

Available online at <http://ajol.info/index.php/ijbcs>

Int. J. Biol. Chem. Sci. 8(4): 1865-1870, August 2014

ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print)

**International Journal
of Biological and
Chemical Sciences**

Short Communication

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle

Abdelaziz MEROUANE ^{1*}, Abdallah NOUI ¹, Housseyn MEDJAHED ²,
Kamel NEDJARI BENHADJ ALI ¹ et Abdelkader SAADI ³

¹Institut des Sciences Agronomiques (ISA), Université de Chlef, Ouled Farès 02010, Algérie.

²Institut National des Sciences Agronomiques (ENSA), El-Harrach, Alger 16000, Algérie.

³Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Chlef, Ouled Farès 02010, Algérie.

*Auteur correspondant, E-mail : merouanaziz@yahoo.com

RESUME

L'objectif de cette étude est de déterminer la teneur en composés phénoliques totaux de l'huile d'olive de la variété *Chemlal* obtenue par extraction artisanale et d'en tester leur pouvoir antioxydant. La teneur phénolique a été déterminée par la méthode universelle Folin-Ciocalteu, alors que l'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes complémentaires: le test du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl et le test du β -carotène/acide linoléique. Cette huile d'olive a montré une teneur en composés phénoliques totaux de $167,29 \pm 2,71$ mg EAG/kg et une valeur d'IC₅₀ égale à $25, 38 \pm 0,64$ mg/kg par le test DPPH et une activité antioxydante relative par le test β -carotène/acide linoléique de l'ordre de $67,40 \pm 1,02\%$. Le contrôle positif hydroxy toluène butyle (BHT) a dévoilé respectivement $23,86 \pm 0,14$ mg/kg et $95,88 \pm 0,85\%$. Ces résultats révèlent une possible utilisation de cette huile dans la lutte contre les maladies liées au stress oxydant.

© 2014 International Formulae Group. All rights reserved.

Mot clés : *Oleauropea*, β -carotène/acide linoléique, DPPH, variété *Chemlal*, régime méditerranéen.

INTRODUCTION

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Benmlih et Ganam, 2012). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants. Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique (Bubonja-Sonje et al., 2011).

Les composés phénoliques d'origine végétale prennent de plus en plus un grand

intérêt vu leurs effets fonctionnels et alimentaires bénéfiques. Outre le prolongement de conservation des denrées alimentaires, ces composés éteignent les effets des radicaux libres et protégeant ainsi le corps humain contre leurs dommages (Cicerale et al., 2009).

Les huiles végétales représentent un produit très varié de corps gras, qui se caractérisent par leur intérêt nutritionnel, leurs usages et leurs critères biologiques tels que la composition en acides gras et en antioxydants, particulièrement en composés phénoliques qui présentent une source d'antioxydants puissants (Pellegrini et al., 2001), en plussa participation dans la détermination des caractéristiques organoleptiques (Marsilio et

© 2014 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i4.45>

al., 2001). Habituellement, l'activité antioxydante est évaluée par la capacité des antioxydants à retarder au maximum l'oxydation. Dans le cas de l'huile d'olive, une multitude de méthodes est employée tel que : l'indice de peroxyde, les substances réactives d'acide thio-barbiturique (TBARS), la teneur en acides gras libres, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), 2,2 0 -azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique acide) (ABTS) (Antolovich et al., 2004; Carrasco-Pancorbo et al., 2005 ; Frankel, 2010). L'olivier, *Olea europea* L., fait partie de la famille des oléacées. L'objectif principal de sa culture a été toujours les olives donnant l'huile d'olive bien qu'il a pris aujourd'hui le statut d'arbre d'ornement (Wagner, 1999). Les composés mineurs représentent environ 2% du poids total de l'huile d'olive (Servilism et al., 2002). Cette fraction renferme leurs principaux antioxydants: les carotènes et les composés phénoliques (Boskou, 1996), que représentent la classe la plus étudiée (Montserrat Fitó et al., 2007).

En matière de production d'huile d'olive, l'Algérie est classée au 8^{ème} rang avec 1,7% de la production mondiale (Semenuik, 2013). La structure variétale montre la prédominance de la variété *Chemlal* qui occupe 30% des superficies totales et 44% des terres destinées à l'huile d'olive (Hadjou et al., 2013).

L'objectif de cette étude est l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des composés phénoliques totaux de l'huile d'olive extraite traditionnellement de la variété *Chemlal*.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Sur un champ d'olivier de la variété *Chemlal* à Beni-Haoua au nord-ouest Algérien, trois plantes récoltées au hasard servent à la cueillette des olives.

Extraction des huiles

Les olives ont été lavées et bouillies, ensuite pétries et mixées dans un récipient à une température ambiante. L'huile a été obtenue par suintement, une quantité de 400 g a été conservée dans un flacon sombre à 4 °C jusqu'au moment d'analyse.

Extraction des composés phénoliques

Pour extraire les composés phénoliques, nous avons adopté le protocole de Pirisi et al. (2000). Brièvement, 02 g d'huile d'olive ont été introduits dans un tube, additionnés de 1 ml *n*-hexane et 02 ml de méthanol 60%. Après homogénéisation, la mixture a été centrifugée pendant 05 min à 3000 tpm. Le surnageant (méthanol) contenant les polyphénols a été récupéré. Cette procédure a été répétée deux fois afin d'épuiser l'huile. Les surnageants, ont été réunis avant d'être concentrés à sec sous vide à 40 °C, puis récupérés dans 1 ml de méthanol 50%.

Teneur en composés phénoliques

Les composés phénoliques totaux ont été déterminés selon la méthode préconisée par Vasquez Roncero et al. (1973) qui utilise le réactif Folin-Ciocalteu et l'acide gallique comme standard. En bref, 500 µl de réactif Folin-Ciocalteu et 450 µl d'eau distillée ont été ajoutés à un tube contenant 50 µl d'extrait avec agitation vigoureuse. Après 3 minutes, 400 µl de Na₂CO₃ (75 g.L⁻¹) ont été additionnés. Les tubes ont été incubés à 25 °C et à l'obscurité pendant 40 minutes. L'absorbance est lue à 725 nm contre un blanc qui contient le méthanol au lieu de l'extrait. La teneur en composés phénoliques de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par kg d'huile d'olive (mg EAG/kg d'huile).

Essai antiradicalaire DPPH

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (Brand-Williams et al., 1995). Le test de DPPH a été réalisé suivant la méthode décrite par Bektas et al. (2005). Une série de concentration d'extrait est préparée dans le méthanol, 50 µl de chacune sont ajoutés à 05 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%). Après une période d'incubation de 30 min à 25 °C, l'absorbance a été lue à 517nm. L'inhibition du radical libre

de DPPH en pourcentage (I %) a été calculée de la manière suivante:

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

Une courbe des concentrations de l'extrait en fonction de I % a été tracée afin d'obtenir l'index IC₅₀. Ce paramètre est défini comme la concentration en composés phénoliques (mg/kg d'huile) requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50%. Le BHT (hydroxytoluènebutylé) dissous dans le méthanol a été utilisé comme contrôle positif.

Test de blanchissement de β-carotène

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de blanchissement du β-carotène repose sur la mesure d'inhibition des composés organiques volatils et des hydroperoxydes conjugués diène résultant de l'oxydation d'acide linoléique (Dapkevicius et al., 1998).

Le test du β-carotène/acide linoléique a été réalisé suivant la méthode décrite par Kelen et Bektas (2008) avec modifications (Tween 80 au lieu de Tween 40). Deux milligrammes de β-carotène ont été dissous dans 1 ml de chloroforme, la solution obtenue a été introduite dans un ballon contenant 2 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 80. Après évaporation du chloroforme sous vide (40 °C), 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène (30 ml/min pendant 30 min) ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution, 2.5 ml ont été transférés dans un tube contenant 350 µl de l'extrait à une concentration de (0,5 mg/ml). Ce système d'émulsion a été incubé pendant 48 heures à l'obscurité, avec répétition du même procédé pour l'antioxydant synthétique l'hydroxytoluènebutylé (BHT) à 0,5 mg/ml et le tube blanc. L'absorbance a été mesurée à 490 nm et l'activité antioxydante relative (AAR) a été calculée selon la formule suivante:

$$AAR (\%) = (A_{\text{échantillon}} / A_{\text{BHT}}) \times 100.$$

Etude statistique

Les résultats obtenus représentent la moyenne de trois essais réalisés en parallèle ± l'écart-type, ceux de l'activité antioxydante

sont soumis à une analyse de variance (ANOVA); la valeur avec p<0,05 est considérée significative. Les données ont été traitées par le logiciel (free software) PAST version 2.15.

RESULTATS ET DISCUSSION

Teneur en composés phénoliques

Les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation et la valeur nutritionnelle des huiles (Brenes, 2002). Ils peuvent agir comme antioxydants en aidant le corps à renforcer son système de défense contre les anomalies liées au stress oxydatif telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et le processus inflammatoire (Rojas et al., 2005).

La présence des composés phénoliques dans l'huile d'olive a été mise en évidence pour la première fois par Cantarelli (1961). La méthode de dosage que nous avons utilisée est celle de Folin-Ciocalteu, universellement employée par les laboratoires de recherche. Ladite méthode est très satisfaisante sur le plan faisabilité et reproductibilité (Huang et al., 2005). Les résultats sont présentés dans le Tableau 1. Nos résultats révèlent que la teneur en composés phénoliques totaux dans l'huile d'olive, obtenue par voie traditionnelle, de la variété *Chemlal*, est de 167,29 ± 2,71 mg EAG/kg d'huile, cette valeur est légèrement supérieure à celle annoncée par Nakbi et al. (2010) pour la variété tunisienne nommée *Chemlali*, très voisine de *Chemlal* Algérienne (Trabut, 1900), qui est de l'ordre de 158.00 ± 2.82 mg EAG/kg.

En effet, plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques dans l'huile d'olive tels que la maturation d'olive, la variation saisonnière, le facteur environnemental, la diversité intravariétale de l'olivier et la méthode d'extraction (Ranalli et al., 1999). D'une manière générale, la variété *chemlal* possède une richesse modérée en polyphénols comparativement aux autres variétés d'olivier à l'instar de *Chétoui* Tunisienne renfermant 395.00 ± 8.48 mg EAG/kg d'huile (Nakbi et al., 2010) et

Saurani Turque contenant 320 mg EAG/kg d'huile.

Les effets bénéfiques de l'huile d'olive sur la santé dépendent largement à sa teneur en composés phénoliques (Gimeno et al., 2002). Ces métabolites secondaires ont la capacité de piéger les radicaux libres, d'interrompre la réaction catalytique de peroxydation des lipides (Angerosa et al., 1999), et d'inhiber l'oxydation des LDL (Fito et al., 2000). Ces composés, comme les autres constituants mineurs d'huile d'olive, contribuent aux propriétés organoleptiques sensorielles et à la prévention de l'auto-oxydation d'huile (Esti et al., 2009).

Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'huile a été évaluée en utilisant deux essais complémentaires à savoir : le test du DPPH et le test du β -carotène/acide linoléique ce qui nous permet de mieux apprécier l'effet antioxydant. Les résultats sont répertoriés dans le Tableau 1.

L'activité anti-radicalaire de l'extrait phénolique, évaluée par le DPPH a enregistré une valeur d'IC₅₀ de 25, 38 \pm 0,64 mg/kg comparable à l'effet du BHT ($p < 0,05$) alors que le test de blanchissement de β -carotène a donné une activité antioxydante relative de l'ordre de 67,40 \pm 1,02% moins performant ($p < 0,05$) que le contrôle positif BHT atteignant 95,88 \pm 0,85 mg/kg. L'activité antioxydante examinée par le test de blanchissement de β -carotène des variétés Turques *Halhali*, *Eğriburun*, *Hasebi*, *Karamani* et *Saurani* était comprise dans un intervalle de 10 à 75%, dont la variété *Saurani*

possède l'effet le plus élevé (Arslan et Schreiner, 2012).

Cette activité antioxydante de l'huile d'olive serait due à sa richesse en antioxydants notamment en composés phénoliques (Benlmlih et Ganam, 2012) qui peuvent exercer un effet antioxydant important même *in vivo* (Bonanome et al., 2000).

Les travaux de Galvano et al. (2007) ont reporté une corrélation positive entre l'activité antioxydante de l'huile d'olive et sa teneur en composés phénoliques, mais cette activité n'est pas attribuée seulement au facteur quantitatif, dont la qualité du contenu phénolique joue un rôle déterminant pour cette activité biologique (Morello et al., 2004). La part de la fraction phénolique dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive est de 30%, cette contribution est la plus importante comparativement aux autres fractions, notamment la composition en acide gras et en caroténoïdes qui participent à environ 27% et 6% respectivement (Apparicio et al., 1999).

Malgré son pouvoir antioxydant inférieur à celui des antioxydants synthétiques, l'huile d'olive reste très avantageuse par sa capacité de continuer à piéger les radicaux libres pour une durée allongée qui peut s'étendre jusqu'au sixième jour (Keceli et Gordon, 2001). Ce potentiel antioxydant confère à l'huile d'olive un grand intérêt dans la prévention contre les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement (Benlmlih et Ganam, 2012).

Tableau 1 : Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante de l'huile d'olive de la variété *Chemlal*.

Paramètre	Huile d'olive	BHT*
Composés phénoliques (mg EAG/kg)	167,29 \pm 2,71	/
DPPH (mg/kg)	25,38 \pm 0,64 ^a	23,86 \pm 0,14 ^a
β -carotène/acide linoléique (%)	67,40 \pm 1,02 ^a	95,88 \pm 0,85 ^b

EAG: équivalent acide gallique ; DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ; BHT: hydroxytoluènebutylé

* : le BHT a été dissous dans le méthanol ; a et b : les moyennes de la même ligne portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

Conclusion

La présente étude montre une teneur modérée en composés phénoliques de l'huile d'olive extraite par des moyens traditionnels de la variété *Chemlal* en Algérie, comparativement aux autres variétés. L'activité antioxydante de ces composés était très importante, comparable, dans une certaine mesure, à l'antioxydant synthétique BHT. Il serait très intéressant de déterminer la composition phénolique qualitative de cette huile d'olive ainsi sa constitution en acides gras et de l'affronter à des tests antioxydants *in vivo*.

Le système traditionnel de production d'huile d'olive, largement adopté en Algérie, est moins compétitif malgré la présence des variétés présentant une multitude d'atouts, à l'instar de la variété *Chemlal* donnant une huile de bonnes vertus. Ceci nécessite, comme mesure urgente, une modernisation de la filière et une valorisation et promotion des variétés locales.

REFERENCES

- Antolovich M, Bedgood DR, Bishop AG, Jardine D, Prenzler D, Robards K. 2004. LC-MS investigation of oxidation products of phenolic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 962-971.
- Apparicio R, Roda L, Albi MA, Gutiérrez F. 1999. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 4150-4155.
- Arslan D, Schreiner M. 2012. Chemical characteristics and antioxidant activity of olive oils from Turkish. *Scientia Horticulturae*, **144**: 141-152.
- Bektas T, Dimitra D, Atalay S, Munevver S, Moschos P. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, **90**: 333-340.
- Benlmlih M, Ghanam J. 2012. *Polyphénols d'Huile d'Olive, Tresors Santé!* Medicatrix Editions: Embourg, Belgique.
- Bonanome A, Pagnan A, Biffanti S. 2012. Effect of Dietary Monounsaturated and Polyunsaturated Fatty Acids on the Susceptibility of Plasma Low Density Lipoproteins to Oxidative Modification. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **12**: 529-533.
- Boskou D. 1996. *Olive oil: Chemistry and Technology*. AOCS Press: Champaign, Illinois, USA.
- Brand-william W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **28**: 25-30.
- Brenes M, Garcia A, Dobarganes MC, Velasco J, Romero C. 2002. Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 5962-5967.
- Bubonja-Sonje M, Giacometti J, Abram M. 2011. Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, **127**: 1821-1827.
- Cantarelli C. 1961. Sui polifenoli presenti nella drupa e nell'olio di oliva. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, **38**: 69-72.
- Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Bendini A, Segura-Carretero A, Del Carlo M, Gallina-Toschi T, Lercker G, Compagnone D, Fernández-Gutiérrez A. 2005. Evaluation of antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 8918-8925.
- Cicerale S, Conlana XA, Sinclair AJ, Keast RS. 2009. Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **49**(3): 218-236.
- Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA, Linszen PH. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science Food and Agriculture*, **77**: 140-146.
- Esti M, Contini M, Moneta E, Sinesio F. 2009. Phenolic compounds and temporal perception of bitterness and pungency in extra virgin olive oils: changes occurring throughout storage. *Food Chemistry*, **113**: 1095-1100.

- Favier A. 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, **11-12**: 108-115.
- Fitó M, De la Torre R, Farré-Albaladejo M, Khymenetz O, Marrugat J, Covas MI. 2007. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenolic compounds in humans: a review. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, **43**(4): 375-381.
- Frankel EN. 2010. Chemistry of extra virgin olive oil: Adulteration, oxidative stability, and antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**: 5991-6006.
- Gimeno E, Fito M, LamuealRaventos RM, Castellote AI, Cova, M, Farré M, de La Torre-Borant MC, López-Sabater MC. 2002. Effect of ingestion of virgin olive oil on human low density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition*, **56**: 114-120.
- Hadjou L, Lamani O, Chriet, F. 2013. Labellisation des huiles d'olive algériennes: contraintes et opportunités du processus? *New Medit*, **2**: 35-46.
- Huang D, Ou B, Prior R. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, **53**: 1841-1856.
- Keceli T, Gordon MH. 2001. The antioxydant activity and stability of phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**: 1391-1396.
- Kelen M, Bektas T. 2008. Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresources technology*, **99**: 4096-4104.
- Marsilio V, Campestre C, Lanza B. 2001. Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing. *Food Chemistry*, **74**: 55-60.
- Morello JR, Motilva MJ, Tovar MJ, Romero MP. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (cv. Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, **85**: 357-364.
- Nakbi A, Issaoui M, Dabbou S, Koubaa N, Echbili A, Hammami M, Attia N. 2010. Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oil. *Journal of Food Composition and Analysis*, **23**: 711-715.
- Pellegrini N, Visioli F, Buratti S, Brighenti F. 2001. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 2532-2538.
- Pirisi FM, Cabras P, Cao CF, Migliorini M, Magelli M. 2000. Phenolic compounds in virgin oil. 2. Reappraisal of the extraction HPLC separation, and quantification procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 1191-1196.
- Ranalli A, Ferrante ML, DeMattia G, Costantini N. 1999. Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 417-424.
- Semenuik N. 2013. *Mes Petites Mixtures d'Huiles d'Olive*. Rustica éditions: Paris.
- Servilism M, Piacquadio P, De Stefano G. 2002. Influence of a new crushing technique on the composition of the volatile compounds and related sensory quality of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Sciences and Technology*, **104**: 483-489.
- Trabut LC. 1900. *L'Olivier en Algérie*. Édition Mustapha: Alger.
- Vasquez Roncero A, Janer Del Valle C, Janer Del Valle ML. 1973. Determinacion de los polifenoles totales del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*, **24**(6): 350-357.
- Wagner WL, Herbst DR, Sohmer SH. 1999. *Manual of the Flowering Plants of Hawaii*. University of Hawaii and Bishop Museum Press : Hawaii ; 1-9.