



## ÉTUDE DE L'ÉVOLUTION DES STÉROLS, DES ALCOOLS ALIPHATIQUES ET DES PIGMENTS DE L'HUILE D'OLIVE AU COURS DU PROCESSUS DE MATURATION

A. Lazzez<sup>a\*</sup>, M. Cossentini<sup>a</sup>, M. Khlif<sup>b</sup>, B. Karray<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institut Préparatoire aux Études d'Ingénieurs de Sfax, BP 805, 3000 Sfax, Tunisie

<sup>b</sup> Institut de l'olivier de Sfax, 3000 Sfax, Tunisie

(Reçu le 19 Octobre 2004, accepté le 3 Février 2006)

**RESUME :** Les composés mineurs de l'huile d'olive revêtent une importance primordiale sur la qualité de l'huile. Au cours de ce travail nous avons étudié l'influence de la maturation des olives sur l'évolution quantitative des stérols, des alcools aliphatiques et des pigments (chlorophylles et carotènes) des huiles d'olive de la variété chemlali récoltée dans la région de Sidi Bouzid. Les résultats obtenus à travers cette étude montrent que la composition quantitative de l'huile d'olive en composés mineurs est influencée par le degré de maturation des olives, c'est ainsi que les huiles extraites à un stade de maturation avancé sont dépourvues en chlorophylles et présentent des teneurs faibles en carotènes. Une stabilisation du taux d'insaponifiable et une diminution de la teneur en stérols et des taux des alcools aliphatiques en C26 et en C28 ont été observés au cours du processus de maturation. Ces résultats, ont montré que la meilleure période de récolte est celle qui correspond à une stabilisation du taux d'insaponifiable, donnant ainsi une huile riche en stérols et en alcools aliphatiques et présentant aussi une quantité moyenne de pigments. Ces différentes caractéristiques se manifestent essentiellement dans les huiles extraites des olives prélevées durant les mois de Novembre et Décembre, période au cours de laquelle les huiles extraites présentent les meilleurs paramètres de qualité.

**Mots clés :** huile d'olive, composés mineurs, stérols, alcools aliphatiques, pigments.

**ABSTRACT:** Olive oil minor compounds have a crucial importance in quality determination. For this reason, the influence of maturity process on the evolution of sterols, aliphatic alcohols and pigments (chlorophylls and carotenes) contents in the oil was studied. Samples have been taken from chemlali variety harvested in Sidi Bouzid region. The gotten results showed a progressive decrease of the chlorophylls, carotens, sterols and aliphatic alcohols C26 and C28 contents during the maturity process. On the other hand, unsaponifiable matter amount was stable during this process. Thus, the best harvesting period is November and December, during this period we can obtain oils with the best quality parameters.

**Key words:** olive oil, minor compounds, sterols, aliphatic alcohols, pigments.

### INTRODUCTION

L'huile d'olive renferme une partie saponifiable (98%) formée principalement de triacylglycérols et d'acides gras libres et une partie insaponifiable (2%) comportant un mélange complexe de composés mineurs tels que les stérols, les hydrocarbures, les alcools aliphatiques et terpéniques, les pigments (chlorophylles et carotènes...) et les arômes. Certains de ces composés revêtent une grande importance des points de vue biologique et thérapeutique ; d'autres sont dotés d'un pouvoir antioxydant et permettent de préserver la qualité de l'huile d'olive au cours du stockage. L'identification de ces composés et l'étude de leur impact sur la santé humaine ont fait l'objet d'une série de travaux de recherche. En effet, certains auteurs ont montré qu'une quantité suffisante de  $\beta$ -Sitostérol inhibe l'absorption intestinale du cholestérol [1]. De Stefani et al. [2] ont mis en évidence une forte corrélation négative entre les apports totaux de phytostérols et les maladies de l'estomac. Par ailleurs, une étude de l'influence de la variété, des conditions climatiques, des zones d'implantation et du processus de maturation sur la composition stérolique a

\* corresponding author



montré que les huiles italiennes de la région de Khania et de Messara sont caractérisées par une forte teneur en  $\beta$ -sitostérol alors que la teneur la plus faible est relevée sur les huiles de Sitia en Espagne [3]. Cette étude a révélé également des corrélations fortement négatives entre la pluviométrie et la teneur en campestanol.

Il est à signaler que le profil stérolique et alcoolique d'une huile permet non seulement de l'identifier mais de détecter toute adultération de l'huile d'olive par les huiles de graine [4] [5]. Il peut être utilisé également pour classer les huiles d'olives extraites de plusieurs variétés [6].

L'évolution des composés mineurs présents dans les huiles des variétés tunisiennes au cours du processus de maturation n'a pas été suffisamment étudiée. Les travaux de recherches entreprises dans ce domaine ont été orientés principalement vers l'analyse de la composition acide, triglycéridique et des paramètres d'oxydation (K232, K270 et indice de peroxyde) [7] [8]. Compte tenu de l'importance de la composition qualitative et quantitative de l'huile d'olive en composés mineurs, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'examen de l'influence du stade de maturation des olives sur les teneurs en composés stéroliques, en alcools aliphatiques, en chlorophylles et en carotènes afin de définir la période optimale de récolte permettant d'obtenir des huiles de qualité.

## MATERIEL ET METHODES

### • Echantillonnage des olives et extraction de l'huile

Notre étude a porté sur les olives de la variété Chemlali. Les prélèvements ont été effectués avec une périodicité de quinze jours à partir de trois arbres de la région de Sidi Bouzid pendant la campagne 2002/2003. Les prélèvements numérotés de 1 à 12 ont été effectués aux dates suivantes :

1 : 0 jour (24 /9/2002) ;      2 : 16 jours (10/10/2002) ;      3 : 30 jours (24/10/2002) ;  
4 : 45 jours (8/11/2002) ;      5 : 56 jours (19/11/2002) ;      6 : 70 jours (3/12/2002) ;  
7 : 85 jours (18/12/2002) ;      8 : 97 jours (30/12/2002) ;      9 : 107 jours (09/01/2003) ;  
10 : 119 jours (21/01/2003) ; 11 : 132 jours (03/02/2003) ; 12 : 147 jours (18/02/2003)

L'extraction de l'huile des différents échantillons d'olive (environ 2.5 Kg) a été réalisée à l'aide d'un oléodoseur. Les huiles ainsi obtenues ont fait l'objet des analyses physico-chimiques avec trois répétitions.

### • Détermination de la teneur en chlorophylles

La teneur en chlorophylles dans l'huile d'olive est déterminée selon la méthode décrite par Wolff [9], basée sur une quantification par spectrophotométrie. On mesure l'absorbance de l'huile par rapport à une cuve témoin remplie de tétrachlorure de carbone à différentes longueurs d'onde 630, 670 et 710 nm.

### • Détermination de la teneur en carotènes

La teneur en ces pigments est déterminée par une méthode spectrophotométrique [10]. Dans une fiole jaugée de 25 ml on fait dissoudre 2.5 g d'huile dans l'isooctane, utilisé comme solvant. Puis à l'aide d'un spectrophotomètre on mesure l'absorbance de l'huile à la longueur d'onde 436nm. Les teneurs en carotènes des différents échantillons d'huile ont été obtenues en se référant à une courbe d'étalonnage qui exprime la concentration du  $\beta$  carotène pur utilisé comme étalon en fonction de l'absorbance à la même longueur d'onde de 436 nm.

### • Extraction de l'insaponifiable

La méthode adoptée pour l'extraction des insaponifiables est celle de l'U. I. C. P. A. [11]. Elle consiste à mélanger 5g d'huile avec 50 ml de potasse éthanolique ; le mélange est porté à l'ébullition sur une plaque chauffante durant une heure puis hydrolysé. La partie insaponifiable est séparée du mélange par triple extraction à l'éther. La phase étherée est lavée plusieurs fois à l'eau

distillée jusqu'à neutralité de l'eau de lavage. La détermination de la teneur en stérols totaux est réalisée en ajoutant à l'échantillon d'huile une quantité de 1mg d' $\alpha$  cholestanol utilisé comme étalon interne.

- **Isolement et analyse des stérols et des alcools aliphatiques**

L'insaponifiable ainsi préparé est dissous dans 2ml de chloroforme, puis 50 à 60  $\mu$ l de la solution chloroformique de l'insaponifiable (environ 1mg) sont déposés à l'aide d'une microseringue à 2 cm du bas de la plaque CCM. A 1 cm des bords droit et gauche, on dépose respectivement une goutte de cholestérol et de 1-éicosanol pris comme référence pour distinguer les deux bandes en stérols et en alcools aliphatiques, la plaque est mise ensuite dans une cuve de développement contenant un mélange hexane/éthyl (65/35, v/v) jusqu'à ce que le front du solvant arrive à 1 cm du bord supérieur de la plaque. Après pulvérisation de la plaque par une solution de 2,7 dichlorofluorescéine 0,2 % dans l'éthanol on localise les positions des bandes correspondantes aux fractions stérolique et alcoolique [4] [5]. Sous une lumière UV de longueur d'onde 312nm. On gratte séparément les deux bandes, on les dissout dans le chloroforme, on filtre et on évapore le solvant, les stérols et les alcools ainsi obtenus sont dissout dans le réactif de silylation, pyridine/hexaméthylsilazane/ triméthylchlorosilane (9/3/1) (v/v/v). Après 2 mn de centrifugation et repos pendant 20 mn, la solution est analysée par CPG à l'aide d'un chromatographe HP 6890 équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de 30 m de longueur et 0,32 mm de diamètre intérieur, recouverte intérieurement de phase stationnaire polaire formée de 5% de diphenyl et de 95% de diméthyl polysiloxane avec une épaisseur de 0.25 $\mu$ m. L'analyse par CPG est effectuée dans les conditions suivantes :

- ◆ Pour les stérols : Température de la colonne : 260 °C ; de l'injecteur : 280 °C ; du détecteur : 290 °C ; gaz vecteur : azote (débit : 1 ml / mn).

- Pour les alcools : On applique un gradient de température pour la colonne, début isotherme 8 minutes à 180°C puis on augmente la température de 5°C par minute jusqu'à 260°C ; température de l'évaporateur : 280°C et du détecteur : 290°C [12].

L'analyse qualitative de la fraction stérolique et de la fraction alcoolique est effectuée après la comparaison de leurs temps de rétention à ceux des témoins purs analysés dans les mêmes conditions.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### *Evolution de la teneur en pigments au cours du processus de maturation*

Bien que l'analyse des pigments ne soit pas exigée par les normes de commercialisation de l'huile d'olive, la couleur est un attribut de base pour déterminer les caractéristiques de l'huile d'olive; elle est associée par la plupart des consommateurs à la notion de qualité. Deux sortes de pigments sont présents dans l'huile d'olive : les chlorophylles et les caroténoïdes.

- **Chlorophylles**

Les chlorophylles et les phéophytines produits de leur dégradation sont responsables de la couleur marron caractéristique de l'huile d'olive. La présence de ces pigments au cours du processus de maturation des olives est un facteur de qualité en raison de leur implication dans les mécanismes d'autooxydation et de photooxydation de l'huile d'olive [13]. Les résultats du suivi de l'évolution de la teneur en chlorophylles des huiles d'olive de la variété chemlali au cours du cycle de maturation sont mentionnés à la figure 1.

L'examen de cette figure permet de noter que la teneur en chlorophylles est maximale au début de la véraison et diminue progressivement au cours du processus de maturation. En effet, la teneur en ces pigments passe de 12 ppm pendant le stade vert des olives correspondant à la fin du mois de septembre (1<sup>er</sup> prélèvement) à des teneurs très faibles au stade noir des olives observé à partir du 9<sup>ème</sup> prélèvement correspondant au mois de Janvier.



Il est à noter que ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Salvador et al. [14] qui ont montré que les teneurs en chlorophylles dans les huiles de quelques variétés espagnoles sont comprises entre 2 et 27 ppm et que la concentration en ces pigments est bien corrélée avec le stade de maturation des olives.

Le passage des olives par les différentes couleurs verte, violacée puis noire peut être expliqué par le fait qu'au cours du processus de maturation on assiste à la biosynthèse de nouvelles substances telles que les anthocyanes qui sont responsables de la couleur noire des olives [15]. La faible teneur en chlorophylles observée à partir du 9<sup>ème</sup> prélèvement peut avoir un effet néfaste sur la qualité de l'huile, en raison de l'impact de ces pigments sur la stabilité de l'huile au cours du stockage.

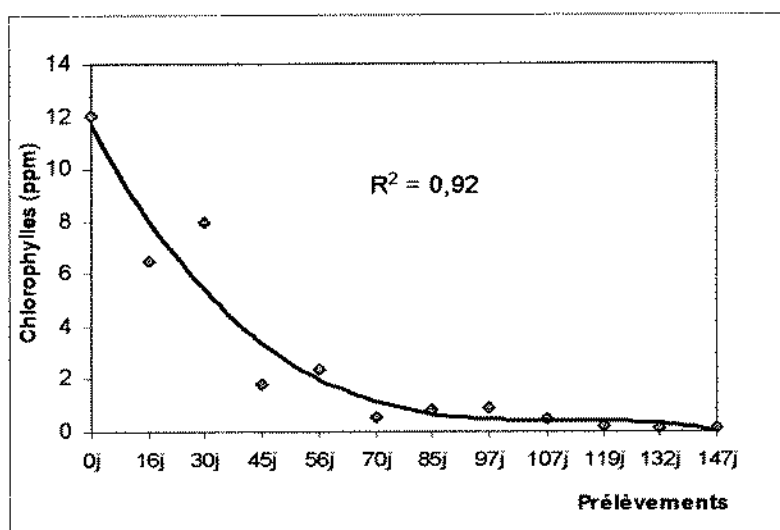


Fig. 1 : Evolution de la teneur en chlorophylles au cours du processus de maturation des olives

#### • Carotènes

Les carotènes sont des substances chimiques naturelles impliquées dans les mécanismes d'oxydation de l'huile, leur présence en quantité suffisante dans l'huile permet de retarder le phénomène de la photooxydation et de préserver les paramètres de qualité de l'huile au cours du stockage [16]. L'élément majeur et essentiel de ces composés est le  $\beta$  carotène, caractérisé par sa forte absorption dans le domaine du visible.

La courbe d'étalonnage (fig. 3) du  $\beta$  carotène pur dissous dans l'isooctane montre que la densité optique est parfaitement corrélée à la concentration en  $\beta$  carotène, avec un facteur de détermination  $R^2 = 0.99$ . Cette forte corrélation nous a permis d'évaluer la teneur en carotènes présente dans les huiles à travers la mesure de la densité optique de chaque échantillon.

Les résultats de l'analyse des échantillons d'huile aux différents stades de maturation sont consignés dans la figure 2. Il en ressort que les teneurs en carotènes dans les huiles de la variété chemlali varient de 6.5 à 2 ppm. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Poiana et al. [10] qui ont montré que la teneur en carotènes dans les huiles de la variété italienne Itrana n'excède pas 10 ppm. En outre, Salvador et al. [14] ont constaté que les huiles de la variété Cornicabra présentent des teneurs qui varient de 2 à 14 ppm. Par ailleurs, on assiste au cours du processus de maturation à une régression très rapide de la teneur en carotènes qui passe de 6.5 ppm au premier prélèvement (24/09/2002) à 2.8 ppm au 3<sup>ème</sup> prélèvement (24/10/2002), pour se stabiliser à 2 ppm à partir du 9<sup>ème</sup> prélèvement effectué au début du mois de Janvier.

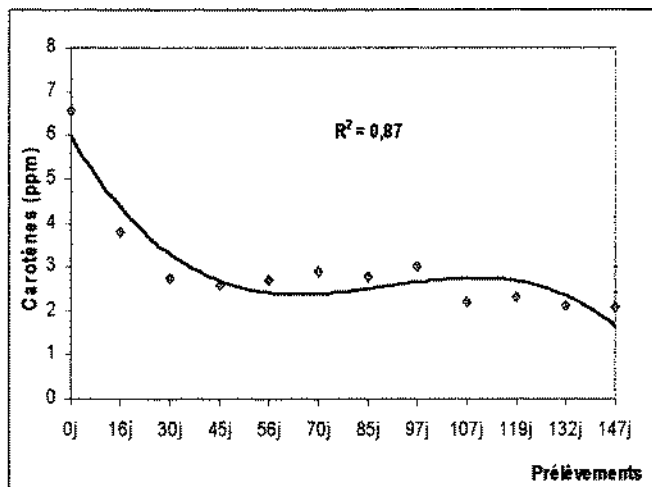


Fig. 2 : Evolution de la teneur en carotènes au cours du processus de maturation des olives

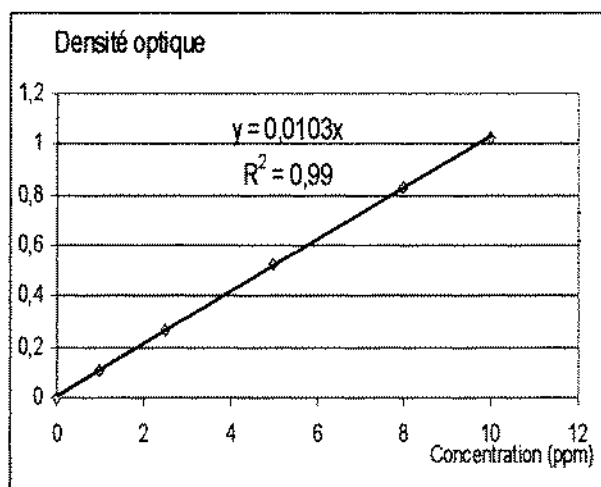


Fig. 3 : Courbe d'étalonnage du  $\beta$  carotène pur

Il est à noter que les teneurs en  $\beta$  carotène présent dans tous les échantillons d'huile analysés sont nettement supérieures à 1ppm et permettent à ce composé de jouer son rôle en tant que protecteur de l'huile dans la mesure où la propriété antioxydante du  $\beta$  carotène ne se manifeste qu'à une teneur supérieure à 1 mg /Kg d'huile, soit 1 ppm [17].

#### Evolution du taux d'insaponifiable au cours du processus de maturation

Les résultats consignés dans le tableau I permettent de remarquer que les huiles provenant de la région de Sidi Bouzid sont moyennement riches en insaponifiable. Les huiles les plus riches (1.6-1.7%) sont celles obtenues à des stades précoces de maturation. Une stabilisation du taux d'insaponifiable de l'ordre de 1.2% est observée à partir du 4<sup>ème</sup> prélèvement correspondant au mois de Novembre.

Tableau I : Evolution des taux d'insaponifiable au cours de la maturation des olives

N° du prélèvement	Date de prélèvement	Taux d'insaponifiable (%)
1	24/9/2002 (0 j)	1.61
2	10/10/2002 (16 j)	1.58
3	24/10/2002 (30 j)	1.73
4	8/11/2002 (45 j)	1.32
5	19/11/2002 (56 j)	1.22
6	3/12/2002 (70 j)	1.26
7	18/12/2002 (85 j)	1.32
8	30/12/2002 (97 j)	1.25
9	09/01/2003 (107 j)	1.24
10	21/01/2003 (119 j)	1.26
11	03/02/2003 (132 j)	1.29
12	18/02/2003 (147 j)	1.21

#### Analyse de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive

L'analyse de la fraction insaponifiable séparée par chromatographie sur couche mince a permis d'identifier cinq familles de composés élués dans l'ordre suivant : les stérols, les alcools aliphatiques et terpéniques, les tocophérols, les hydrocarbures et les pigments. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à deux familles de composés, les stérols et les alcools aliphatiques.



### Analyse de la fraction stérolique de l'huile d'olive

L'analyse de la fraction stérolique de l'huile d'olive révèle la présence de 12 composés identifiés par comparaison à des stérols de référence analysés dans les mêmes conditions. Le plus abondant des composés stéroliques est le  $\beta$  sitostérol, il peut atteindre à lui seul 92% de la fraction stérolique, suivi du  $\Delta$ -5 avénastérol (10%) et du campestérol (3%), les autres composés stéroliques tels que le Cholestérol, le 24-Méthylène cholestérol, le campestanol, le stigmastérol, le clérostérol, le sitostanol, le  $\Delta$ -5-24-stigmastadiénol, le  $\Delta$ -7-stigmastérol et le  $\Delta$ -7-avénastérol sont présents en très faibles quantités.

Le profil chromatographique de la fraction stérolique représenté à la figure 4 révèle l'absence totale du brassicastérol et du  $\Delta$ 5-23-stigmastadiénol, généralement présents dans les huiles de graine et un taux très faible de cholestérol inférieur à 0.2%. Ces résultats montrent l'importance de la fraction stérolique non seulement sur le plan biologique et thérapeutique mais également par le fait qu'elle peut constituer l'empreinte digitale permettant de différencier l'huile d'olive des autres huiles végétales et de détecter toute adultération pouvant affecter la qualité exigée par la norme internationale de commercialisation de l'huile d'olive.

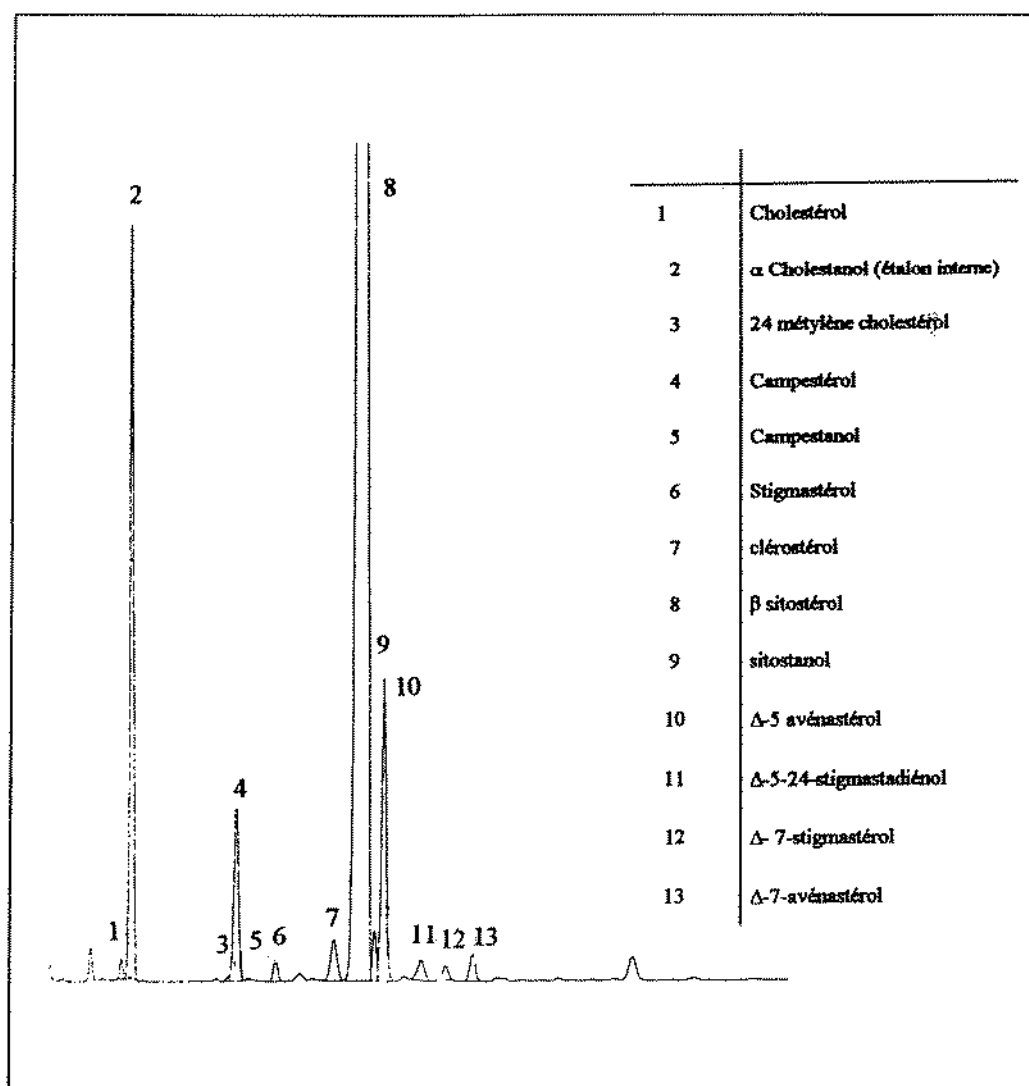


Fig. 4 : Chromatogramme de la fraction stérolique de l'huile d'olive

**Tableau II** : Evolution des teneurs (mg/Kg d'huile) en stérols des huiles de la variété Chemlali au cours de la maturation des olives

	24/09	10/10	24/10	08/11	19/11	3/12	18/12	30/12	9/01	21/01	3/02	18/02
cholestérol	1.2	1.2	2	1.6	1	0.7	0.9	0.7	0.67	4	2.1	2.1
24-Méthylène-cholestérol	2.4	3.1	3.6	0.6	0.7	0.7	2.2	3.3	1.9	2.6	1.9	1.1
Campestérol	52.1	55.5	52.2	62.9	61	58.5	63.2	52.5	51.3	62.9	40.8	41.7
Campestanol	1.8	1	2.4	3	1.5	1.5	0.6	1.4	0	0	2	0.9
Stigmastérol	2	2.9	1.5	3.5	3.3	4.1	2.6	1	4.5	4.6	3.5	2
clérostérol	6.8	8.9	12.5	5.5	4.3	5	3.4	3.1	5.2	3.7	2.8	1.7
$\beta$ sitostérol	1597.5	1724.3	1849	2048	1996.2	1840	1860	1770.4	1588.4	1456.9	1290	1355
Sitostanol	6.6	4.8	5.3	5.2	4.8	6.3	4.7	4.9	4.5	3.4	3.6	3.5
$\Delta$ -5 avénastérol	70.8	119.6	125.5	254.7	215.6	256.1	246.7	284.3	283.3	234.8	107	92.4
$\Delta$ -5-24-stigmastadiénol	3.8	3.9	5.8	7.5	5.9	3.4	8.7	6.7	6.7	5.8	2.9	3.3
$\Delta$ -7-stigmastérol	4.9	9	17.4	8.4	5.54	9.44	6.14	1.9	1.9	2.2	4.2	2.9
$\Delta$ -7-avénastérol	3.3	7.1	12.8	3.2	7.8	14.4	11.2	8.2	8.4	7.9	6.4	7.5
Stérols totaux	1753.1	1941.2	2089.9	2403	2321	2199.9	2210	2138.3	1956.7	1788.7	1467	1514

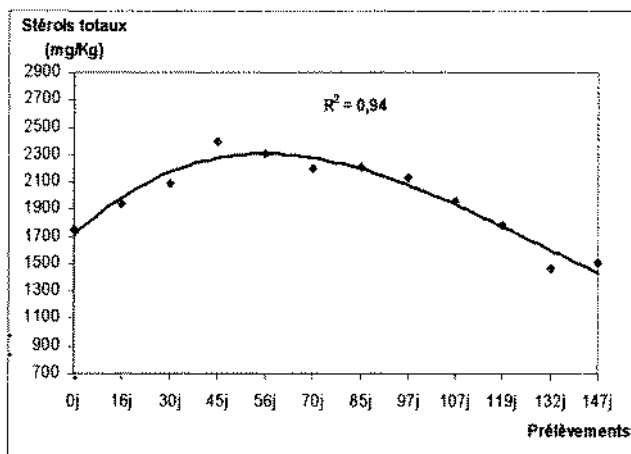


Fig. 5 : Evolution de la teneur en stérols totaux

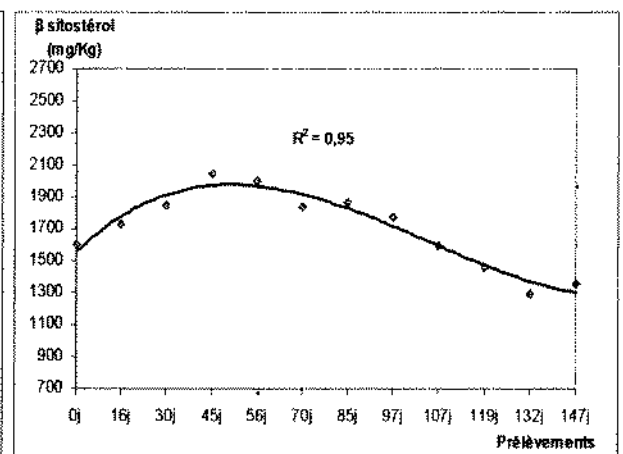


Fig. 6 : Evolution de la teneur en  $\beta$  sitostérol

Les résultats consignés dans le tableau II révèlent la richesse des huiles de la variété chemlali provenant de la région de Sidi Bouzid en stérols totaux, pouvant atteindre 2400mg/Kg d'huile au cours de la maturation des olives. Tous les échantillons présentent des teneurs supérieures à 1000mg/Kg d'huile, valeur minimale exigée par le règlement de l'Union Européenne relatif à la commercialisation de l'huile d'olive. La teneur moyenne en stérols totaux de la variété tunisienne chemlali est nettement supérieure à celle présente dans les variétés italiennes telles que Frantoio, Leccino et Moraiolo [18] ou encore à quelques variétés espagnoles telles que Hojiblanca ou Cornicabra dont la teneur en ces composés varie de 1100 à 1900mg/Kg d'huile au cours du processus de maturation des olives [19] [20].



Le suivi de l'évolution de la teneur en stérols totaux des huiles de la variété Chemlali au cours de la maturation (figure 5) fait apparaître une augmentation progressive au cours des premiers stades ; elle passe de 1751mg/Kg en fin de Septembre à 2400mg/Kg au 4<sup>ème</sup> prélèvement correspondant au début du mois de novembre pour se stabiliser à des teneurs proches de 1500mg/Kg d'huile vers la fin de la maturation.

Le  $\beta$  sitostérol est le stérol majeur de l'huile d'olive ; il peut atteindre à lui seul 92% de la fraction stérolique. Son évolution au cours du temps suit pratiquement l'évolution des stérols totaux; sa teneur s'élève de 1598 au premier prélèvement (24/09/02) pour atteindre un maximum de 2048mg/Kg d'huile au 4<sup>ème</sup> prélèvement (06/11/2002), date à partir de laquelle une nette diminution jusqu'à 1350 mg/Kg est observée vers la fin du processus de maturation (figure 6).

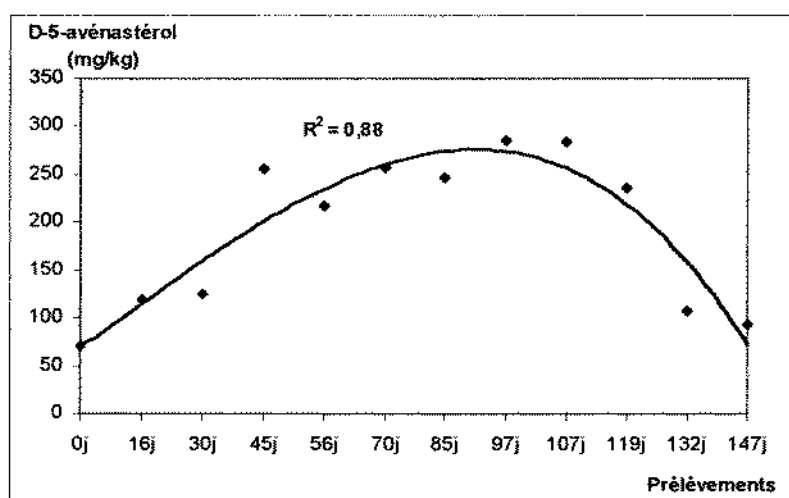


Fig. 7 : Evolution de la teneur en  $\Delta$ -5-avénastérol

La figure 7 retrace l'évolution de la teneur en  $\Delta$ -5-avénastérol au cours de la maturation des olives. La présence de ce composé dans l'huile d'olive peut atteindre un maximum de 285mg/Kg d'huile. Son évolution au cours du processus de maturation passe d'un minimum de 71 mg/Kg au stade précoce (24/09/2002) à 285 mg/Kg au début de janvier (09/01/2003), puis diminue jusqu'à 92 mg/Kg au mois de Février. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Fiorino [21], qui a montré que l'évolution du  $\Delta$ -5-avénastérol présente une allure en cloche, sa teneur qui est très faible au mois de septembre augmente rapidement et atteint son maximum entre fin Octobre et début novembre, pour diminuer sensiblement par la suite.

Les résultats consignés dans le Tableau II permettent de noter que le campestérol est quantitativement moins important que le  $\beta$  sitostérol et le  $\Delta$ -5-avénastérol ; il présente toutefois une teneur majeure moyenne de l'ordre de 50mg/Kg pratiquement constante au cours du processus de maturation et qui correspond à un taux nettement inférieur à 4%, qui correspond à la limite supérieure exigée par la norme européenne. Il est à souligner que contrairement à l'huile extraite de la variété tunisienne Chemlali, le taux de Campestérol de la variété espagnole Cornicabra est relativement élevé et se situe à la limite du taux toléré pour la commercialisation de l'huile d'olive [20].

Pour tous les autres composés stéroliques qui présentent de faibles teneurs, nous n'avons enregistré aucune variation significative de leurs teneurs aux différents stades de maturation des olives.



### *Analyse de la fraction des alcools aliphatiques de l'huile d'olive*

L'identification des alcools aliphatiques de l'huile d'olive a été effectuée par comparaison à des alcools purs analysés par CPG dans les mêmes conditions chromatographiques. L'analyse de cette fraction a permis de révéler la présence des alcools aliphatiques à nombre pair d'atomes de carbone, à savoir ; le docosanol (C22), le tetracosanol (C24), l'hexacosanol (C26) et l'octacosanol (C28). Ces derniers présentent des taux moyennement importants à ceux des alcools à nombre impair tels que ; le tricicosanol (C23), le pentacosanol (C25) et l'heptacosanol (C27). Ces alcools présentent des taux très faibles ou sont présents à l'état de traces (figure 8). Cette composition a été observée également avec l'huile extraite de la variété Cornicabra [20].

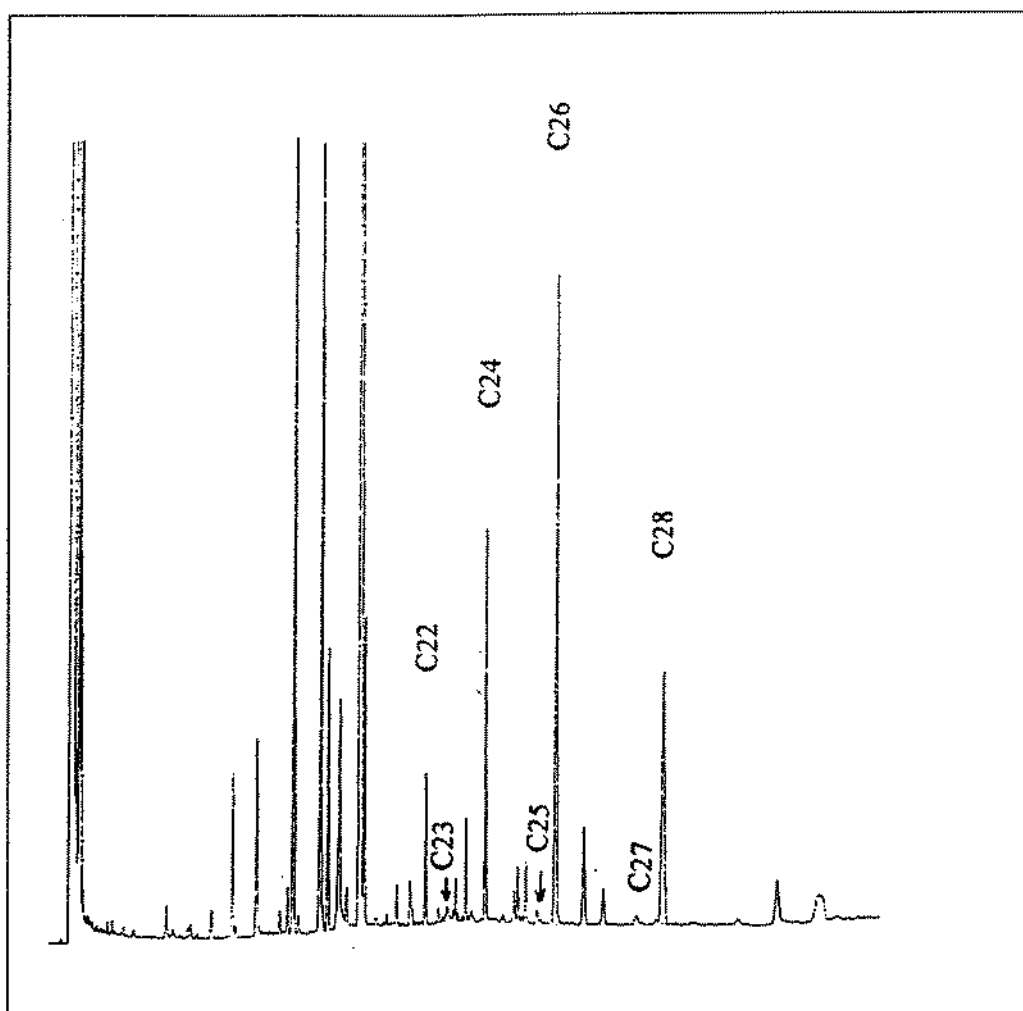


Fig. 8 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des alcools aliphatiques

L'analyse quantitative de la fraction alcoolique fait apparaître la prédominance de l'alcool à 26 atomes de carbone (C26) qui peut atteindre au cours de la maturation 55 % de la fraction totale suivi de l'alcool C24, qui présente un taux moyennement important de l'ordre de 38%. Le C22 et le C28 sont les alcools les moins abondants de cette fraction.

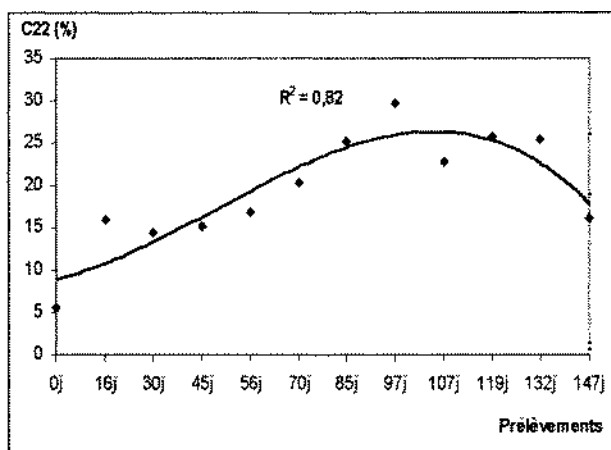


Fig. 9 : Evolution de C22 au cours de la maturation

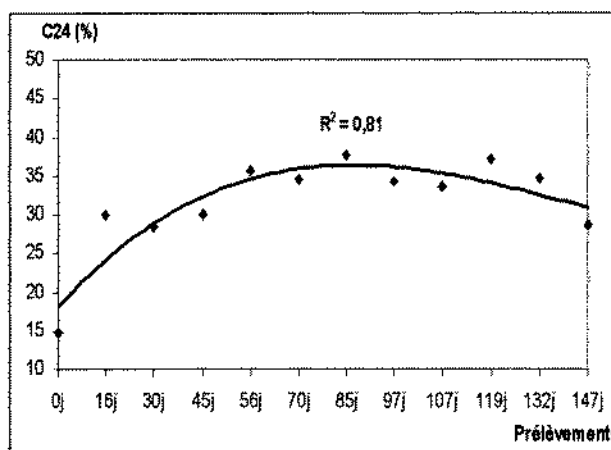


Fig. 10 : Evolution de C24 au cours de la maturation

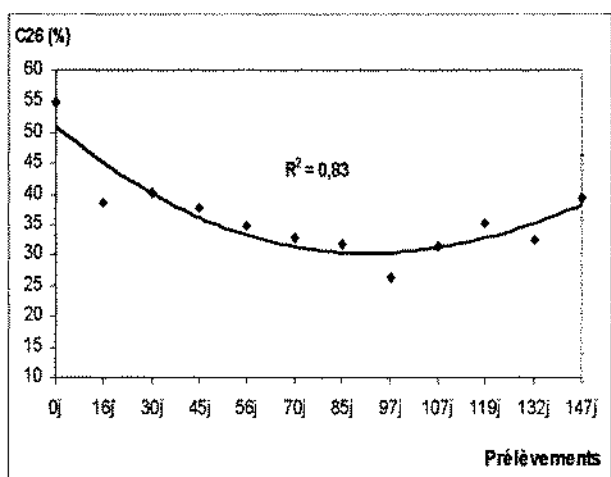


Fig. 11 : Evolution de C26 au cours de la maturation

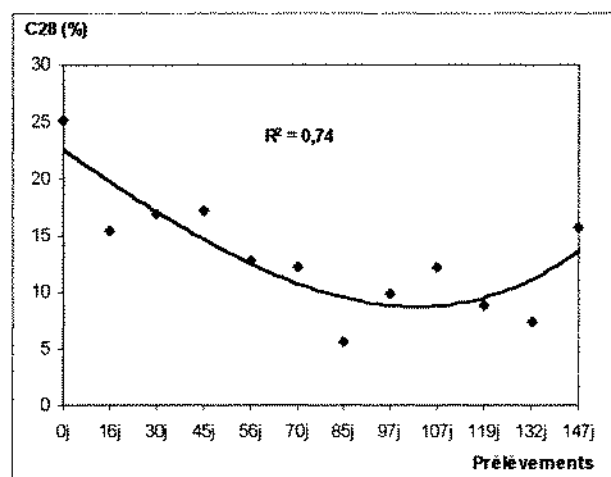


Fig. 12 : Evolution de C28 au cours de la maturation

L'évolution quantitative des alcools aliphatiques à nombre pair de carbone illustrée par les figures 9, 10, 11 et 12 montre que le processus de maturation affecte sensiblement cette fraction, c'est ainsi que l'on note une augmentation du taux en C22 qui passe d'une valeur relativement faible de l'ordre de 9% à un maximum de 27% pendant la période allant de fin septembre à la fin du mois de décembre pour diminuer progressivement et atteindre 17% à la fin de la maturation.

L'évolution de l'alcool en C24 présente une allure en cloche analogue à celle observée avec l'alcool en C22. En effet, son taux passe de 15% au début de la maturation à un maximum de 38% à mi décembre puis diminue jusqu'à une valeur de 29% au dernier prélèvement qui correspond à mi Février (18/02/2003).

Contrairement à l'évolution des taux des alcools en C22 et en C24, on enregistre pour le C26 une diminution progressive qui passe de 55% au début de maturation à un minimum de 26% à la fin du mois de décembre puis s'élève à 40% en fin de la maturation (fig.11). La même évolution est observée avec l'alcool en C28, le taux de ce composé passe de 23 à 8% à la fin du mois de décembre puis s'élève à 15% en fin de maturation.

L'allure des courbes d'évolution des alcools aliphatiques en C22 et C24 d'une part et en C26 et en C28 d'autre part semble indiquer l'existence de réactions de transfert entre les différents



alcools au cours du processus de maturation des olives. Le calcul des coefficients de détermination et l'élaboration des équations de régression entre les alcools aliphatiques aux différents stades de maturation a confirmé notre hypothèse et a permis d'élucider un certain nombre d'équations simples avec leurs facteurs de détermination. On note ainsi une corrélation positive entre le C22 et le C24 avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0.73$ ), alors que le C22 est négativement corrélé avec le C26 et le C28, dont les coefficients de détermination sont respectivement de 0.84 et 0.87. Les régressions sont exprimées par les relations suivantes :

$$C22 = 0.79 C24 + 16.26 \quad (R^2 = 0.73) \quad (1)$$

$$C22 = -0.96 C26 + 55.03 \quad (R^2 = 0.84) \quad (2)$$

$$C22 = -0.74 C28 + 27.55 \quad (R^2 = 0.87) \quad (3)$$

On enregistre également une corrélation fortement négative entre le C24 et les deux alcools en C26 et C28 ; les coefficients de détermination sont respectivement de 0.83 et de 0.86 alors que l'alcool en C26 est moyennement corrélé avec le C28 où le coefficient de détermination est de 0.76. Les régressions sont exprimées par les relations suivantes :

$$C24 = -1.04 C26 + 69.1 \quad (R^2 = 0.83) \quad (4)$$

$$C24 = -0.79 C28 + 38.29 \quad (R^2 = 0.86) \quad (5)$$

$$C26 = 0.65 C28 - 10.45 \quad (R^2 = 0.76) \quad (6)$$

## CONCLUSION

L'objectif principal fixé par ce travail est la recherche de la période optimale de récolte des olives permettant d'obtenir des huiles présentant des teneurs en composés mineurs conformes aux normes de commercialisation de l'huile d'olive.

L'ensemble de nos résultats a permis de mettre en exergue l'influence du processus de maturation des olives sur la composition quantitative de l'huile d'olive en insaponifiable, en pigments, en stérols et en alcools aliphatiques. C'est ainsi que nous avons pu noter au cours du processus de maturation:

- Une diminution des pigments. Les huiles extraites à un stade de maturation avancé sont pratiquement dépourvues en chlorophylles et présentent des teneurs faibles en carotènes.
- Une stabilisation du taux de l'insaponifiable de l'ordre de 1.3% à l'exception de ceux obtenus à partir des huiles extraites d'olives récoltées à des stades précoces de maturation.
- Une augmentation notable de la teneur en stérols totaux pouvant atteindre un maximum de 2400mg/Kg d'huile en pleine maturation
- . Une récolte tardive a entraîné une baisse sensible de cette teneur.
- Les teneurs en  $\beta$  sitostérol et en  $\Delta$ -5-avénastérol suivent pratiquement la même évolution observée avec les stérols totaux, alors que la teneur en campestérol est pratiquement la même quel que soit le stade de maturation des olives.
- Contrairement aux taux des alcools aliphatiques en C22 et C24 qui ont tendance à la baisse aux cours du processus de maturation, les taux des alcools en C26 et C28 diminuent puis augmentent.

Compte tenu de ces résultats, la meilleure période de récolte est celle qui correspond à une stabilisation du taux d'insaponifiable de l'ordre de 1.3% donnant ainsi une huile riche en stérols et en alcools aliphatiques C26 et C28 et présentant aussi une quantité moyenne de pigments. Ces



différentes caractéristiques se manifestent essentiellement dans les huiles extraites des olives prélevées durant les mois de Novembre et Décembre, période au cours de laquelle les huiles extraites présentent les meilleurs paramètres de qualité.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] A. H. Clements, R. H. DE Nengh, D. J. Frost et J. R. Nodi, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1973**, 50, 325-333.
- [2] E. De Stefani, P. Bofetta et AL. Ronco, *Nutr. Cancer*, **2000**, 37, 4-140.
- [3] A. Koutsaftakis, F. Kotsifaki et Stefanodaki, *Olivae*, **2000**, 81, 20-25.
- [4] C. Mariani, G. Bellan, G. Morichio et A. Pelligrino, *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, **1999**, 76(7/8), 297-305.
- [5] S. Vichi, L. Pizzale, E. Toffano, R. Bortolomeazzi et L. Conte, *Journal of A. O. A. C. International*, **2001**, 84(5), 1534-1541.
- [6] R. Aparicio, M. T. Morales et M. V. Alonso, *Journal of Agriculture and food chemistry*, **1997**, 45, 1076-1083.
- [7] A. Lazzez, B. Karray, M. Ayadi, M. Khelif et M. Cossentini, *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, **2002**, 4(12), 1585-1590.
- [8] N. Grati-Kammoun, M. Khelif, et M.T. Hamdi, *Acta Horticulturae*, **1999**, 474, 701-704.
- [9] J. P. Wolff, *Manuel d'analyse des corps gras*, Edit. Azoulay, Paris, **1968**, pp. 186-440.
- [10] M. Poiana, A. Mincione, A. M. Giuffrè et B. Mincione, *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, **2001**, LXXVIII, 571-592.
- [11] U.I.C.P.A., *Méthodes d'analyse des corps gras*, Edit. ITERG Bordeaux, **1978**.
- [12] Journal Officiel des Communautés Européennes. N° L 248/10.
- [13] W. I. Degreyt, *Effect of physical refining on selected minor components in vegetable oils*, **1998**, pp 6-8.
- [14] M. D. Salvador, F. Aranda, S. Gomez Alonso et G. Fregapane, *Food Chemistry*, **2001**, 74, 267-274.
- [15] A. El Antari, A. Hilal, B. Boulouha et A. El Moudni, *Olivae*, **2000**, 80, 29-36.
- [16] A. Kiritsakis et M. Osman, *Olivae*, **1995**, 56, 25-28.
- [17] M. Rahmani et A. Saari, *Revue Française des Corps Gras*, **1989**, 36, 355-360.
- [18] S. Caselli, *Olivae*, **1993**, 47, 46-51.
- [19] T. Rana, *Influencia del proceso de extracción sobre la calidad del aceite de oliva virgen. Thèse en oléiculture et oléotechnie*, **1997**, instituto de la Grasa, Séville.
- [20] R. M. Rivera Del Alamo, G. Fregapane, F. Aranda, S. Gomez Alonso et M. D. Salvador, *Food Chemistry*, **2003**, 84, 533-537.
- [21] P. Fiorino, F. Nizzi Griffi, *Olivae*, **1991**, 35, 25-33.