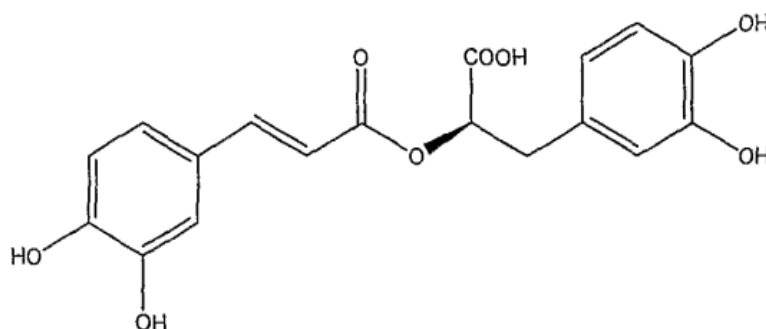


Figure 2 : Acide rosmarinique [4].

diterpènes phénoliques tricycliques :

acide carnos(ol)ique \approx 0,35% (Figure 3).

carnosol = picrosalvine : (valeur variable, jusqu'à 4,6% ou majoritaire).

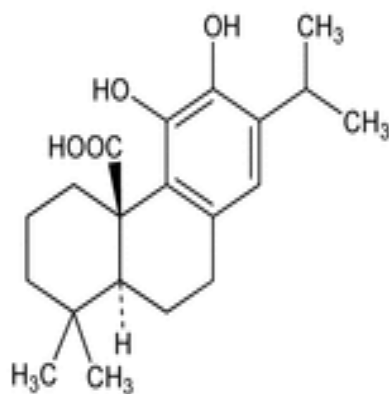


Figure 3 : Acide carnosique [5].



Figure.4 : Romarin utilisé.

III.1.3.Acide gallique :

L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est un composé organique aromatique, l'un des six isomères de l'acide trihydroxybenzoïque, largement répandu dans les plantes soit sous forme libre soit comme composant des gallotannins.

Il est classé dans les acides-phénols (ou acides phénoliques) puisqu'il comporte à la fois une fonction carboxylique et des hydroxyles phénoliques. Et comme il est dérivé de l'acide benzoïque, on le classe aussi dans les acides hydroxybenzoïques.

On le trouve à l'état naturel dans des galles de chênes (ou noix de galle), de sumac, d'hamamélis, les feuilles de thé, l'écorce de chêne, la peau de grenade, entre autres plantes. Sa formule chimique est $C_6H_2(OH)_3 COOH$ (Figure 5). Les sels et esters tirés de cet acide sont appelés gallates.

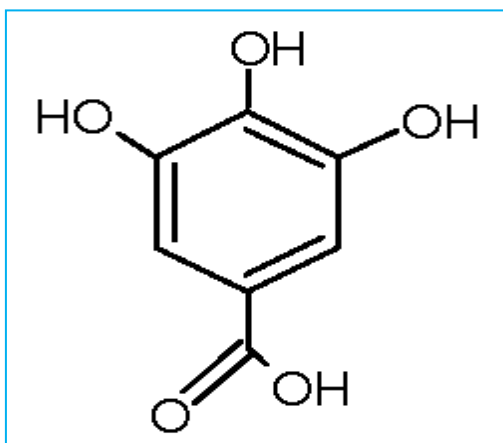


Figure 5 : Structure chimique de l'acide gallique

L'acide gallique à une concentration de 1,65 mM, accélère l'oxydation du désoxyribose induite par des radicaux hydroxyles $\cdot OH$ (produits par $Fe^{3+} - H_2O_2$) [6]. Au-delà de cette concentration, l'acide gallique se comporte en antioxydant capable de réduire les dommages du désoxyribose occasionnés par $Fe^{3+} - H_2O_2$. On observe aussi l'aptitude de

l'acide gallique à générer des radicaux hydroxyles en présence de cuivre Cu(II) mais en quantité bien moindre que ne le fait l'acide tannique. Inversement, l'activité antioxydante se manifeste par son aptitude à réduire la dégradation de l'ADN. La riboflavine photosensibilisée est apte à dégrader l'ADN mais si on lui rajoute de l'acide gallique la dégradation est alors limitée [7]. L'acide tannique dans ce cas inhibe complètement la dégradation.

L'acide gallique est aussi un piègeur de radicaux libres. À la concentration de 4,17 mM, il est capable de piéger 44 % des radicaux DPPH^{*} et 60 % du peroxyde d'hydrogène [6].

III.2. Méthodes :

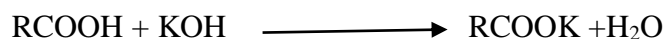
III.2.1. Acidité :

a. Principe :

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres contenue dans un corps gras, par convention elle s'exprime en pourcentage d'acide oléique pour l'huile d'olive (gramme d'acide oléique pour 100 gramme d'huile). L'acidité est un critère important d'appréciation de l'huile d'olive à la caractérisation

de l'huile d'olive à la caractérisation alimentaire et constitue une caractéristique fondamentale de sa qualité commerciale

Le contenu en acides gras libres d'une huile est un indicateur de l'activité de la lipase, de la qualité, de la fraîcheur du fruit et de la stabilité de l'huile pendant le stockage.



b. Mode opératoire :

On pèse 02gramme de l'huile dans un erlenmeyer puis on ajoute : 25ml d'éthanol, 25ml d'éther diethyliques et quelques gouttes de phénophtaléine (indicateur coloré) après agitation on dose à l'aide d'une solution de KOH (0.1) Normale la fin du dosage est marqué par l'apparition d'une couleur rose qui doit persister pendant 15 seconde après agitation on note le volume de KOH.

c. Formule de calcul :

$$\text{Acidité}(\%) = \frac{N \times V \times 282.5 \times 100}{M \times 10}$$

N : normalité de KOH

V : volume de KOH

M : masse de l'huile en (mg)

282.5 : masse molaire de l'acide oléique

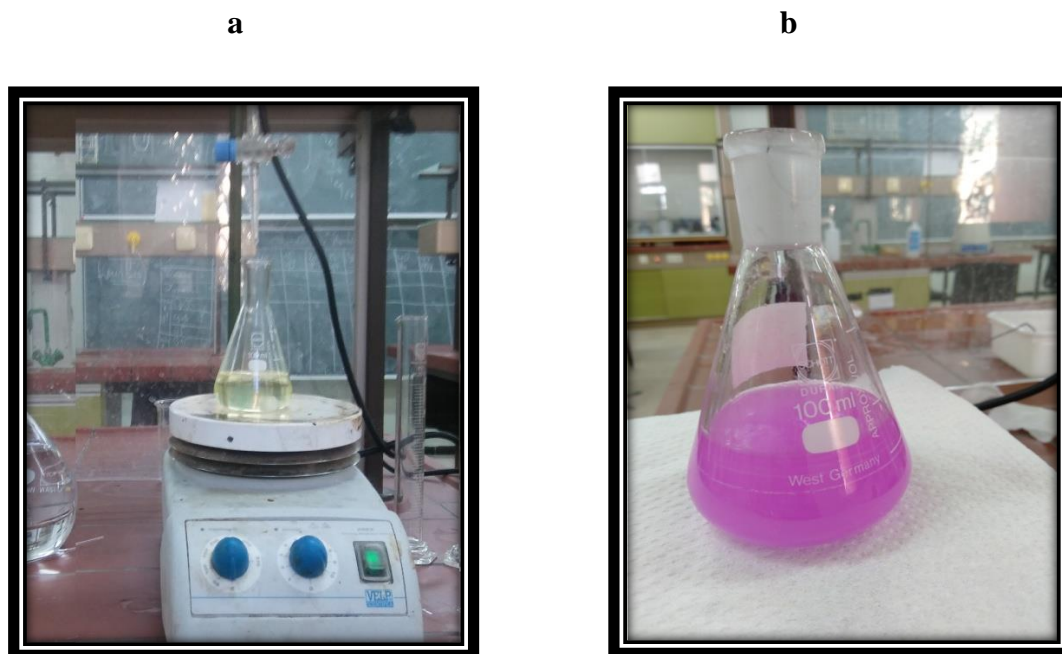


Figure.6 : Mesure de l'acidité : « a » avant et « b » après le titrage.

III.2.2. Indice de peroxyde :

L'indice de peroxyde d'un corps gras représente le nombre de microgramme d'oxygène actif présent dans 1g de matière grasse. L'oxygène actif est l'oxygène existant sous forme de peroxyde, d'hydroperoxyde ou d'époxyde dans une matière grasse. Il est déterminé conformément à la norme AFNOR NF T60-220 de décembre 1968 dont le principe est le suivant :

Une prise d'essai est mise en solution dans un mélange d'acide acétique et de chloroforme, traitée ensuite par une solution d'iodure de potassium. On titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon (indicateur coloré). En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés s'oxydent en donnant les peroxydes. Sur une molécule de peroxyde, une molécule d'oxygène est fixée. Sur les deux atomes d'oxygène fixés, un seul est actif et est capable d'oxyder les iodures.

III.2.2.1. Préparation des solutions :

III.2.2.1.1. Préparation de la solution d'empois d'amidon : on pèse environ 1 g d'amidon et on le dissout dans 100 ml d'eau tiède.

III.2.2.1.2. Préparation de la solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 0,01 N : dissoudre 2,48g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$ dans un litre d'eau distillée

Expression des résultats:

$$IP(\text{meq d'O}_2/\text{Kg}) = \frac{(V - V_0) \times 1000 \times C}{P}$$

V_0 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml ;

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai en ml ;

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium ;

P : Masse de la prise d'essai en gramme.

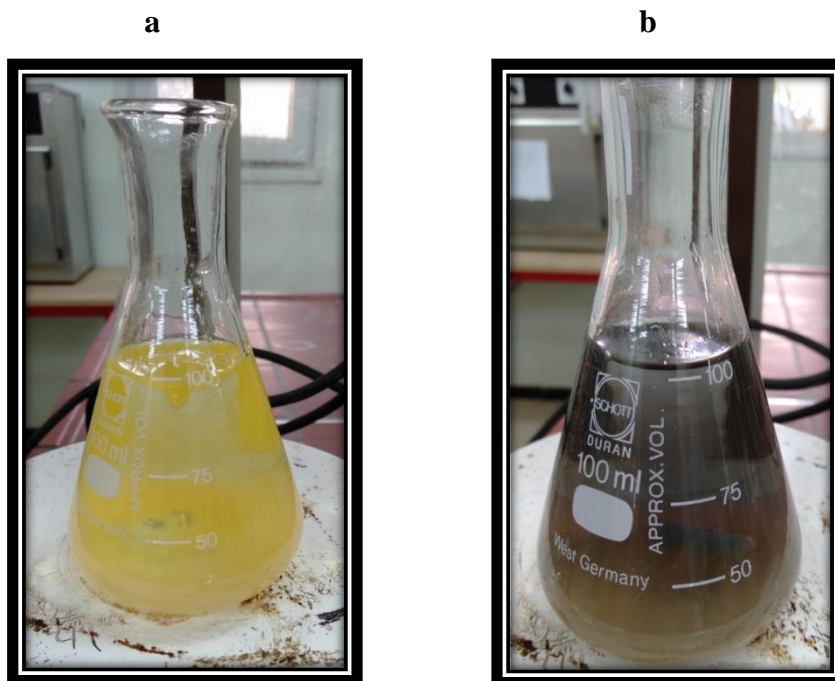


Figure.7 : Mesure de l'indice de peroxyde : « a » avant et « b » après le titrage.

III.3. Absorbance aux rayonnements ultraviolets :

On dissout la matière grasse étudiée dans le solvant requis (hexane), puis on détermine l'extinction de la solution à la longueur d'onde prescrite, par rapport au solvant pur. Les extinctions spécifiques sont déterminées à partir des lectures spectrophotométriques. La loi de Beer Lambert précise que, pour un corps donné en solution à une longueur d'onde λ , l'absorption A est proportionnelle à l'épaisseur de la couche liquide traversée (l'épaisseur " l " de la cuve) par le faisceau lumineux et à la concentration C du corps dans la solution.

$$A(\lambda) = \epsilon \cdot l \cdot C$$

Avec :

$A(\lambda)$: l'absorbance à la longueur d'onde λ .

C : la concentration, en grammes par 100 ml, de l'échantillon.

l : longueur de la cuve.

ϵ : coefficient d'extinction molaire.

On mesure les absorbances de l'échantillon d'huile d'olive aux longueurs d'onde 232 nm et 270 nm.

Le spectromètre utilisé est : **Perkin Elmer LAMDA 25** L'étude des absorptions nécessite l'utilisation d'un appareil appelé spectromètre : on travaille avec deux cuves en quartz la première porte la référence (cyclohexane) et la deuxième l'échantillon (huile dissoute dans le cyclohexane).



Figure.8. Spectrophotomètre UV /VIS

III.4.Préparation des échantillons d'huile d'olive :

Afin d'étudier l'influence des composés phénoliques à partir de l'acide gallique et le romarin, sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, deux séries d'échantillons notées A et B d'une même huile d'olive vierge ont été utilisées au cours de cette étude.

Elles comportent chacune trois échantillons de 50ml d'huile.

Ces échantillons d'huile d'olive vierge sont répartis comme suit :

- **Série A** : contenant trois échantillons de masses différentes du romarin.
- **Série B** : contenant trois échantillons de masses différentes de l'acide gallique.
- **Echantillon témoin (T1)** : huile d'olive vierge sans aucun additif exposé au soleil.
- **Echantillon témoin (T2)** : huile d'olive vierge sans aucun additif

Deuxième partie : Discussion des résultats**III.1. Caractérisation de l'huile d'olive utilisée par spectroscopie IRTF**

Les bandes observables dans la région 3000 à 2800 cm^{-1} sont attribuables aux vibrations d'élongation de la liaison C–H des groupes CH_2 et CH_3 . Une bande intense à 2930 cm^{-1} est attribuable à la vibration d'élongations symétrique du groupe CH_2 . Dans la région des basses fréquences, seule la vibration de déformation du groupe CH_2 est observable. Les bandes à 1445 et 1374 cm^{-1} sont attribuables aux vibrations de déformation de cisaillement en dehors du plan.

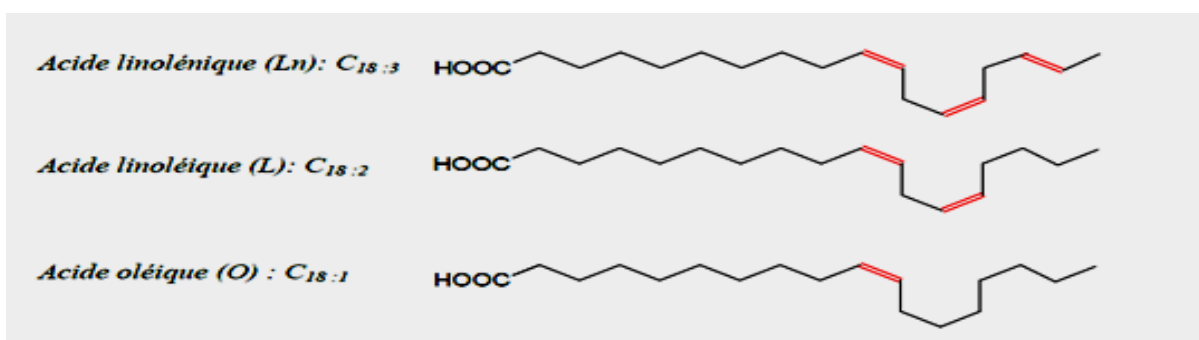
Une bande située aux alentours de 720 cm^{-1} est attribuable à la vibration d'élongation "cis" du groupe C=C–H.

La bande la plus intense du spectre est observable vers 1739 cm^{-1} . Cette bande est attribuable à la vibration d'élongation du groupe C=O, caractéristique des esters. L'intensité de ce pic est inversement proportionnelle au nombre d'atomes de carbone (longueur de la chaîne carbonée).

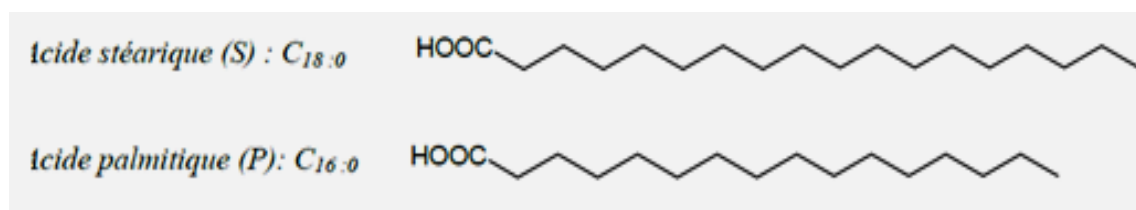
La région des basses fréquences contient souvent des bandes de faible intensité. La seule bande clairement observable se situe à 1165 cm^{-1} , cette bande est attribuable à la vibration d'élongation du groupe C–O des esters (Figure 9).

Alors, les triglycérides de l'huile de l'huile d'olive sont composés de cinq acides gras :

1 : trois insaturés



2 : deux saturés



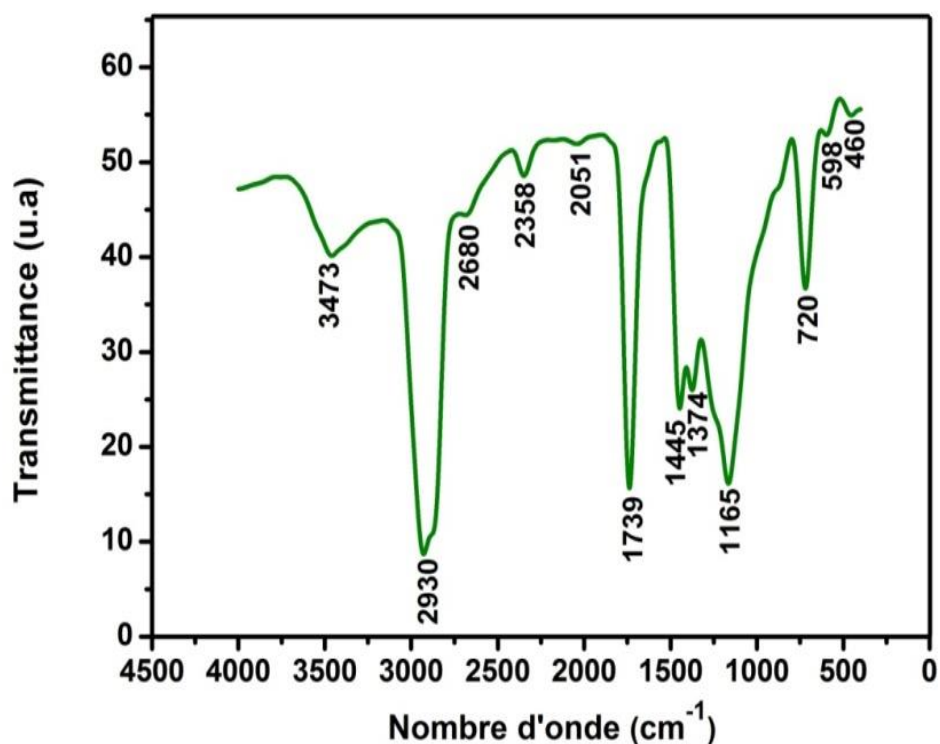


Figure. 9 : Spectre IRTF de l'huile d'olive.

III.2. Les paramètres chimiques et organoleptiques.

Une bonne huile a un faible taux d'acidité qui contribue à lui donner une plus grande stabilité face à l'oxydation par l'air. C'est d'autant plus important si l'huile a une haute teneur en acide gras insaturé. Notre huile appartient à la catégorie des huiles d'olive dénommés « vierge extra » conformément à la norme fixée par le (C.O.I) [8], qui est $\leq 0,8\%$. Les facteurs responsables d'acidité élevée sont liés au non-respect des bonnes pratiques de récolte et de fabrication d'huile d'olive.

L'indice de peroxyde est utilisé pour évaluer l'état d'oxydation de l'huile. L'altération chimique des huiles est provoquée par l'oxydation de l'air qui se traduit par la formation de peroxydes.

Cet indice pourrait être retenu pour contrôler la qualité des huiles; car il dépend des problèmes qui peuvent se produire après la récolte (modalité de transport et de conservation des fruits avant le broyage et pendant la transformation) [9].

Le phénomène d'oxydation des acides gras aboutit à des modifications dans les propriétés organoleptiques, chimiques et nutritionnelles. Ces altérations affectent la qualité marchande du produit [10].

Il faut noter que l'I.P augmente avec la maturité des olives, et surtout à la suite d'un choc thermique, consécutivement à un gel ou à un processus de fabrication défectueux. Le stockage inadapté ou prolongé, est également une des causes d'augmentation de ce paramètre.

C'est un paramètre qui détermine le degré d'insaturation des acides gras entrant dans la composition des matières grasses, il varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente ainsi qu'avec la température.

Le pH intervient sur le mécanisme d'oxydation des lipides. Les huiles qui présentent un pH inférieur à 4 sont des huiles acides. Le stockage à l'air libre modifie le pH. Ce paramètre permet l'élimination totale de l'eau et les produits volatiles.

Les résultats montrent que tous les échantillons ont une teneur en eau inférieure aux normes établies par le journal officiel et le conseil oléicole international. L'humidité, entraîne une augmentation de la croissance des levures et moisissures durant le stockage.

En ce qui concerne l'absorbance dans l'ultra-violet (A), Elle peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse, sur son état de modification due aux processus technologiques [11].

Les résultats montrent que tous les échantillons ont une valeur d'absorbance dans l'ultra violet inférieure aux normes établies par le conseil oléicole international. Donc ces huiles ne contiennent pas des produits secondaires tels que l'hydroxyperoxyde linoléique, les cétones insaturés et les dicétones. Les résultats seraient liés à plusieurs facteurs tels que la récolte tardive des olives, une exposition excessive des olives et de l'huile extraite à l'oxygène de l'air et à la lumière, aussi à un réchauffement de la pâte lors de la trituration.

A partir de ces résultats réunis dans les tableaux 1 et 2 et selon la norme de C.O.I, on classe notre huile comme étant huile extra vierge.

Les résultats obtenus nous permettent de dire encore que :

- ✚ L'huile d'olive étudiée n'est pas très acide et est apte à la consommation,
- ✚ L'indice de peroxyde est en accord avec celui cité dans les normes ; ce qui permet de la qualifier comme bonne,
- ✚ L'indice de réfraction n'est pas conforme avec C.O.I. ; elle n'est donc pas totalement pure,
- ✚ La teneur en eau est dans les normes,
- ✚ Les absorbances dans l'ultra- violet répondent aux normes,

- ✚ Les caractéristiques organoleptiques montrent que l'huile d'olive étudiée ne présente aucune anomalie.

Tableau.1 : Tableau récapitulatif des résultats de différentes caractéristiques chimiques et physiques.

Paramètres	Valeur calculée	Norme : C.O.I
Acidité (%)	0.45	< 0.8 (extra vierge)
Indice de peroxyde (IP) (meq d'O₂/ Kg d'huile)	3	< 20
Indice de réfraction	1.474	1.4669 – 1.4679
Teneur en eau (H%)	0.04	< 0.2
Ph	6.32	/
A₂₃₀	2.434	< 2.24
A₂₇₀	0.418	< 0.30

Tableau.2 : Résultats des caractéristiques organoleptiques.

Aspect	Claire avec sédiment
Couleur	Jaune
Odeur	Moyenne
Saveur	Bonne
Gout	Moyennement amère

III.3.Suivi de l'oxydation de l'huile d'olive par méthodes chimiques

III.3.1.Acidité

Le tableau 3 et la figure donnent la répartition des valeurs de l'acidité des échantillons d'huile d'olive vierge selon la masse des matériaux ajoutés en fonction de la durée de stockage.

Tableau.3. Evolution de l'acidité au cours du temps

Echantillon	Masse (g)	Durée de stockage				
		0jrs	10jrs	20jrs	30 jrs	40jrs
Témoïn 1	/	0jrs	10jrs	20jrs	30 jrs	40jrs
		0,450	0,508	0,590	0,590	0,499
Témoïn 2	/	0,450	0,466	0,480	0,477	0,466
Série A	0,05g	0,450	0,508	0,520	0,487	0,494
	0,1g	0,450	0,536	0,582	0,566	0,452
	0,5g	0,450	0,541	0,580	0,460	0,437
Série B	0,05g	0,450	0,510	0,529	0,529	0,508
	0,1g	0,450	0,563	0,770	0,588	0,499
	0,5g	0,450	0,589	0,770	0,655	0,665

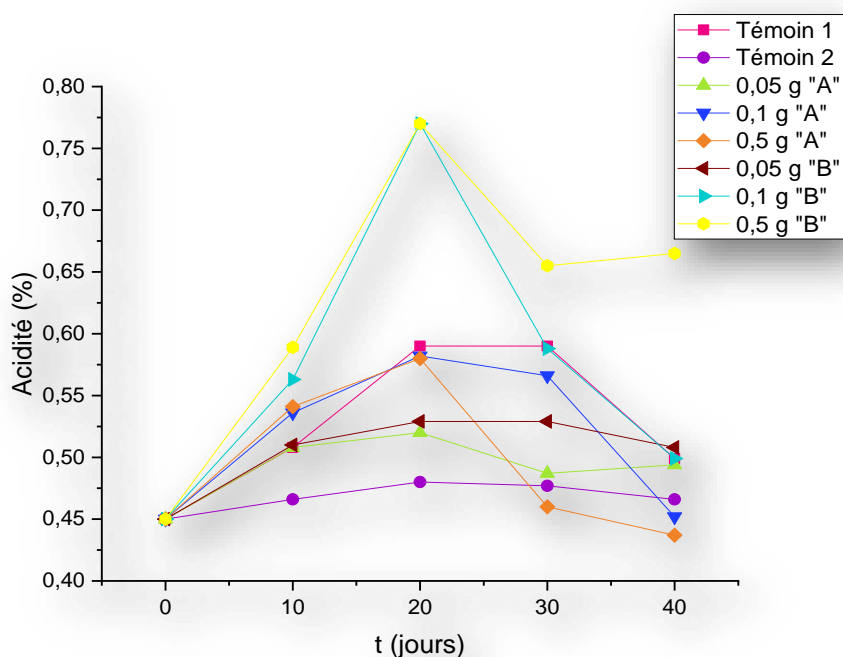


Figure.10. Evolution de l'acidité au cours du temps : **Série A : romarin, Série B : Acide gallique.**

On remarque que l'acidité initiale de notre huile qui est de 0,45% est conforme avec les limites établies par le C.O.I [12], qui se situent entre 1 et 3,3%. Si l'acidité dépasse ces limites c'est parce que c'est dû à la récolte tardive des olives et leur stockage pendant une longue durée à cause de la cadence de réception qui est inférieure à la capacité de trituration, la dégradation sera d'autant plus accentuée que le stockage sera long (plus de

48 heures) et effectué dans de mauvaises conditions. Ceci provoque des échauffements des olives et déclenche le processus de fermentation en augmentant le taux d'acidité. Les acides gras libres résultent de l'action des lipases sur les triglycérides, ou de toute autre activité hydrolytique de ces triglycérides pouvant se produire avant, pendant ou après la trituration des olives [13]. Cependant, un niveau élevé d'acidité peut être également attribué à l'état de maturité avancé du fruit, Dugo et al [14] ont montré que la récolte précoce produit des huiles dont l'acidité est inférieure à 1%.

D'après D. Boscou [15], des facteurs affectant défavorablement la qualité d'une huile d'olive peuvent être présents même aux premières étapes, par exemple, pendant la formation de l'huile dans le fruit. Des anomalies pendant le processus de la biosynthèse, des activités microbiennes et des conditions ambiantes sont toutes liées à la formation de l'huile à une acidité élevée.

D'après les résultats consignés dans le tableau 3 et reportés dans la figure 10, nous remarquons que toutes les valeurs de l'acidité des échantillons d'huile d'olive auxquels est additionné l'acide gallique semblent avoir les valeurs les plus élevées à cause de la fonction acide de l'antioxydant employé pour ces échantillons. Cette variation d'acidité (augmentation) est légère pour toutes les séries d'échantillons d'huile utilisée.

Dans tous les cas, l'acidité de l'huile étudiée ne varie pas de manière significative avec l'ajout des antioxydants. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par N.Denisse [16] qui a trouvé que l'acidité des huiles de tournesol, noix et soja auxquelles sont additionnés 80 ppm et 160 ppm d'extrait phénolique des margines demeure constante pendant une durée de stockage de 22 jours à 60°C. Cette tendance a été remarquée par S.Fodil [17] lors de l'étude de l'effet du β carotène et de la vitamine E sur la stabilité oxydative de trois types d'huiles d'olives vierge.

III.3.2.Indice de peroxyde

Le tableau 4 et la figure 11 donnent la répartition des valeurs de l'indice de peroxyde des échantillons d'huile d'olive vierge selon la masse des matériaux ajoutés en fonction de la durée de stockage.

Tableau.4. Evolution de l'indice de peroxyde au cours du temps.

Echantillon	Masse (g)	Durée de stockage				
		0jrs	10jrs	20jrs	30 jrs	40jrs
Témoin 1	/	0jrs	10jrs	20jrs	30 jrs	40jrs
		3	14	29	44	57
Témoin 2	/	3	5	8	8.5	10
Série A (Romarin)	0,05g	3	4	9	9	8.5
	0,1g	3	4.5	8	8	8.5
	0,5g	3	4.5	6.5	7	7
Série B (Acide gallique)	0,05g	3	3	5	9	7
	0,1g	3	3	7	10	12
	0,5g	3	3	5.5	6.5	13

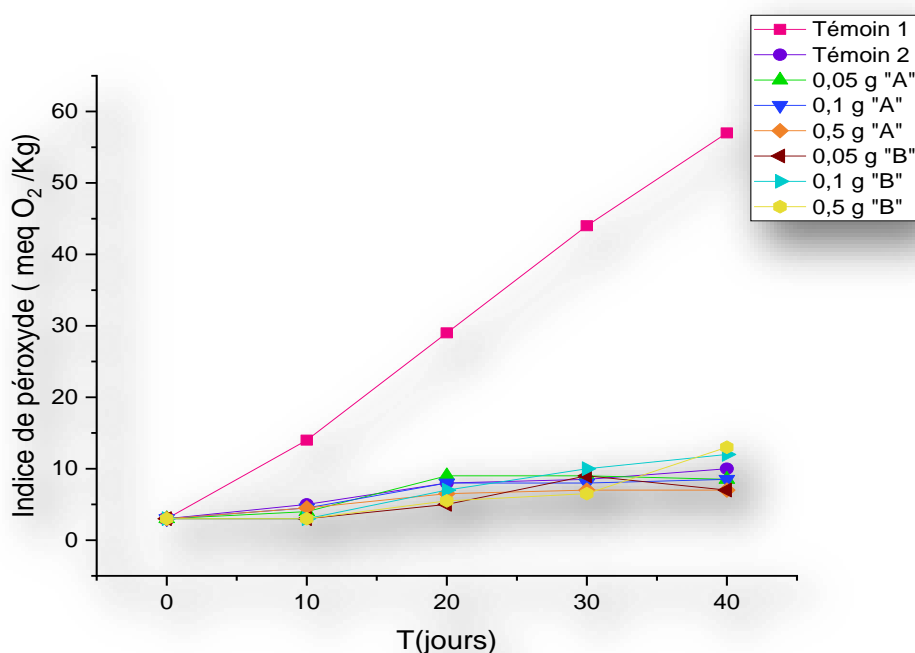


Figure.11. Evolution de l'indice de peroxyde au cours du temps : **Série A : romarin, Série B= acide gallique.**

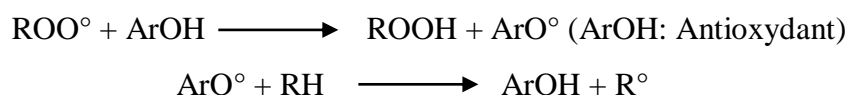
L'oxydation de l'huile d'olive commence après que les olives soient cueillies de l'arbre, et continue pendant le stockage des fruits et leur traitement. Les premiers produits formés par l'attaque de l'oxygène, activée sur les doubles liaisons des chaînes d'acides gras, sont des

composés peroxydés instables, et des hydroperoxydes dont la structure va dépendre de la nature des acides gras attaqués (acides mono-, di-, tri- ou polyinsaturés).

La détermination de l'indice de peroxyde est la méthode la plus appropriée pour la mesure de ces composés peroxydés.

L'analyse des résultats du tableau 4 représentés sur la figure 11 montre une évolution de l'indice de peroxyde de toutes les séries d'échantillons ainsi que celui des deux témoins en fonction de la durée de stockage.

La valeur initiale de l'indice de peroxyde de l'échantillon d'huile témoin est de 3meq/kg. Après 40 jours de stockage, celle-ci atteint une valeur de 57meq/kg. Les autres échantillons d'huile auxquels sont additionnés les antioxydants utilisés lors de ce travail ainsi que celui du témoin à l'abri de la lumière semblent mieux protégés que le témoin exposé au soleil contre l'oxydation. Les valeurs des indices de peroxyde obtenus après une durée de stockage de 40 jours oscillent entre 3 meq/kg et 9 meq/kg respectivement pour les échantillons auxquels est additionné le romarin. Elles correspondent à des valeurs optimales pour la protection de l'huile d'olive de l'oxydation. Les résultats obtenus avec les composés phénoliques du romarin sont conformes aux résultats obtenus par L. Machlin[18] ainsi que ceux de M. Baldioli et al [19] qui ont trouvé que la stabilité des huiles est bien corrélée avec la teneur en phénols totaux et à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels, dont les plus importants sont les tocophérols. Tandis que les résultats trouvés avec l'incorporation de l'acide gallique sont optimum avec l'échantillon (0.5 g), cela est en accord avec les résultats de F. Pirisi et al [20] qui ont montré que la stabilité à l'oxydation, évaluée par le test de Swift avec le Rancimat, ne serait pas corrélée avec la teneur en composés phénoliques. De même pour Cillard et al [21] qui trouvent que les concentrations croissantes en antioxygène ajouté dans le milieu pourraient être responsables d'un effet prooxydant, comme cela a été démontré pour l' α -tocophérol. En effet, si la concentration de la forme radicalaire de l'antioxydant produite par oxydation augmente beaucoup, celle-ci peut se comporter en initiateur de la peroxydation lipidique selon la réaction proposée par H. Chimi et al [22]:



A partir du vingtième jour de stockage, l'indice de peroxyde des échantillons d'huile d'olive augmente en fonction du temps. Cette augmentation est beaucoup plus importante que celle obtenue au cours de notre étude.

Au-delà de cette période, ces composés phénoliques semblent exercer une meilleure activité antioxydante. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par I. Ben Tekaya et M. Hassouna [23] qui ont trouvé un effet prooxydant des chlorophylles à la lumière mais antioxydant à l'obscurité, en présence d'autres composés tel que le β carotène.

Cette meilleure activité antioxydante peut être aussi due à la composition de la graine d'olive riche en l'oleuropéine, ce dernier est aussi le composé phénolique principal et majoritaire des feuilles d'olivier [24], ainsi que sa structure chimique présentant deux fonctions phénols en position ortho. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par H. Chimi et al [25] qui ont démontré que si l'antioxydant utilisé est un phénol stériquement encombré ou un para ou ortho- diphénol, le radical ArO° issu de l'antioxydant ne participe pas à la propagation de la réaction en chaîne, ces radicaux se recombinaient alors très rapidement entre eux pour donner des quinones et l'ortho- diphénol de départ (produits non radicalaires).

Nous remarquons que les échantillons d'huile d'olive auxquels est incorporé l'antioxydant de synthèse (acide gallique) et le romarin sont les moins peroxydés, avec une valeur de l'indice de peroxyde à la fin de la durée de conservation (40 jours) égale à 7 meq/kg et respectivement pour les masses 0,05g de l'acide gallique et 0,05 g pour le romarin. Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet synergique et par la structure de l'acide gallique qui a trois fonctions phénols pouvant par ailleurs céder trois hydrogènes aux radicaux peroxydes (RO°) et aux radicaux hydroperoxydes (ROO°). Par conséquent, il est susceptible de stabiliser trois fonctions radicalaires.

En conclusion, nous pouvons dire que l'indice de peroxyde représente un des paramètres de qualité de l'huile d'olive, mais ne peut être un indicateur de la stabilité oxydative de l'huile.

Ces résultats concordent avec ceux de Kiritsakis et al [26] qui ont étudié trois échantillons de différentes huiles d'olive et qui ont trouvé que l'huile qui présentait une valeur initiale de peroxydes la plus basse était moins stable que les autres.

III.4. Suivi l'oxydation de l'huile d'olive par méthode physique

III.4.1. Absorbance au rayonnement UV

Tous les corps gras contiennent des époxydes et des hydroperoxydes en quantités plus ou moins importantes.

Les réactions d'isomérisation aboutissent à la formation des diènes et des triènes conjugués qui absorbent la lumière entre 225 et 280nm [27]. En effet, les diènes conjugués

et les produits primaires d'oxydation des acides gras se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical alkyl des acides gras polyinsaturés lorsqu'ils ont une structure diénique conjuguée absorbent la lumière au voisinage de 232 nm. Les triènes conjugués (dans le cas de présence des acides gras à trois doubles liaisons conjuguées) et les produits secondaires d'oxydation, tels les aldéhydes et cétones α -insaturées, absorbent la lumière vers 270 nm. La détermination des absorbances au voisinage de ces deux valeurs permet de détecter et d'évaluer les quantités des produits d'oxydation : plus l'extinction à 232 nm est forte plus elle est peroxydée. De même, plus l'extinction à 270 nm est forte plus elle est riche en produits d'oxydation secondaires [28].

Le tableau 5 et la figure 12 donnent la répartition des valeurs des absorbances à 232 nm des échantillons d'huile d'olive vierge selon la masse des matériaux ajoutés en fonction de durée de stockage.

Tableau.5. Evolution des absorbances à 232 nm.

Echantillon	Masse (g)	Durée de stockage				
		0jrs	10jrs	20jrs	30 jrs	40jrs
Témoin 1	/					
		2,602	3,203	3,302	3.355	3,342
Témoin 2	/					
		2,602	3.167	3.245	3.255	3.204
Série A	0,05g	2,602	3,114	3,213	3.174	3,156
	0,1g	2,602	3,091	2,988	2.988	3,116
	0,5g	2,602	3,045	2,271	2.271	3,105
Série B	0,05g	2,602	2,928	2,746	2.777	2,837
	0,1g	2,602	2,815	3,053	2.985	2,970
	0,5g	2,602	3,000	2,783	2.800	2,840

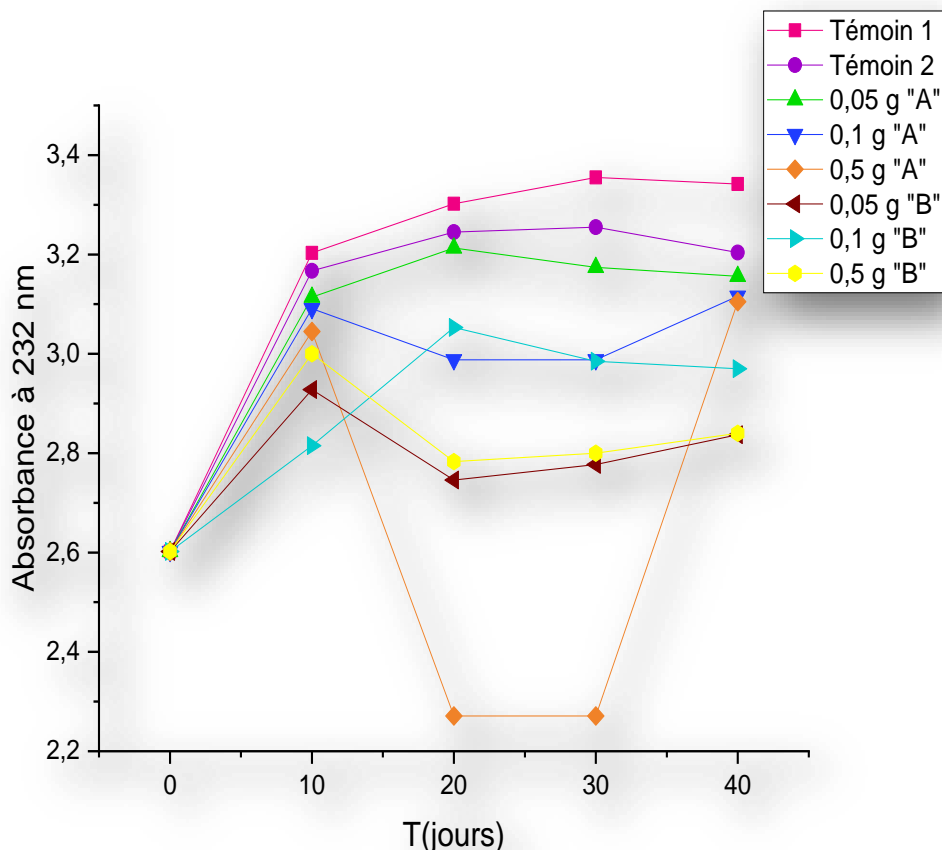


Figure .12. Evolution des absorbances à 232nm au cours du temps: **Série A : romarin,**
Série B= acide gallique.

D'après le tableau 6 et la figure 13, les absorbances à 232 nm ont tendance à augmenter. Les valeurs les plus petites sont observées dans la série de l'huile d'olive contenant l'acide gallique. Par ailleurs, toutes les valeurs des échantillons de la série de l'huile d'olive contenant le romarin sont plus petites que celles du témoin 2 qui présentent une légère augmentation durant toute la période de stockage. Ils sont donc à la première étape de propagation qui correspond à la formation des peroxydes mais pas des hydroperoxydes. L'oxydation des lipides croît avec la concentration en composés résultant de la dégradation des hydroperoxydes, cela est confirmé par une augmentation des valeurs de l'absorbance à 270 nm. L'extinction à 270 nm permet de déterminer la prolifération de l'oxydation, les produits secondaires d'oxydation et en particulier les α -dicétones. Cette évolution de l'absorbance pour les échantillons de l'huile d'olive est donnée par le tableau 6 et présentée par la figure 13.

Tableau. 6. Evolution des absorbances à 270 nm.

Echantillon	Masse (g)	Durée de stockage				
		00jrs	10jrs	20jrs	30 jrs	40jrs
Témoin 1	/	00jrs	10jrs	20jrs	30 jrs	40jrs
		2.434	3.078	3.285	3.574	3.775
Témoin 2	/	2.434	2.544	3.065	2.466	2.705
Série A	0,05g	2.434	2.621	2.645	2.574	2.836
	0,1g	2.434	2.765	2.541	2.855	3.051
	0,5g	2.434	2.566	2.690	2.502	2.745
Série B	0,05g	2.434	2.469	2.496	2.625	3.124
	0,1g	2.434	2.434	2.458	2.689	2.540
	0,5g	2.434	2.434	2.444	2.400	2.745

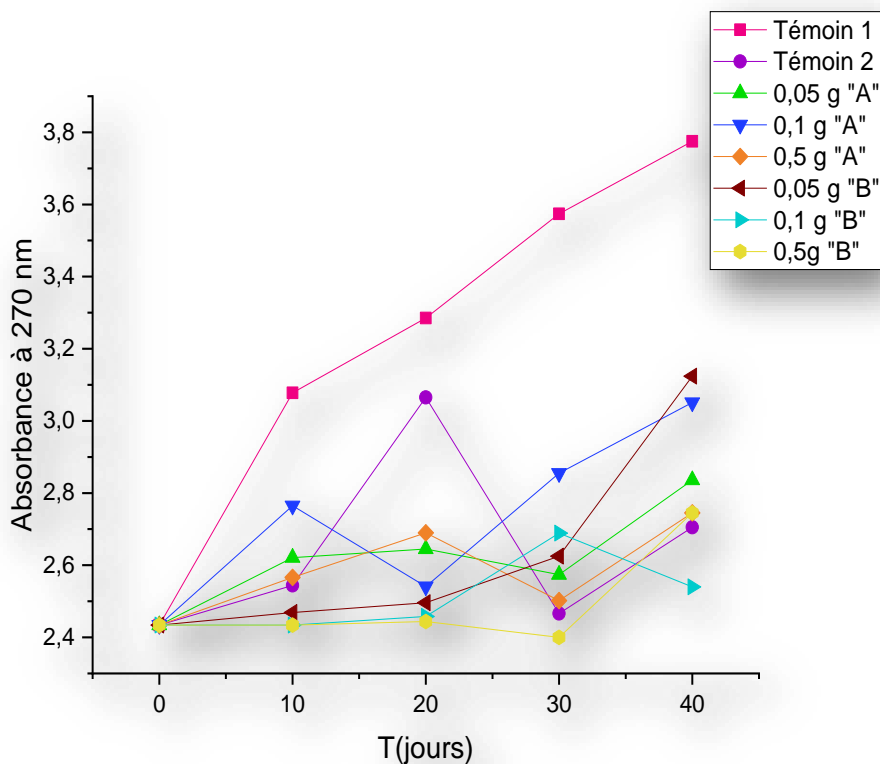


Figure .13. Evolution des absorbances à 270 nm au cours du temps : Série A Série A : romarin, Série B= acide gallique.

On remarque une légère augmentation pour tous les échantillons après 40 jours, cela pourrait signifier que la propagation de l'oxydation de l'huile d'olive n'a pas atteint son stade final (décomposition des hydroperoxydes). Cette résistance à l'oxydation peut être due aux conditions de stockage (obscurité) car le mécanisme de la photo-oxydation est beaucoup plus rapide que celui de l'auto-oxydation. On a trouvé qu'après deux mois de stockage, les composés d'oxydation secondaire sont majoritaires dans les huiles stockées sous lumière diffuse, tandis que dans les huiles stockées dans l'obscurité, ce sont les composés d'oxydation primaire qui prédominent [29].

Les résultats trouvés pour cette analyse coïncident avec les valeurs de l'indice de peroxyde qui ont tendance à augmenter légèrement durant toute la période de conservation, cela pourrait signifier que la propagation de l'oxydation de l'huile d'olive n'a pas atteint son stade final (décomposition des hydroperoxydes). Cette résistance à l'oxydation peut être due aux conditions de stockage (obscurité) car le mécanisme de la photo-oxydation est beaucoup plus rapide que celui de l'auto-oxydation. Caponio et al [30] ont trouvé qu'après deux mois de stockage, les composés d'oxydation secondaire sont majoritaires dans les huiles stockées sous lumière diffuse, comme en témoigne le A_{270} , tandis que dans les huiles d'olive stockées à l'obscurité, ce sont les composés d'oxydation primaire qui prédominent, comme en témoigne le K_{232} .

Références bibliographiques :

- [1] Escuder O. « Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, 2007, 255p. »
- [2] Staub H., Bayer L. « Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues ». Paris : Grancher, 2013, 685p. (Collection: Le Corps et l'esprit (Paris. 1997)
- [3] Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé (de Qm). Pharmacopée Européenne 8.0. Tome I. 8^e édition. Strasbourg : Conseil de l'Europe, 1568 p (2013).
- [4] Laurent D., Pauillac S., Chinain M. *et al.* Utilisation de l'acide rosmarinique et de ses dérivés pour traiter le ciguatéra [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.google.com/patents/EP2459188A1?cl=fr>> (2016).
- [5] Santé Canada [en ligne]. Disponible sur : <<http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhpiddipsn/ingredReq.do?id=1710&lang=fra>> (2016).
- [6] Gow-ChinYen, Pin-Der Duh, Hui-LingTsai, « Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid », Food Chemistry, vol. 79, p. 307-313,(2002).
- [7] Khan NS, Ahmad A, Hadi SM., « Anti-oxidant, pro-oxidant properties of tannic acid and its binding to DNA. », Chemico-Biological Interactions, vol. 125, p. 177-189 ,(2000).
- [8] Conseil Oleicole International. L'olivier- l'huile-l'olive, Edition et diffusion dépôt légal : M, (2003).
- [9] Bruni U., Cortesi N.R., Fiorino P. Influence des techniques agronomiques, des cultivars et des zones d'origine sur les caractères de l'huile d'olive vierge et les niveaux de certains de ses composants mineurs. Olivæ. 53, 28 – 34, (1994).
- [10] Judde. A. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanisme, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelle application ? OCL- Vol. 11, n° 6, p : 414-418., (2004).
- [11] CCE, 1991. Règlement (CE) n°2568/91 de la commission du 11 juillet 1991 relatif aux caractéristiques des huiles d'olives et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes. (J.O.L. 248 du 5/9/1991, 1).
- [12] COI (2003),
- [13] Chimi H., Qualité des huiles d'olive au Maroc, programme national de transfert devirgin olive oil. Prediction of storage time beyondwhich the oilis no longer of

- “extra”quality. technologie en agriculture–bulletin mensuel d’information et de liaison du PNTTA.Vol.79, p: 1-4. 2010.
- [14] Dugo G; Turco V L ; Pomilicino D; Mavrogeni E et Pipitone F ; Caractérisation d’huiles d’olive vierges sicillienne ; *Olivae* ; N°101 :44-52. (2004).
- [15] Boscou D; Olive Oil Composition. In *Olive Oil: Chemistry and Technology*. AOACS Press, USA, 52-83, 85-127. (1996).
- [16] Denisse.N., Valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu’antioxydants naturels dans les huiles végétales. Mémoire de diplôme d’études approfondies (DEA). Option contrôle et qualité. Agence universitaire de la Francophonie.
- [17] Fodil.S., Etude de l’effet synergique du bêta carotène et de la vitamine E sur la stabilitéoxydative de trois types d’huile d’olive issues de trois régions différentes ; Côtère, plaine etmontagneuse. Mémoire d’ingénieur. Option contrôle qualité et analyses. Université Mouloud Mammeri de tiziouzou.
- [18] Machlin.L. Vitamin E., *A Comprehensive Treatise*, Marcel Decker Inc., NewYork. (1980).
- [19] Baldioli M; Servili I. M; Perreti G; Montedoro G.F; Antioxydant activity of tocopherols and phenoliccompounds of virgin olive oil. *JAOCS* 73, 1589-1593. (1996).
- [20] Pirisi F; Angioni A; Cabras P; Garau V; Sanjust di Teulada M.T; Karim dos Santos M., Bandino G., Phenoliccompounds in virgin olive oils I. low-wavelength quantitative determination of complexphenols by high-performance liquid chromatography under isocratic elution. *J. Chromatogr.* 768, 207-213. (1997).
- [21] Cillard, J; Cillard, P. Pro-oxidant effect of alpha-tocopherol on essential fattyacids in aqueousmedia. *Annales de la Nutrition et de l’Alimentation*, (1980).
- [22] Chimi. H., A.Sadik, B Le Tutour, M Rahmani. Contribution à L’étude comparative des pouvoirs antioxydants dans l’huile d’olive du tyrosol, de l’hydroxytyrosol, de l’acide caféique, de l’oleuropéine et du BHT ; *Revue française des corps gras* ; N° 8/9 ; 339-343. (1988)
- [23] Ben Tekaya.I ; Hassouna.M ; Effets des chlorophylles, du beta carotène, de l’alpha tocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l’huile d’olive tunisienne ; *OCL Vol 14 N°1 Janvier- Février* (2007).

- [24] Baldioli.M., Servili.M., Perretti.G., Montedoro.G. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil, *J. Am. Oil Chem. Soc*; 73, 1589-1593. (1996).
- [25] Kiritsakis. A; C.M.Stine and L.R. Dugan. Effect of selected antioxidants on the stability of virgin olive oil; *J. Am. Oil Chem. Soc*; 50; 1289-1290. (1983).
- [26] N.Denisse, Valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales .Mémoire de diplôme d'études approfondies (DEA).option contrôle de qualité. Agence universitaire de la francophonie (2004).
- [27] S.Fodil, Etude de l'effet synergique de beta carotène et la vitamine E sur la stabilité oxydative de trois types d'huile d'olives issues de trois régions différentes ; côtière, plaine et montagneuse. Mémoire d'ingénieur .option contrôle de qualité et analyse. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (2015).
- [28] A.Hartzallah, Kiritsakis.A.Effet antioxydant des extraits phénoliques des feuilles et de fruits de l'olivier. (1999).
- [29] Caponio et al. Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage; *European Food Research and Technology*. 221(1-2), 92-98., (2005).

Conclusion générale.

L'huile d'olive est la principale source d'apport de matière grasse dans les régimes alimentaires méditerranéens. Ce type de régimes a souvent été associé à une meilleure résistance à certaines maladies, notamment les maladies cardio-vasculaires et les maladies dégénératives. De nombreuses études scientifiques se sont donc intéressées au contenu nutritionnel de l'huile d'olive afin de comprendre les mécanismes d'action pouvant expliquer ces phénomènes. La première explication est sa composition spécifique en acides gras. La proportion d'acides gras saturés est très faible (14%) alors que l'acide gras très majoritaire est l'acide oléique qui est un acide gras mono-insaturé. La mono-insaturation de l'acide oléique confère à l'huile une certaine stabilité car il est peu sensible à l'oxydation. Les acides gras polyinsaturés essentiels sont également présents en proportions intéressantes dans l'huile et leurs bienfaits, notamment au niveau de la protection en vis-à-vis des maladies cardiovasculaires et des cancers, ont largement été étudiés au cours de ces dernières décennies.

Par contre ces molécules sont très sensibles à l'oxydation ce qui pourrait provoquer un rancissement prématuré des huiles. Pour protéger ses principales molécules de l'oxydation, l'olive a développé des moyens de défense : les composés phénoliques. Ces composés sont partiellement retrouvés dans l'huile (même si la majorité des composés phénoliques est très hydrosoluble et est donc éliminée dans les margines) ce qui permet de prolonger sa durée de vie. Ils permettent de protéger l'huile de l'oxydation, c'est surtout sur leur rôle in vivo que les scientifiques ont travaillé. En effet les radicaux générés par le stress oxydant ont souvent été désignés comme pouvant être à l'origine des principales causes de mortalité dans les pays développés : les maladies cardiovasculaires et le cancer. Leur stabilisation semble donc être un enjeu majeur et c'est ce qui explique l'engouement de plus en plus important pour les antioxydants. L'incorporation des plantes telles que le romarin dans l'huile d'olive extra vierge a prouvé leur aptitude d'arrêter l'oxydation de cette huile tout en gardant son acidité telle qu'elle est avec le freinage de formation des composés secondaires tels les hydroperoxydes. Cette étude a été faite en comparant l'effet antioxydant de la plante en question en faisant la comparaison avec l'effet d'un antioxydant synthétique très connu qui est l'acide gallique.

Au terme de cette étude on peut recommander l'emploi des antioxydants naturels qui ont montré leur efficacité comme étant des retardateurs de l'altération de l'huile d'olive pour

substituer les antioxydants synthétiques qui présentent souvent des toxicités. En effet, cette méthode peut être conseillée pour les oléiculteurs car elle garantit le ralentissement des réactions radicalaires en chaîne de propagation qui se produisent dans l'huile au cours de stockage.

Résumé

Dans notre travail on a fait appel à deux antioxydants dont l'un est une plante ,à savoir le romarin et l'autre est un composé synthétique qui est l'acide gallique connu dans la littérature par son effet antioxydant très élevé .Des quantités en masse sont additionnées dans l'huile d'olive extra vierge sont mises sous des conditions de stockage dans l'obscurité pendant 40 jrs . Les résultats obtenus en ce qui concerne l'acidité, l'indice de peroxyde et l'extinction spécifique ont montré l'effet très efficace des matériaux incorporés en question de stopper la détérioration de l'huile d'olive extra vierge en matière de formation des composés secondaires d'oxydation.

Mots clés : huile d'olive, ail, romarin, antioxydants.

Summary

In our work, two antioxidants, one of which are plants, name lyrosemary, and the other is a synthetic compound which is the gallic acid known from the literature for its very high antioxidant effect. Mass quantityes added to the extra virgin oil were placed under storage conditions in the dark for 40 days. The results obtained with respect to acidity, peroxyde index and specific extinction showed the very effective effect of the materials Incorporated in question to stop the deterioration of extra virgin olive oil in the formation of secondary oxidation compounds.

Keywords: olive oil, garlic, rosemary, antioxidants.