



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie

THESE

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat
en Sciences Biologiques

SPECIALITE
Oléiculture et Oléotechnie

Thème

Extraction et caractérisation des composés bioactifs des
variétés dominantes des vergers oléicoles de Kabylie, selon le
stade de maturité

Par
FACI Massinissa

Devant le jury

Président : Kellouche Abdellah	Professeur	UMMTO, Tizi-Ouzou
Directrice de thèse : Hedjal-Chebheb Mariam	Professeur	UMMTO, Tizi-Ouzou
Co-directrice de thèse : Douzane Malika	MRA	INRAA, Alger
Examineurs : Amrouche Tahar	Professeur	UMMTO, Tizi-Ouzou
Examineurs : Merdjane-Laincer Firdousse	MCA	UAM, Béjaia
Examineurs : Amiali Malek	Professeur	ENSA, Alger



Remerciement

Au terme de ce travail, je saisis cette occasion pour adresser mes remerciements et ma gratitude à l'égard de tous ceux qui ont contribué à l'accomplissement de cette thèse :

Ma directrice de thèse Pr. Hedjal Mariam, et ma co-directrice de thèse MRA. Douzane Malika, pour leur disponibilité, serviabilité et pour toute l'aide qu'elles ont apportée pour la réalisation de ma thèse. Ces cinq années de formation doctorale ont été facilitées par leur disponibilité à chaque moment important de la thèse. La confiance qu'elles m'ont accordée m'a permis de mener à bien mes recherches de manière autonome, mais encadrée.

Mes remerciements vont également au Professeur Kellouche Abdellah pour avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de thèse, mais aussi pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire en mettant à ma disposition tous les moyens et le soutien nécessaires à ma formation doctorale.

J'aimerais également remercier le Professeur Amrouche Tahar, le Professeur Amiali Malik et le Maître de conférence Merdjane-Laincer Firdousse, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

J'adresse également mes remerciements au Professeur Abderezak Tamendjari pour son aide et ses conseils inestimables. Qu'il trouve ici mes sincères expressions de gratitude et de respect.

Un grand merci pour Mr Eric Lesellier et son équipe pour leur accueil chaleureux, et pour avoir mis à notre disposition tous les moyens nécessaires à la réussite de notre stage de recherche à l'Institut de Chimie Analytique et Organique (ICOA).

Je tiens également à remercier nos collaborateurs turcs, Dr Didar Sevim et Dr Oya Köseoglu, pour leur aimable hospitalité et les moyens mis à notre disposition pour assurer notre travail de recherches au niveau du laboratoire de l'institut de recherche sur l'olivier.





Un remerciement chaleureux aux responsables de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Alger (INRAA) de m'avoir intégré dans le projet de recherche H2020 avec l'Union Européenne.

Je remercie également le personnel de l'ITAF pour l'accueil chaleureux qu'ils m'ont réservé, et pour nous avoir fourni les équipements pour l'extraction d'échantillons d'huile d'olive.

Je tiens à remercier tous les oléiculteurs pour leur contribution, en mettant à notre disposition leur verger, dans lequel nous avons prélevé les différents échantillons d'olives.

Mes chaleureux remerciements au personnel de l'Université Mouloud Mammeri qui m'ont aidé de près ou de loin dans mes travaux de recherche, et en particulier les ingénieurs de laboratoire pour leur soutien inestimable.

J'adresse également mes remerciements à tous les doctorants m'ayant accompagné au cours de ces 5 années. Je remercie également tous mes amis qui m'ont entouré et aidé dans mon parcours universitaire, en me permettant ainsi de trouver un bon équilibre entre études et vie personnelle.

Je tiens aussi à remercier mon collègue et ami Mohamed-Seghir Daas, pour tous ses conseils avisés et encouragements incessants.

Enfin je remercie ma famille et plus particulièrement mes parents pour leur soutien permanent tout au long de cette thèse et plus généralement tout au long de ma vie universitaire.



Table des matières

Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	4
Chapitre I : Olivier et oléiculture	4
1. Histoire et origine de l'olivier	4
1.1. Oléiculture dans le monde	4
1.2. Oléiculture en Algérie	6
2. Importance économique de l'olivier	7
3. Description botanique de l'olivier	9
4. Classification botanique	11
5. Cycle végétatif annuel	12
6. Les variétés de l'olivier	14
7. Les produits oléicoles	15
7.1. Olives de table	15
7.2. L'huile d'olive	15
8. Les sous-produits oléicoles	16
8.1. Le grignon d'olives	16
8.2. Les margines	16
8.3. Les feuilles d'olivier	17
Chapitre II : Qualité et composition de l'huile d'olive	18
1. Critères de qualité et classification de l'huile d'olive	18
2. Les composés bioactifs de l'huile d'olive	19
2.1. Fraction majeure	20
2.1.1. Les triglycérides	20
2.1.2. Les acides gras	21
2.2. Fraction mineure	24
2.2.1. Les composés phénoliques	24
2.2.2. Les pigments	30
2.2.3. Les tocophérols	33
2.2.4. Les stérols	34
2.2.5. Les composés volatils	35
2.2.6. Les hydrocarbures	36

Chapitre III : Facteurs influençant la composition de l'huile d'olive	38
1. Facteur génétique	38
2. Facteurs géographiques	38
3. Facteurs agronomiques.....	39
3.1. Age des arbres.....	39
3.2. Densité	40
3.3. Irrigation.....	40
3.4. Fertilisation.....	40
3.5. Maturité du fruit.....	41
4. Facteurs technologiques	42
4.1. Stockage des olives.....	42
4.2. Lavage et effeuillage.....	43
4.3. Broyage	43
4.4. Malaxage	44
4.5. Séparation solide/liquide.....	45
4.5.1. La presse.....	45
4.5.2. Décanteur à trois phases	46
4.5.3. Décanteur à deux phases.....	47
4.5.4. Décanteur à multi-phases.....	49
4.6. Séparation huile/eau	49
5. Conditionnement de l'huile	50
Partie expérimentale	52
Chapitre IV : Evolution de la qualité et la composition de l'huile d'olive des cultivars <i>Chemlal</i> et <i>Azeradj</i>, en fonction de l'altitude et du degré de maturité.	52
1. Matériel et méthodes	52
1.1. Echantillonnage.....	52
1.2. Extraction de l'huile	53
1.3. Analyse des fruits	54
1.3.1. Indice de maturité	54
1.3.2. Humidité des olives	55
1.4. Indices de qualité de l'huile d'olive.....	55
1.4.1. Acidité libre	55
1.4.2. Indice de peroxyde.....	56
1.4.3. Les paramètres K232 et K270.....	56
1.5. Analyses de la composition en acide gras.....	56

1.6. Détermination du profil en triglycérides	58
1.7. Analyse des tocophérols	58
1.8. Teneur en chlorophylles et caroténoïdes.....	58
1.9. Stabilité oxydative par Rancimat	59
1.10. Analyse statistique.....	60
2. Résultats et discussions	61
2.1. Indice de maturité	61
2.2. Paramètres du fruit	62
2.3. Indices de qualité	65
2.4. Composition en acides gras	67
2.5. Profil en triglycérides.....	71
2.6. Teneur en chlorophylles et en caroténoïdes	73
2.7. Composition en tocophérols	75
2.8. Stabilité oxydative	77
2.9. Analyse en composante principale	78
2.10. Influence des facteurs étudiés sur la composition de l'huile	80
Chapitre V : Variation de la teneur en sécoiridoïdes et la qualité des huiles extraites des variétés cultivées et sauvages, en fonction de la maturation du fruit.	83
1. Matériel et méthodes	83
1.1. Echantillonnage	83
1.2. Extraction à l'Oléodoseur	84
1.3. Indice de maturité des fruits	85
1.4. Analyses des paramètres de qualité de l'huile d'olive.....	85
1.5. Analyse du profil en acides gras	85
1.6. Détermination des pigments	86
1.7. Extraction de la fraction phénolique	86
1.8. Analyse de la fraction phénolique par UHPLC-DAD et UHPLC-HRMS	86
1.9. Méthode de quantification des phénols.....	87
1.10. Détermination des phénols totaux	87
1.11. Détermination de l'activité antiradicalaire DPPH	88
1.12. Analyse chimométrique.....	88
2. Résultats et discussions	89
2.1. Indice de maturité des olives.....	89
2.2. Paramètres de qualité de l'huile d'olive vierge	90

2.3. Composition en acides gras	91
2.4. Teneur en pigments.....	94
2.5. Teneur en phénols totaux.....	96
2.6. Identification des sécoiridoïdes de l'huile d'olive par UHPLC-HRMS/MS	97
2.7. Teneur en sécoiridoïdes	100
2.8. Activité anti-radicalaire et capacité antioxydante	101
2.9. Résultats de l'analyse chimiométrique	103
2.10. Contribution des facteurs étudiés aux caractéristiques de l'huile d'olive	106
Conclusion générale et perspectives	109
Références bibliographiques.....	112

Annexes

Liste des abréviations

- ABTS : L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
- AGMI : Acide gras mono-insaturé
- AGPI : Acide gras polyinsaturé
- AGS : Acide gras saturé
- BHT : Butyl-hydroxytoluène
- Cal BP: Datation au radio carbone des années avant le présent
- COI : Conseil Oléicole International
- CPG : Chromatographie en phase gazeuse
- DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
- ENPARD : Programme d'Actions Pilote pour le Développement Rural et l'Agriculture
- EMAG : Ester méthyliques d'acides gras
- FID : détecteur à ionisation de flamme
- FRAP : La capacité de réduction ferrique du plasma
- HOVE : Huile d'olive vierge extra
- HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance
- HRMS : Spectrométrie de masse à haute résolution
- IM : Indice de maturité
- IP : Indice de peroxyde
- ISE : Ionisation négative par électrospray
- ISO : Organisation Internationale de Standardisation
- ONACO : Office National de Commercialisation
- ONAPO : Office National des Produits Oléicoles
- OREPO : Office Régional des Produits Oléicoles
- SO : Stabilité oxydative
- UHPLC : Chromatographie en phase liquide ultra haute performance

Liste des figures

Figure 1 : Scénario sur l'histoire post-glaciaire des populations d'oléastre, de domestication primaire et diversification secondaire de l'olivier.	4
Figure 2 : presseur traditionnel à l'huile d'olive en Kabylie durant la période coloniale.....	6
Figure 3: pays producteur de l'huile d'olive.....	8
Figure 4 : Olivier cultivé.	9
Figure 5: Structure du fruit de l'olivier.	10
Figure 6: réaction d'estérification et d'hydrolyse des triglycérides	20
Figure 7 : structure des principaux acides gras de l'huile d'olive.	22
Figure 8 : structure du tyrosol et de hydroxytyrosol et de leur différents dérivés dans l'huile et dans le fruit.....	26
Figure 9: structure de certains acides phénoliques de l'huile d'olive.....	27
Figure 10: Structures des flavonoïdes majoritaire de l'huile d'olive.....	28
Figure 11: Structure du (+)-1-acétoxy-pinorésinol (1) et du (+)-pinorésinol (2).....	29
Figure 12 : Structure chimique des chlorophylles	31
Figure 13 : Structure du β -carotène et clivage enzymatique de la molécule pour donner deux molécules de vitamine A	32
Figure 14 : Différentes structures des tocophérols.....	33
Figure 15 : Structure du β -sitostérol	34
Figure 16: structure des composés volatils de l'huile d'olive	35
Figure 17: structure du squalène.....	36
Figure 18: différents type de broyeurs d'olive.	44
Figure 19 : Presse hydraulique.	46
Figure 20: Centrifugeuse horizontale	47
Figure 21 : Schémas montrant les principales étapes d'extraction d'huile d'olive	48
Figure 22: centrifugeuse verticale.	50
Figure 23: Oléodoseur.....	53
Figure 24 : Variation de la coloration de la pulpe et la chair de l'olive au cours de la maturation, et son influence sur la couleur de l'huile.	54
Figure 25: Coloration des olives au cours de la maturation.....	55
Figure 26 : Indices de maturité des olives de la variété Chemlal et Azeradj.....	61
Figure 27: Paramètre morphologique du fruit..	63
Figure 28 : Pourcentage de la matière sèche des olives des deux variétés.....	64
Figure 29: Teneur en acidité libre et en peroxyde des échantillons analysés.....	65
Figure 30: Variations de la teneur en K232 et K270 des huiles analysées.....	66

Figure 31 : composition en acides gras majeurs des huiles de Chemlal et Azeradj.	68
Figure 32 : profile en acides gras des huile de Chemlal et Azeradj.	70
Figure 33 : Teneur des principaux triglycérides de l'huile des deux variétés.	72
Figure 34 : profile en triglycérides des huile de Chemlal et Azeradj.	73
Figure 35 : Teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes des différentes échantillons d'huile.	74
Figure 36 : Stabilité oxydative des différents échantillons d'huile.	77
Figure 37 : analyse en composante principale (ACP).	79
Figure 38 : Carte de la zone d'échantillonnage.	84
Figure 39 : Indice de maturité des différents variétés étudiées	89
Figure 40 : graphes montant les variations des paramètres de qualité.	90
Figure 41 : composition en acide gras des différentes variétés.	93
Figure 42 : Teneur en pigment au cours la maturation	95
Figure 43 : Teneur en phénols totaux	96
Figure 44 :Chromatographes UHPLC des polyphénols de l'HOVE et les standards internes utilisés.	98
Figure 45 : histogrammes montant l'activité antioxydante des extraits d'huile d'olive.	102
Figure 46 : Analyse PCA sur les paramètres les plus importants de l'huile d'olive.	104

Liste des tableaux

Tableau 1 : Diversité de l'Olea europaea L.	12
Tableau 2 : Principales variétés d'olivier cultivées dans le monde	14
Tableau 3 : Normes commercial de classification des huiles d'olive vierges	18
Tableau 4 : Variation de la teneur en acides gras de l'huile d'olive	23
Tableau 5 : Informations sur l'échantillonnage et étiquetages.	52
Tableau 6 : Conditions chromatographiques utilisées pour l'identification de la composition en acides gras de l'huile d'olive.	57
Tableau 7 : Teneur en en antioxydants naturels de l'huile d'olive.	75
Tableau 8 : Pourcentage de contribution des facteurs étudiés et leur interaction sur les paramètres les plus importants de l'huile d'olive.	81
Tableau 9 : variation de la composition en acides gras au cours de la maturité.....	91
Tableau 10 : Résultats HRMS-ESI des composés sécoiridoïdes identifiés dans les échantillons d'huile d'olive.	98
Tableau 11 : teneur en sécoiridoïdes et biophénols totaux (mg TE/kg) des extraits d'HOVE.	100
Tableau 12 : Pourcentage de contribution des facteurs étudiés et de leur interaction sur les paramètres les plus importants des huile analysées.	107

Introduction générale

Introduction générale

Les lipides occupent une place importante dans les apports alimentaires, ils sont essentiels au développement et au fonctionnement du corps humain. La source et la qualité des lipides dans l'alimentation semblent avoir un impact majeur sur la santé humaine (Rondanini et *al.*, 2014). Ainsi, les régions méditerranéennes connues pour leur régime alimentaire riche en huile d'olive, présentent les plus faibles incidences en certaines maladies qualifiées de " maladie du siècle " dans le monde. La composition en acides gras de l'huile d'olive se distingue des autres huiles végétales par sa forte teneur en acides gras monoinsaturés au détriment des acides gras saturés. L'importance d'un ratio élevé d'acides gras monoinsaturés/saturés de l'huile d'olive dans les usages quotidiens a été corrélée à une faible incidence des maladies coronaires et du cancer (Guasch-Ferré et *al.*, 2019). D'autres études ont démontré son efficacité pour réduire l'apparition de nombreuses maladies chroniques, comme l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde et la stéatose hépatique non alcoolique (Casas et *al.*, 2018 ; Summerhill et *al.*, 2018 ; Valenzuela et Videla, 2020).

Par ailleurs, l'huile d'olive vierge extra (HOVE) reste un pur jus de fruit naturel résultant d'une simple extraction physique sans utilisation de solvants comme c'est le cas pour les huiles de graines (COI, 2019). Ce procédé d'extraction permet à l'huile d'olive de se distinguer par une teneur élevée en divers composés bioactifs, qui confèrent à cette huile une multitude de propriétés thérapeutiques et une qualité sensorielle authentique. Ses différentes qualités nutritionnelles et thérapeutiques sont dues principalement à sa teneur élevée en antioxydants naturels tels que les vitamines, les phytostérols, les pigments et particulièrement les composés phénoliques, communément appelés " polyphénols " (Singleton et Rossi, 1965, Bouarroudj et *al.*, 2016). L'HOVE contient une large gamme de composés phénoliques issus du métabolisme secondaire des plantes, comprenant des flavonoïdes (l'apigénine et la lutéoline), des alcools phénoliques (le tyrosol et l'hydroxytyrosol), des acides phénoliques (l'acide caféique et l'acide vanillique), et en particulier des sécoiridoïdes qui constituent la fraction la plus abondante (Baccouri et *al.*, 2008 ; Celano et *al.*, 2018).

Les vertus thérapeutiques des sécoiridoïdes de l'huile d'olive ont récemment été reconnues pour leur large activité biologique contre les maladies inflammatoires, le cancer et la maladie d'Alzheimer ; en particulier, l'oléocanthal et l'oléacein qui suscitent de plus en plus d'attention en raison de leurs propriétés pharmaceutiques et de leurs multiples activités

biologiques (Lozano-Castellón et al., 2020). Dérivés principalement de la dé-glycosylation de l'oleuropéine et du ligstroside présents dans les olives, la forme aglycone de l'oleuropéine et du ligstroside sont les sécoiridoïdes les plus abondants dans l'huile d'olive (Oliveras-López et al., 2007). Ces deux composés, définis comme des oleosides spécifiques aux Oléacées, sont sensibles à la dégradation chimique et enzymatique en raison des fonctions ester portées par la forme aglycone (Obied et al., 2007). Par ailleurs, l'activité et le comportement de ces enzymes, responsables de la détermination de la composition de l'huile d'olive sont, influencés par les différentes variations dans les conditions climatiques, la nutrition des arbres, le processus technologique, mais particulièrement le facteur génétique (Tura et al., 2007 ; Laincer et al., 2014 ; Guerrini et al., 2019 ; Mafrica et al., 2021). Ainsi, grâce à la diversité du patrimoine génétique et à l'expansion de la culture d'*Olea europaea* L. dans le monde, la production d'huile d'olive a été marquée par une grande variation de sa composition lipidique et non lipidique, due notamment à l'influence des multiples facteurs mentionnés précédemment.

L'objectif principal de la présente étude est de réaliser une caractérisation des huiles d'olive provenant des variétés dominantes du verger oléicole de Kabylie et de déterminer l'influence des facteurs agronomiques et géographiques sur la composition et la qualité des HOVE produites. Pour mener à bien cette étude, nous avons réparti notre travail en deux parties distinctes mais complémentaires :

La première partie est une synthèse bibliographique qui comprend un résumé et une analyse critique d'un ensemble d'ouvrages et d'articles scientifiques liés au thème, en utilisant des données ainsi qu'une bibliographie actuelle mettant l'accent sur l'huile d'olive, sa composition en molécules bioactives et les facteurs qui contribuent à façonner ses caractéristiques chimiques, sensorielles et nutritionnelles.

La deuxième partie de la thèse est consacrée à la recherche expérimentale qui comprend deux objectifs principaux :

- 1- Déterminer l'effet de la période de récolte et de l'altitude de la culture sur la variation de la pomologie des olives, la teneur en antioxydants et la qualité de l'huile d'olive obtenue à partir de deux variétés endémiques. Ce travail est réalisé en utilisant la technique de chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) afin de déterminer la composition en tocophérols, acides gras et triacylglycérols des cultivars *Chemlal* et *Azeradj*, une technique couramment utilisée dans la caractérisation moléculaire de l'huile d'olive ;

- 2- Déterminer l'influence du facteur génétique et de la période de la récolte sur la composition chimique et la teneur en composés phénoliques de l'huile d'olive. La recherche a été réalisée en utilisant des techniques de séparation par chromatographie liquide à ultra-haute pression (UHPLC), couplée à des systèmes de détection par photodiode (DAD) et de spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS), afin d'améliorer le temps de séparation, d'assurer une haute résolution et une large identification des composés bioactifs d'HOVE.

Ces deux objectifs ont été présentés dans deux chapitres IV et V de la partie expérimentale, respectivement. Chaque chapitre contient une partie dédiée aux différentes méthodes et techniques utilisées, et une autre consacrée aux analyses des résultats obtenus et à une discussion confrontée aux données de la littérature. La thèse se termine par une conclusion générale résumant les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Olivier et Oléiculture

1. Histoire et origine de l'olivier

1.1. Oléiculture dans le monde

L'olivier (*Olea europaea* L) est l'arbre le plus emblématique du bassin méditerranéen (Breton et al., 2008). L'oléiculture est parmi les plus anciennes et importantes arboricultures fruitières dans le monde. Des fossiles datant de l'ère tertiaire trouvés en Italie ont démontré l'existence d'un ancêtre de l'olivier il y a environ un million d'années (Kapellakis et al., 2008). Le nord du Levant, la région égéenne, l'Afrique du Nord et la péninsule ibérique ont été l'une des rares zones de refuge de l'olivier au cours de la dernière période glaciaire, il y a environ 120000 à 140000 ans (datation au C¹⁴). Ces zones refuges constituent de nos jours l'un des principaux foyers de diversification génétique de l'olivier dans le monde (figure 1).

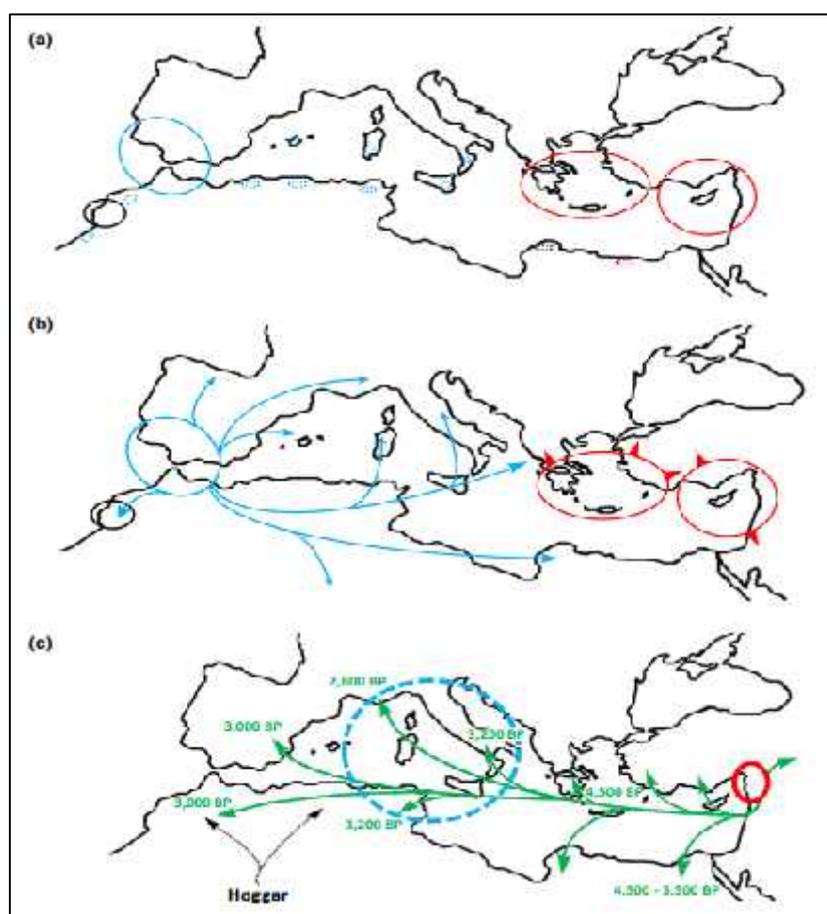


Figure 1 : Scénario sur l'histoire post-glaciaire des populations d'oléastre, de domestication primaire et diversification secondaire de l'olivier.

(a) Les cercles représentent les zones de persistance des populations d'oléastre dans les refuges pendant le dernier maximum glaciaire. Les cercles bleu et rouge correspondent aux régions principales de refuge. Les cercles avec les petits pointillés correspondent aux micro-refuges isolés dans la méditerranée. (b) Diffusion post-glaciaire des populations d'oléastre dans tout le bassin méditerranéen et le Hoggar. (c) Le cercle rouge indique la région de domestication initiale dans le nord du Levant au cours de l'Holocène. Les flèches vertes indiquent la diffusion ultérieure de la culture dans l'ensemble du bassin méditerranéen (Besnard, Guillaume, et Casas, 2016).

Beaucoup de mystères entourent l'histoire de l'olivier qui demeure à ce jour incomplète. En effet, certains détails font encore l'objet de controverses, concernant l'origine de la culture, le début de sa domestication et l'histoire de son utilisation (Besnard *et al.*, 2013). Néanmoins, la plupart des chercheurs du domaine (Breton *et al.*, 2008; Terral *et al.*, 2009; Besnard *et al.*, 2013) considèrent que le berceau de la domestication primaire de l'olivier a vu le jour il y a environ 6 000 ans au nord-est du Levant (Irak, Syrie, Palestine....), où ses populations contiennent actuellement une importante diversité génétique ; et que la diffusion de sa culture d'est en ouest du bassin méditerranéen (caractérisée par la propagation végétative des meilleurs génotypes cultivés) est parallèle à l'expansion des civilisations, migration humaine et aux échanges économiques qui caractérisent les civilisations protohistoriques et antiques de cette région du monde (Phéniciens, Etrusques, Grecs et Romains). La culture de l'olivier a été associée dès l'antiquité à des croyances et symboles comme la paix, sagesse, prospérité et longévité (Terral *et al.*, 2009).

Les Phéniciens ont été les premiers à diffuser la culture de l'olivier dans les régions occidentales de la méditerranée, en faisant du commerce de l'huile d'olive vers d'autres villes portuaires de Tunisie (Carthage, il y a environ 3200 ans av.JC), Libye et la Grèce... (Kapellakis *et al.*, 2008). L'introduction de la culture d'olivier en Afrique du nord a probablement permis un brassage génétique secondaire entre oliviers domestiques et sauvages au niveau local, ce qui a pu faciliter la diversification secondaire de l'olivier, et a certainement pu contribuer à l'émergence de nouvelles variétés locales (figure 1a) (Besnard, Guillaume, et Casas, 2016). Par ailleurs, l'aire de répartition de l'olivier est considérée comme le meilleur indicateur biologique du climat méditerranéen. Cependant, en raison de l'intérêt économique et nutritionnel de la production oléicole, l'olivier se trouve aujourd'hui cultivé en dehors de sa zone de culture traditionnelle, notamment avec les nouvelles plantations situées dans le continent Australien et Américain (Breton *et al.*, 2008). Ainsi, l'aire de culture de l'olivier s'est élargie à plusieurs pays situés particulièrement entre les latitudes 30 et 45 des deux hémisphères. Cependant, les pays du bassin méditerranéen restent de loin les plus grands producteurs d'olive dans le monde, avec plus de 90 % de la surface oléicole mondiale (COI, 2020a).

1.2. Oléiculture en Algérie

L'Algérie comme tout le nord-africain a été pour longtemps une zone refuge de l'olivier au cours de la dernière ère glaciaire. A cette époque, l'olivier a presque disparu sur la rive nord

de la méditerranée, à l'exception de quelques zones comme le sud de l'Espagne et d'Italie (Besnard *et al.*, 2013). La découverte en 1957 dans les montagnes du Tassili, dans le Hoggar, des gravures rupestres datant du second millénaire avant J.-C., illustrant des hommes couronnés de rameaux d'olivier, témoigne d'une connaissance ancestrale de l'olivier par les populations locales (COI, 1998).



Figure 2 : Pressoir traditionnel à l'huile d'olive en Kabylie durant la période coloniale (Martin, 1939).

L'histoire de l'oléiculture dans cette région est profondément liée à son passé colonial. Ainsi, la répartition géographique des populations d'oliviers cultivés et sauvages en Algérie a été fortement façonnée par les différentes invasions et colonisations survenues à des moments distincts de son histoire. Les Phéniciens ont été parmi les premiers à développer la culture de l'olivier en Afrique du Nord, grâce notamment à l'installation et à la multiplication de routes commerciales de l'huile d'olive dans la région. Puis l'oléiculture a connu un grand essor, lors des invasions romaines, par la mise en place de nouvelles terres oléicoles, notamment dans les régions côtières de l'Algérie, destinées à alimenter Rome en huile d'olive. Cette période est également connue pour le développement des technologies d'extraction de l'huile ainsi que pour la construction de plusieurs moulins à huile dans les différentes zones oléicoles (Mendil et Sebri 2006 ; Kapellakis *et al.*, 2008).

Durant la période de la colonisation française, l'agriculture de montagne dominée par l'oléiculture (figure 2), qui constituait la première source de graisses pour la population locale, a été marquée par une rupture du mode de vie traditionnel et artisanal (Doufene, 2007). Le développement de l'oléiculture s'est fait par l'extension de la culture d'olives de table, avec de nouvelles installations dans l'ouest du pays. La variété "Sigoise" a été massivement implantée dans les wilayas d'Oran et de Mascara, notamment dans la région de Sig, pour alimenter un marché de plus en plus demandeur de cette matière (Mendil et Sbari, 2006).

Après son indépendance, l'Algérie s'est engagée dans l'augmentation des surfaces agricoles destinées à la culture de l'olivier et au développement de la filière oléicole, en particulier avec l'installation de plusieurs offices régionaux et nationaux (ONACO, ONACPO, OREPO...). Cette période est connue plus particulièrement par la modernisation des systèmes d'extraction de l'huile, qui étaient des systèmes traditionnels dont la capacité de trituration était insuffisante pour répondre à la demande croissante (Mendil et *al.*, 2009).

Aujourd'hui, l'Algérie est l'un des principaux pays producteurs d'huile d'olive dans le monde (COI, 2020). L'intérêt international pour la production oléicole de ces dernières années a encouragé le pays à initier un plan de développement de la filière, orienté vers la quantité et la qualité. En 2018, la superficie occupée par les oliviers a atteint près un demi-million d'hectares avec 35 millions d'oliviers. La production d'olives est estimée à 6 969 615 qx, dont la majeure partie est destinée à l'extraction de l'huile d'olive (4.751.198 qx) (ENPARD, 2018).

L'oliveraie algérienne est caractérisée par une large diversité de variétés endémiques qui se distinguent notamment par une grande adaptation aux conditions pédoclimatiques arides et semi-arides des différentes régions du pays. A ce jour, plusieurs défis restent à relever, particulièrement en ce qui concerne l'amélioration de la qualité de l'huile d'olive, notamment à travers la production d'une huile d'olive conforme aux normes internationales, afin de permettre à la production oléicole algérienne d'intégrer davantage le marché international qui est exigeant en termes de qualité.

2. Importance économique de l'olivier

Environ 70 % de la production mondiale d'huile d'olive se concentre principalement dans les pays méditerranéens, notamment en Espagne, Turquie, Grèce, Italie, Maroc, Algérie et Tunisie. L'union européenne reste le plus grand producteur, tout en étant le plus grand consommateur de l'huile d'olive dans le monde, avec une consommation qui atteint la moitié de la consommation de l'huile d'olive mondiale (COI, 2020b). toutefois, en raison de l'intérêt croissant pour les polyphénols dans l'alimentation et une demande mondiale croissante, l'huile d'olive est également produite dans d'autres parties du monde, notamment en Australie et aux États-Unis (Foscolou et al., 2018).

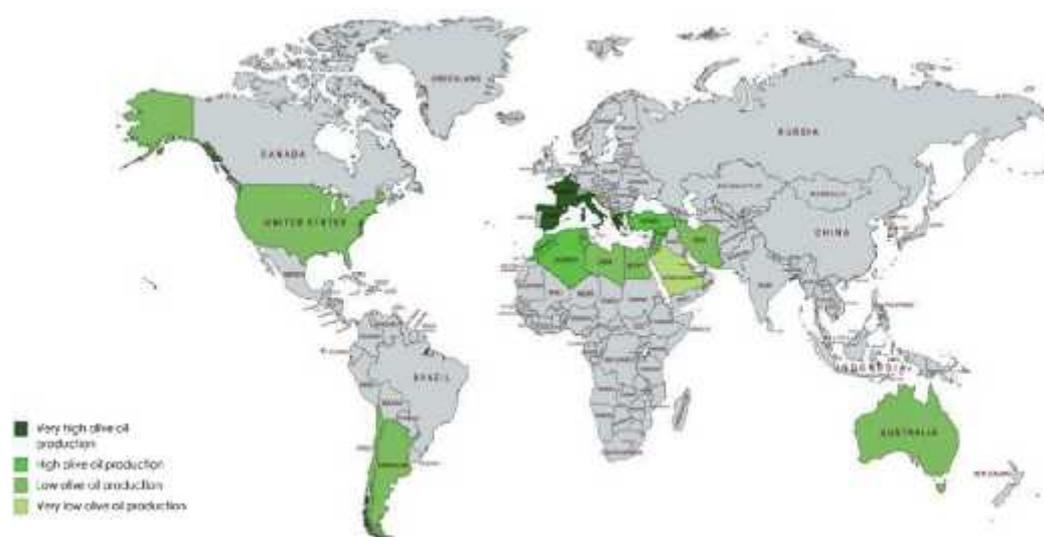


Figure 3: pays producteur de l'huile d'olive

Production très faible : 0,1k à 5k tonnes/an, faible : 5k à 50k tonnes/an, élevée : 50k à 250k tonnes/an, très élevée : 250k + tonnes/an.

L'Algérie est considérée comme un grand pays producteur des produits de l'olivier (Figure 3) ; sa culture a une grande importance économique, sociale et environnementale pour nombreuses régions du pays. Durant la campagne oléicole 2019/2020 la production d'huile d'olive en Algérie atteint environ 82 500 tonnes, soit 2% de la production mondiale et une augmentation de 27 % par rapport à la campagne de 2017. Cette augmentation est due probablement à l'entrée en production des nouvelles plantations réalisées dans le cadre du projet rural et agricole 2010/2014, consacré à la plantation d'un million d'oliviers. Avec une superficie de près 500 000 hectares consacrée à la culture des oliviers, l'Algérie est classée troisième pays producteur d'huile d'olive dans l'Afrique du Nord. Par ailleurs, la plupart des

vergers oléicoles du pays sont conduits selon des systèmes extensifs et semi-intensifs, et en régime pluviale, seuls 150 000 ha sont cultivés en système irrigué.

L'Algérie est également l'un des plus grands consommateurs des produits de l'olivier, dont l'essentiel de sa production en huile d'olive est destinée à la consommation locale. En 2020, elle est passée troisième (après l'Égypte et la Turquie) dans la consommation mondiale d'olive de table, avec environ 303 000 tonnes/an, et deuxième dans la consommation annuelle avec 7,1 kg par habitant (COI, 2020a ; COI, 2020b).

3. Description botanique de l'olivier

L'olivier est un arbre typique de la région méditerranéenne. C'est un arbre rustique qui s'adapte bien aux zones sèches et aux sols pauvres et salins. Cependant, il craint les sols humides et les températures froides notamment en cas de gelée. Ses feuilles sont persistantes, vertes et allongées, leur face inférieure est protégée par un duvet qui limite l'évapotranspiration durant les périodes de fortes chaleurs. Les oliviers peuvent mesurer plus de 10 mètres de hauteur avec un tronc rugueux qui peut atteindre 2m de diamètre. La pollinisation est assurée généralement par le vent, qui transporte le pollen sur de longues distances. La multiplication de l'olivier se fait généralement par voie végétative comme pour beaucoup d'arbres fruitiers (Loussert et Brousse, 1978).



Figure 4 : Olivier cultivé.

La forme sauvage (*sylvestris*) est un arbre arborescent ou buissonnant, caractéristique des régions méditerranéennes. Elle est connue pour être la principale espèce caractérisant les forêts du bassin, en effet, elle est considérée par de nombreux auteurs comme un arbre forestier (Baldoni et *al.*, 2006). La distinction entre oliviers cultivés et sauvages a longtemps été basée sur les caractéristiques phénotypiques et morphologiques, de sorte que les arbres sauvages sont généralement définis comme présentant des fuites de petite taille (Ganino et *al.*, 2006). Cependant, certaines variétés modernes choisies par rapport à leur teneur en huile et richesse en antioxydants naturels sont caractérisées par des olives de petite taille, ce qui met en doute l'ancienne classification basée sur les caractères morphologiques et agronomiques. En conséquence, le recours vers une identification moléculaire devient une grande nécessité (Chiappetta et Muzzalupo, 2012).

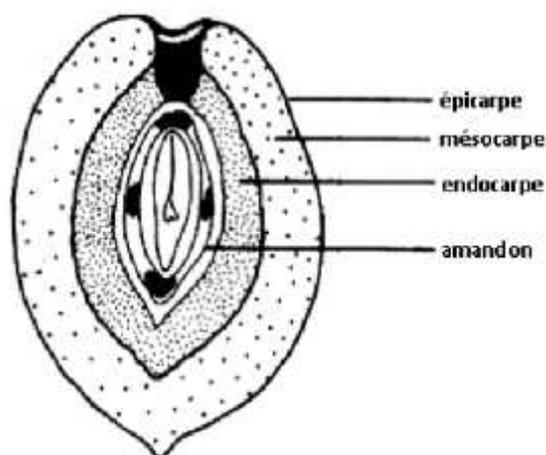


Figure 5: Structure du fruit de l'olivier (Maymone et *al.*,1961).

Le fruit de l'olivier (olive) est une drupe charnue caractérisée par l'épicarpe (peau), un mésocarpe (chair molle et pulpeuse) représentant 84 à 90% de sa masse, et l'endocarpe (noyau) renfermant la graine, qui représentent environ 13 à 23% et 2 à 3% de la masse totale, respectivement (figure 5) (Ryan et Robards, 1998). Les olives contiennent généralement 50-60% d'eau, environ 15-30 % d'huile et des matières solides à hauteur de 45-60%. Contrairement aux autres espèces végétales, la majorité de l'huile dans l'olive est localisée dans la pulpe, alors que le noyau de l'olive contient une faible teneur en huile de 0,7% (Mele et *al.*, 2018 ; Di Giacomo et Roman, 2022).

4. Classification botanique

L'olivier (*Olea europaea* L), cet arbre ligneux et fruitier est classé dans la famille des Oleaceae, dans la sous-famille des Oleoideae et la tribu des Oleae (Wallander et Albert, 2000). De récentes études phylogénétiques (Van de Paer et *al.*, 2018 ; Dupin et *al.*, 2020) basées sur les informations génétiques des fragments d'ADN mitochondrial, ARN ribosomal et des séquences codantes des plasmides, ont montré la grande diversité de la famille de l'olivier, qui contient environ 700 espèces regroupées dans 28 genres différents, caractérisée par une large répartition géographique et adaptée aux régions tempérées au nord et aux régions subtropicales au sud ainsi qu'aux basses et hautes altitudes.

La plupart des espèces représentées par cette famille ont une importance économique et écologique majeure (oliviers, les troènes, les forsythias, les frênes, les jasmins et les lilas), comprenant des plantes ornementales, médicinales, oléagineuses et d'autres produisent du bois ou même des épices. L'olivier est classé par Chiappetta et Muzzalupo (2012) comme suit :

- Règne	Plantea
- Embranchement	Magnoliophyta
- Classe	Rosopsida
- Ordre	Lamiales
- Famille	Oleaceae
- Sous-Famille	Oleideae
- Genre	<i>Olea</i>
- Espèce	<i>Olea europaea</i> L

L'espèce *Olea europaea* L, elle-même, renferme une importante diversité génétique et phénotypique, retrouvée à travers différentes sous-espèces, réparties sur une large zone géographique (Afrique, Europe et Asie). La classification des sous-espèces de l'olivier, définie par Besnard et al. (2002), est indiquée dans le tableau 1. Les populations sauvages (*var. sylvestris*) et cultivées (*var. europaea*) de la sous-espèce *Europaea* sont les plus abondantes et représentatives du complexe *Olea europaea*; à ce sujet, l'espèce *Olea europaea* L a longtemps été subdivisée en ces deux sous-espèces. Les récentes études génétiques ont montré que cette subdivision est obsolète, et qu'il existe au moins trois autres sous-espèces : *Olea europaea* ssp. *laperrinei*, *Olea europaea* ssp. *cerasiformis* et *Olea europaea* ssp. *cuspidata* (Breton, 2006).

Tableau 1 : Diversité de l'*Olea europaea* L (Besnard *et al.* (2002).

Sous-espèce	Localisation géographique
1 - <i>Olea europaea</i> Linné. ssp. <i>europaea</i> :	
a - var <i>sylvestris</i> ; (Miller) Lehr. = Oléastre	Bassin méditerranéen
b - var <i>europaea</i> = cultivars	Bassin méditerranéen
2 - <i>Olea europaea</i> ssp. <i>laperrinei</i> ; (Batt. & Trab.) Ciferri	
a - <i>O. laperrinei</i> Batt. & Trab	Massifs du Sahara central
b - <i>O. maroccana</i> Greut. & Burd.	Atlas Marocain
3 - <i>Olea europaea</i> ssp. <i>cerasiformis</i> (Webb & Berth.) Kunk. & Sund.	
a - <i>O. cerasiformis</i> Webb & Berth	Îles des Canaries
b - <i>O. maderensis</i> Lowe	Îles de Madère
4 - <i>Olea europaea</i> ssp. <i>cuspidata</i> (Wall.) Ciferri	
a- <i>O. cuspidata</i> Wall.	Asie
b- <i>O. chrysophylla</i> Lam.	Péninsule arabe et Ethiopie
c- <i>O. africana</i> Mill.	L'Est et le sud d'Afrique

Deux sous-espèces de l'olivier ont été recensées en Algérie, *Olea europaea* L. ssp. *europaea* et *Olea europaea* ssp. *laperrinei* (Baali-Cherif et Besnard, 2005). Cette dernière est une sous-espèce menacée et en voie de disparition, endémique des régions montagneuses du Sahara central. Les populations de ce taxon préfèrent les falaises et altitudes élevées (1400-2800 m) des montagnes sahariennes, caractéristiques du Hoggar, du Mouyedir et du Tassili n'Ajjer en Algérie. Grâce sa résistance à la sécheresse, et son adaptation aux conditions climatiques extrêmes, L'olivier de *laperrinei*, pourrait être utilisé comme porte greffe pour les variétés d'oliviers cultivés du Nord de l'Algérie. (Baali-Cerif *et al.*, 2007).

5. Cycle végétatif annuel

Le cycle végétatif de l'olivier comprend généralement une période de repos végétatif, de floraison, de grossissement et de maturation des fruits. Le cycle de l'olivier se caractérise par une floraison bisannuelle, de sorte que les rameaux qui se développent au cours de l'année ne produiront des fleurs, puis des fruits que l'année suivante.

Les différents stades du cycle végétatif de l'olivier sont présentés ci-dessous :

Repos hivernal : Le repos végétatif commence généralement en novembre et se termine en février, caractérisé par un ralentissement de l'activité végétative de l'arbre. L'olivier profite de cette période pour constituer les réserves d'hydrocarbures nécessaires au lancement de la prochaine saison de floraison. Le cumul du froid enregistré durant cette période va favoriser l'initiation florale des bourgeons, par le phénomène de vernalisation.



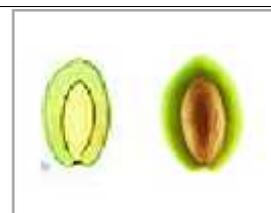
Réveil végétatif : Elle se déroule durant la période de mars à avril. Cette étape est caractérisée par l'apparition de nouveaux bourgeons axillaires et l'accroissement des pousses terminales. Le développement des bourgeons produira soit des jeunes pousses, soit des grappes de fleurs.



La floraison : Les inflorescences se développent, au fur et à mesure que la température printanière s'adoucit, et que les jours s'allongent. Cette étape aura lieu généralement en mai –juin.



Durcissement du noyau : Se déroule durant la période estivale (juillet –août), elle est caractérisée par un durcissement progressif de l'endocarpe (noyau).



Grossissement du fruit : Le début du développement des fruits commence généralement en juin. Les olives grossissent de manière exponentielle jusqu'au début de la maturation (septembre), marquée par un ralentissement de ce processus.



La véraison : le début de véraison dépend de la variété, de la saison, de la zone géographique et de la charge de l'arbre. Cette période est caractérisée par une succession de changements importants dans la composition physique et chimique des olives (COI, 2011 ; ITAF, 2012).



6. Les variétés de l'olivier

Le patrimoine génétique de l'olivier cultivé est caractérisé par une grande richesse variétale, en effet, on dénombre plus de 2000 variétés d'oliviers dans le monde (Emmanouilidou, Kyriacou et Trujillo, 2018). Selon les caractéristiques morphologiques du fruit, la production des variétés d'oliviers cultivées a été séparée en trois destinations : huile d'olive, olive de table et à double fin (Tableau 2). Par ailleurs, le développement de systèmes de plus en plus intensifs et l'installation de l'olivier dans d'autres régions du monde (situées en dehors des zones de cultures traditionnelles du bassin méditerranéen) ont accentué la demande sur certaines variétés répondant à des critères bien particuliers. Ces dernières sont plus adaptées aux vergers modernes et à la mécanisation, et caractérisées par une entrée rapide en production et des rendements élevés en olives et en huile, telle que la variété Arbiquina et Arbosana (Benito et al., 2013).

Tableau 2 : Principales variétés d'olivier cultivées dans le monde (COI, 2006).

Pays	Variétés dominantes
Espagne	<i>Picual</i> , <i>Cornicabra</i> , <i>Hojibianca</i> , <i>Gordal</i> , <i>Manzanilla</i>
Italie	<i>Ascolona</i> , <i>Tenera</i> , <i>Frantoio</i> , <i>Leccino</i> , <i>Moraiolo</i>
Grèce	<i>Koroneiki</i> , <i>Mastoidis</i> , <i>Conserviola</i> , <i>Kalamata</i>
Portugal	<i>Verdal</i> , <i>Carrasquenha</i> , <i>Galega</i> , <i>Redonli</i>
France	<i>Sabina</i> , <i>Verdale</i> , <i>Picholine</i> , <i>Tanche</i> , <i>Lucques</i>
Turquie	<i>Ayvalik</i> , <i>Cakir</i> , <i>Gemlik</i>
Syrie	<i>Sorani</i> , <i>Zaiti</i>
Maroc	<i>Picholine marocaine</i>
Algérie	<i>Chemlal</i> , <i>Limli</i> , <i>Azeradj</i> , <i>Sigoise</i>
Tunisie	<i>Chemlali</i> , <i>Chetoui</i> , <i>Ouslati</i> , <i>Meski</i>

Les différentes couleurs indiquent la destination des variétés : Rouge (variété à l'huile), Vert (double fin) et Bleu (olive de table).

Chemlal est la variété d'olivier la plus cultivée en Algérie, où elle représente environ 40% de la surface oléicole du pays. Cette variété est cultivée essentiellement dans la région de Kabylie (Tizi Ouzou, Bejaia et Bouira). Les arbres de cette variété sont très vigoureux, sphériques et de grandes dimensions, et caractérisés par une grande adaptation aux hautes

altitudes et aux sols pauvres et accidentés, caractéristiques des montagnes du pays. Les fruits sont de petite calibre et représentent un poids moyen de 2,5 g. Ces derniers sont destinés spécialement à la production d'huile, dont le rendement varie entre 16 et 18%. (ITAF, 2012 ; Di Rienzo et *al.*, 2018). *Chemlal* est réputée pour produire une huile qui se caractérise par un goût doux (dû généralement à sa faible teneur en composés phénoliques) très prisé par la population locale. Cette variété rustique, tardive et autostérile (mâle stérile), est toujours associée à d'autres variétés afin d'assurer sa pollinisation, comme *Azeradj* et *Sigoise*. Par ailleurs, en Kabylie, la pollinisation est également assurée par les populations sauvages d'olivier (Oléastre) qui dominent dans cette région (Terral et *al.*, 2004).

7. Les produits oléicoles

7.1. Olives de table

L'olive de table est l'un des principaux produits préparés à partir de fruits de l'olivier. L'Espagne est le premier pays producteur et exportateur d'olives de table dans le monde (COI, 2020a). Les fruits destinés à la production d'olives de table proviennent généralement de variétés d'olivier à gros fruit, telle que la variété algérienne *Sigoise*. La production d'olives de table est basée sur un processus relativement simple, comprenant une désamérisation et une fermentation lactique. En général, toute méthode de transformation vise à éliminer l'amertume naturelle du fruit, causée en particulier par une forte teneur en polyphénols (Bevilacqua et *al.*, 2015).

7.2. L'huile d'olive

C'est l'un des aliments de base du régime méditerranéen et l'une des principales sources de matières grasses pour la population locale. L'huile d'olive est une huile végétale qui est obtenue à partir de pâte d'olives malaxées, uniquement par des moyens mécaniques. Ainsi, le jus de fruit produit à partir d'olives monovariétales ou mixtes, peut être comestible immédiatement après l'extraction, à condition que les olives soient bien saines et de bonne qualité. Grâce à l'extraction mécanique, l'huile d'olive contrairement à l'huile de graine, se caractérise par une multitude de saveurs et d'arômes caractéristiques, et une grande richesse en antioxydants naturels. Par ailleurs, en évitant l'étape du raffinage, l'huile s'enrichit d'une

panoplie de molécules bioactives issues du fruit, aux multiples vertus thérapeutiques et nutritionnelles (COI, 2019).

8. Les sous-produits oléicoles

8.1. Le grignon d'olives

Le grignon est un résidu solide issu du processus de trituration des olives. Il est constitué d'un mélange de noyaux broyés (11-30%), de pulpe et de peau d'olive (70-90%). Selon le système d'extraction utilisé, un quintal d'olive trituré produit entre 30 à 60 Kg de grignon (Moral & Méndez, 2006 ; Tsagaraki, Lazarides, et Petrotos, 2007). Le grignon brut contient aussi une petite quantité d'huile qui peut être récupérée par extraction au solvant (hexane), afin d'obtenir une huile appelée « l'huile de grignon d'olives ». La teneur en huile et en eau des grignons dépend principalement du système d'extraction. En effet, le décanteur à deux phases est réputé pour produire un grignon humide, avec des teneurs plus importantes en eau et en huile résiduelle ; tandis que les systèmes à trois phases et à presse produisent des grignons plus ou moins secs.

Le grignon d'olives peut être valorisé de différentes manières. La plupart du temps il est utilisé autant qu'une source d'énergie, notamment pour le chauffage de l'eau des huileries. Il est aussi utilisé pour la fabrication du charbon actif, et comme aliment de bétail. En agriculture, le grignon d'olives traité peut être utilisé comme amendement organique à certaines cultures (arboriculture et fourragère), en fournissant les macro et micro éléments nécessaires à la croissance des plantes (COI, 2011 ; Di fonzo *et al.*, 2021).

8.2. Les margines

Eau de végétation issue du processus d'extraction d'huile, cet effluent constitue jusqu'à 50% du poids total des fruits. La quantité de marge produite dépend de nombreux facteurs tels que le stade de maturité des olives, l'origine géographique, les conditions climatiques, les techniques culturales, et particulièrement la méthode d'extraction de l'huile. Ces effluents des huileries contiennent une large gamme de composés hautement phytotoxiques et inhibiteurs de la plupart des micro-organismes. Cela est dû notamment à une concentration élevée en matières solides (20 g/L), une charge organique très élevée (la demande chimique en oxygène (DCO) varie généralement de 50 à 150 g/L), un pH acide compris entre 3 et 5.9, et une forte teneur en

polyphénols qui dépasse les 80 g/L (Paraskeva et Diamadopoulos, 2006 ; Tsagaraki, Lazarides, et Petrotos, 2007). En Algérie, comme dans certains pays méditerranéens, les effluents des huileries sont déversés directement dans les oueds et les rivières ; avec une production annuelle comprise entre 7 et plus de 30 millions de m³, les margines créent ainsi un problème environnemental majeur dans les pays méditerranéens. Malgré leur toxicité, les effluents peuvent être utilisés dans la fertilisation des sols et la production de champignons comestibles, une fois que la fraction phénolique est éliminée. Par ailleurs, grâce à leur composition riche en sucres, en acides volatils, en polyalcools et en huile, et pauvre en azote, les margines constituent un substrat idéal pour la fabrication d'enzymes et de biocarburant, tels que biohydrogène, le biométhane et le bioéthanol (Dermeche et al., 2013).

8.3. Les feuilles d'olivier

Elles sont générées au moment de la taille des arbres et en amont de la chaîne de trituration des olives lors de l'étape d'effeuillage et de lavage des olives. Les feuilles d'olivier représentent environ 10 % de la matière première envoyée à l'huilerie (Di fonzo et al., 2021). C'est une matière première bon marché, disponible en grande quantité, qui renferme de précieux composés bioactifs aux multiples propriétés thérapeutiques et cosmétiques. Ainsi, en raison de leur forte concentration en polyphénols, les extraits de feuilles ont un grand potentiel en tant qu'agents antioxydants, anticarcinogènes, anti-inflammatoires et antihypertenseurs. Plus encore, les propriétés antioxydantes des extraits de feuilles peuvent être utilisés comme une alternative aux antioxydants industriels utilisés pour la conservation de plusieurs produits alimentaires (Hammouda et al., 2020).

Chapitre II

Qualité et composition de l'huile d'olive

1. Critères de qualité et classification de l'huile d'olive

L'huile d'olive est considérée comme un pur jus de fruit. Elle est obtenue uniquement à partir d'une extraction mécanique et physique du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.), excluant les huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et tout mélange avec des huiles d'autre nature (COI, 2019). En évitant le processus de raffinage opéré sur huiles de graines, l'huile d'olive s'enrichit d'une large gamme de composés naturels provenant directement des différentes parties du fruit (peau, pulpe et noyau). Ces composés lui confèrent une grande valeur nutritionnelle, une stabilité oxydative et des caractéristiques organoleptiques très particulières.

Selon le conseil oléicole international (2019), la qualité de l'huile d'olive peut être définie en s'appuyant sur des paramètres tels que la teneur en acides gras libres (A%), l'indice de peroxyde (IP), les coefficients d'extinction spécifique UV (K232 et K270) et la note sensorielle (Gharbi et *al.*, 2015). En outre, l'huile d'olive est classée en différentes catégories commerciales en se basant notamment sur la quantité d'acides gras libres, indiquant ainsi l'état de fraîcheur de l'huile (Tableau 3).

Tableau 3: Normes commerciales pour classification des huiles d'olive vierges (COI, 2019).

	Acidité libre (%)	Indice de peroxyde (meq d'O ₂ /kg)	Absorbance dans ultraviolet		Teneur en eau et en matières volatiles %m/m	Caractéristiques organoleptiques	
			à 270 nm	à 232 nm		Médiane du défaut	Médiane du fruité
Huile d'olive vierge extra	≤ 0,8	≤ 20	≤ 0,22	≤ 2,5	≤ 0,2	Me = 0	Me > 0
Huile d'olive vierge	≤ 2,0	≤ 20	≤ 0,25	≤ 2,6	≤ 0,2	0 < Me < 3,5	Me > 0
Huile d'olive vierge courante	≤ 3,3	≤ 20	≤ 0,30		≤ 0,2	3,5 < Me < 6,0	
Huile d'olive vierge lampante	> 3,3	Non limité			≤ 0,3	Me > 6,0	
Huile d'olive raffinée	≤ 0,3	≤ 5	1,1		≤ 0,1		

Les principales classes d'huile d'olive vierge sont définies comme suit :

- **L'huile d'olive vierge extra** : l'acidité libre de ces huiles (exprimée en pourcentage d'acide oléique libre) ne doit pas dépasser 0,8% et dont les autres paramètres, comme les valeurs de peroxyde et la qualité sensorielle, correspondent à celles fixées pour cette catégorie.
- **L'huile d'olive vierge** : Ces huiles sont caractérisées par une acidité libre inférieure à 2% et dont les caractéristiques organoleptiques et les autres paramètres respectent les normes fixées pour cette catégorie.
- **L'huile d'olive vierge courante** : Ce sont des huiles d'olive un peu dégradés mais qui restent propres à la consommation, dont l'acidité libre ne dépasse pas les 3,3 % et les autres paramètres de qualité suivent la norme établie pour cette catégorie.
- **L'huile d'olive vierge Lampante** : c'est une huile qui a subi une forte dégradation, dénommée huile d'olive vierge lampante en se référant aux huiles de lampe. Elle est non propre à la consommation en l'état, et destinée généralement aux industries du raffinage ou à des usages techniques. C'est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre est supérieure à 3,3% dont les caractéristiques sensorielles et les autres paramètres correspondent aux normes fixées (COI, 2019).

2. Les composés bioactifs de l'huile d'olive

L'huile d'olive est considérée comme une source de matière grasse naturelle, saine et équilibrée. En plus de son apport énergétique élevé dans l'alimentation, l'huile extraite du fruit de l'olivier est très riche en composés naturels et bioactifs offrant une multitude de bienfaits pour le corps humain. L'huile d'olive est riche en acides gras mono-insaturés et poly-insaturés (AGMI et AGPI), en squalène, en phytostérols, en acides triterpéniques, en pigments, en tocophérols et notamment en polyphénols ; qui sont particulièrement connus pour leurs grandes valeurs nutritionnelles, thérapeutiques et sensorielles (Piroddi et *al.*, 2017). Ainsi, une cuillère à soupe d'huile d'olive contient généralement une valeur énergétique de 119 kcal, 13,5 g de matière grasse dont 10 g sont des acides gras mono-insaturés, et des vitamines avec 1,9 mg de

vitamine E et 8,1 µg de vitamine K (Pehrsson et Haytowitz, 2016). La composition majeure et mineure de l'huile d'olive sont détaillées dans la partie suivante.

2.1. Fraction majeure

2.1.1. Les triglycérides

Comme toutes les autres huiles végétales, l'huile d'olive est constituée essentiellement de triglycérides, qui représente environ 98-99 % de la composition de l'huile. Cette fraction principale est également considérée comme la fraction saponifiable de l'huile d'olive, en raison de sa capacité à former du savon au contact de la potasse et de la soude. Un triglycéride est formé de trois acides gras liés à une molécule de glycérol par des liaisons ester (estérification). Il existe une grande diversité dans les triglycérides en raison des différentes combinaisons d'acides gras qui se lient aux trois sites de liaison du glycérol (figure 6). La composition en triacylglycérols varie en fonction de la variété, l'origine géographique, les techniques culturales et de la maturité des olives (Beltrán et *al.*, 2004; Bengana et *al.*, 2013).

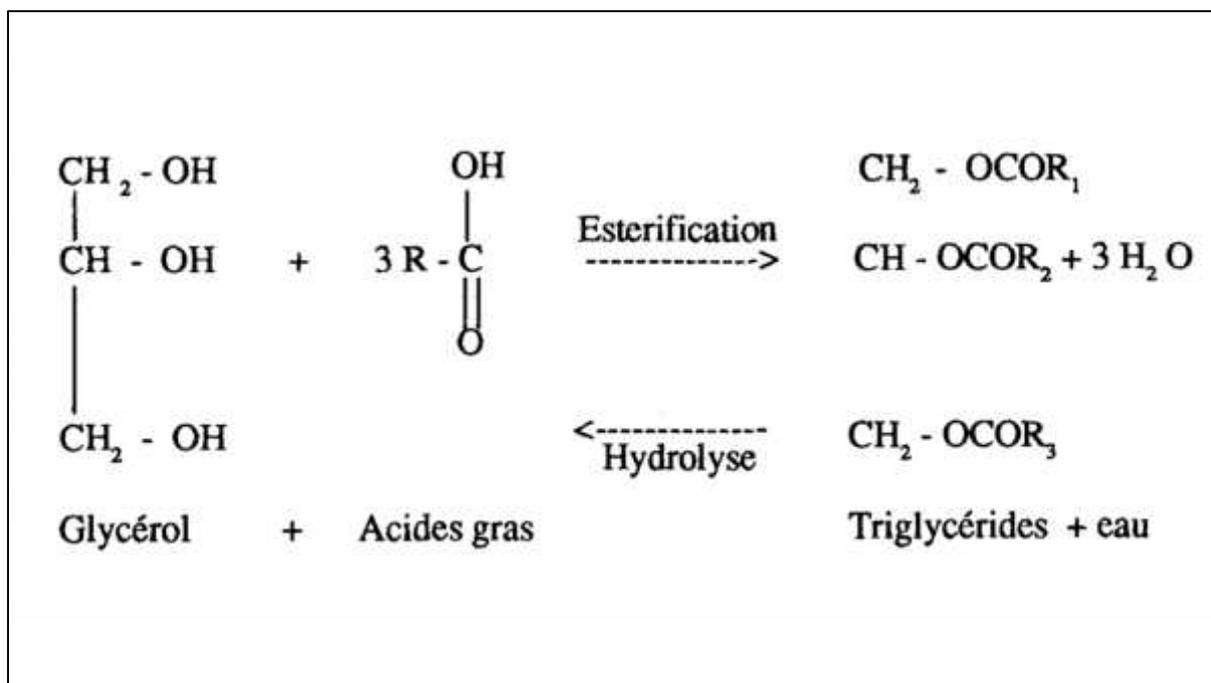


Figure 6: Réaction d'estérification et d'hydrolyse des triglycérides (Koh et Ghazi, 2011).

La trioléine (OOO) est le triglycéride majoritaire dans l'huile d'olive, avec un pourcentage qui varie entre 40 et 59%. Ce dernier est formé principalement de trois acides oléiques (C18 : 1) qui constituent par ailleurs le principal acide gras de l'huile. L'huile d'olive

se compose également de d'autres triglycérides telle que la dioléopalmitine « POO » (12 à 20 %), la dioléolinoléine « OOL » (12.5 à 20 %), la palmitooléolinoléine « POL » (5.5 à 7 %) et la dioléostéarine « SOO » (3 à 7 %). Les autres triglycérides POP, POS, OLnL, LOL, OLnO, PLL, PLnO et LLL sont présents en très faibles quantités, où le O = acide Oléique, P= acide palmitique, S = acide stéarique et L = acide linoléique. La composition en triglycérides de l'huile d'olive est dépendante de la variation des différents facteurs agronomiques, génétiques et climatiques (Bengana et *al.*, 2013; De Mendoza et *al.*, 2013; Yorulmaz et *al.*, 2014).

Dans cette fraction saponifiable on peut trouver également dans l'huile d'olive, des diglycérides qui représentent environ 1-2.8 %, des mono-glycérides avec une teneur inférieure à 0,25% et des acides gras libres avec une concentration 0.8 %. La présence de cette fraction est due soit à une hydrolyse partielle et/ou une biosynthèse incomplète des triglycérides (Spyros et Dais, 2000). Les sn-1, 2 diglycérides et les sn-1, 3 diglycérides sont les diglycérides dominant dans l'huile d'olive. Le rapport entre les deux glycérides, respectivement, est utilisé généralement pour évaluer la fraîcheur et la qualité de l'huile. Ainsi, durant le stockage de l'huile d'olive, sous l'effet de la température, lumière et le temps. de nombreux changements peuvent se produire dans sa composition, notamment une augmentation du total des diglycérides et/ou une isomérisation des sn -1,2 diglycérides, la forme prédominante dans l'huile d'olive fraîche, en sn- 1,3 diglycérides (Mannina et Sobolev, 2011; Sacchi et *al.*, 1991). La quantité de diglycérides et le rapport entre le 1,2-diglycéride par rapport à la quantité totale de diglycérides sont également utilisé pour déterminer l'origine de l'huile d'olive monovariétale et également dans le contrôle de la qualité afin de détecter les fraudes et le mélange avec d'autres huiles (Aranda et *al.*, 2004; Zhou et *al.*, 2015).

2.1.2. Les acides gras

Les acides gras sont de longues chaînes carbonées, linéaires et terminées par un acide carboxylique (COOH). Ils se trouvent généralement en nombre pair d'atomes de carbone, variant de 14 à 24. Ces chaînes aliphatiques sont classées selon le nombre de doubles liaisons carbone-carbone en trois grandes classes : les acides gras saturés, les acides gras mono-insaturés et les acides gras poly-insaturés.

Les acides gras saturés (AGS) : c'est des acides gras dépourvus de double liaison, représentés essentiellement dans l'huile d'olive par l'acide palmitique (C 16:0) avec une teneur de 7,5-20 %, et l'acide stéarique (C18:0) qui varie entre 0,5-5,0 % (Tableau 4). Les autres acides

gras saturés sont retrouvés en faibles quantités, tels que l'acide myristique (C14:0), l'acide margarique (C17:0), l'acide arachidonique (C20:0), l'acide béhénique (C22:0) et l'acide lignocérique (C24:0). Les AGS sont connus pour augmenter les taux de cholestérol sanguin et en particulier les concentrations de mauvais cholestérol (LDL) ; qui est l'un des facteurs favorisant l'incidence des maladies cardiovasculaires. Pour cela, les recommandations diététiques des organisations européennes et américaines insistent sur la réduction l'apport en AGS dans l'alimentation à moins de 10 % (Wahrburg et *al.*, 2002). Par ailleurs, l'huile d'olive, par le biais du régime méditerranéen, constitue une source de matières grasses à faible teneur en acides gras saturés avec une teneur qui varie entre 12-18% (Di Giovacchino, 2013).

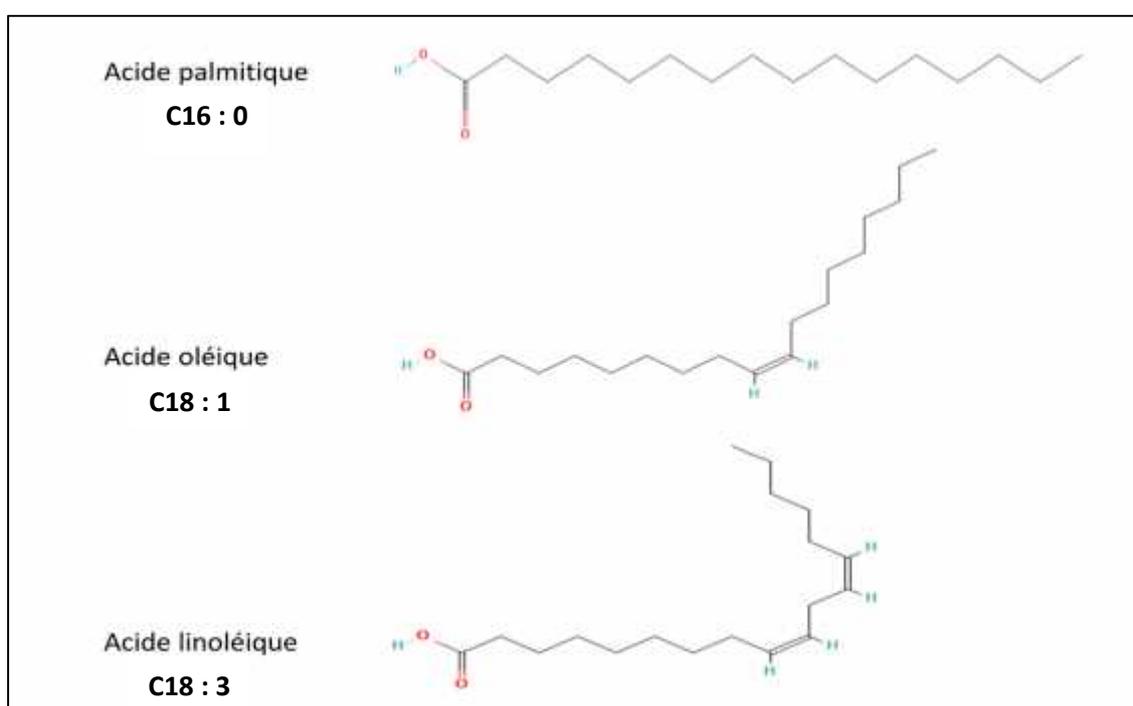


Figure 7 : Structure des principaux acides gras de l'huile d'olive (Pubchem).

Les acides gras mono insaturés (AGMI) : Les AGMI se caractérisent par la présence d'une seule double liaison dans la chaîne carbonée. Ils représentent la principale fraction lipidique de l'huile d'olive, avec une moyenne de 72% de la totalité des acides gras de l'huile (Harwood et Aparicio, 2000). L'acide oléique (C 18 :1), de la famille des oméga 9 (double liaison au 9^{ème} carbone à partir du méthyle terminal), est l'acide gras majoritaire des AGMI. Il est également l'acide gras dominant dans l'huile d'olive, avec une teneur qui varie entre 55 et 83%. La fluctuation observée dans la teneur de ce dernier est principalement due aux variations de facteurs génétiques, agronomiques et climatiques (Stefanoudaki et *al.*, 1999 ; Beltrán et *al.*,

2004; Douzane et al., 2012). D'autres AGMI, tel que l'acide palmitoléique (C16:1n-7), l'acide margaroléique (C17:1n-8) et l'acide gadoléique (C20:1n-9) sont présents en faibles concentrations dans l'huile d'olive (Codex alimentarius, 2017 ; COI, 2019).

Tableau 4 : Variation de la teneur en acides gras de l'huile d'olive (pourcentages (%)) obtenus par CPG).

Acides gras	COI (2019) (%)	Codex alimentarius (2017) (%)
Acide myristique (C14:0)	< 0,03	< 0,05
Acide palmitique (C16:0)	7,5 - 20,0	7,5 - 20,0
Acide palmitoléique (C16:1n-7)	0,3 - 3,5	0,3 - 3,5
Acide margarique (C17:0)	< 0,30	< 0,3
Acide margaroléique (C17:1n-8)	< 0,3	< 0,3
Acide stéarique (C18:0)	0,5 - 5,0	0,5-5,0
Acide oléique (C18:1n-9)	55,0 - 83,0	55,0 - 83,0
Acide vaccinique (C18:1n-7)	-	-
Acide linoléique (C18:2n-6)	2,5 - 21,0	3,5 - 21,0
Acide -linoléique (C18:3n-3)	< 1,0	-
Acide arachidonique (C20:0)	< 0,6	< 0,6
Acide gadoléique (C20:1n-9)	-	< 0,4
Acide béhénique (C22:0)	< 0,2	< 0,2
Acide lignocérique (C24:0)	< 0,2	< 0,2
C18 :1 T	< 0,05	-
C18 :2 T et C18 :3 T	< 0,05	-

NB : les limites établies sont utilisées comme paramètre d'identification de la pureté de l'huile d'olive.

Une étude réalisée par Keys et al. (1986) a montré que les pays d'Europe du Sud (Italie, la Grèce et la Yougoslavie), qui ont un régime alimentaire à base d'huile d'olive (riche en AGMI), avaient une incidence beaucoup plus faible de maladies coronariennes que les pays d'Europe du Nord. Une concentration élevée d'AGMI dans l'alimentation humaine, basée sur l'huile d'olive, a montré une diminution significative du poids et de la masse corporelle des

individus par rapport à ceux consommant de l'huile raffinée. Des apports alimentaires riches en AGMI ont été corrélés avec une diminution de la glycémie, de la résistance à l'insuline et des taux de triglycérides, tout en augmentant les niveaux de lipoprotéines de haute densité (HDL) dans le sang (Nigam et *al.*, 2014). Plus encore, selon les recherches de Schwingshackl et Hoffmann (2014), une diète riche en acide gras AGMI aux détriment des AGPI permet de réduire le risque global de mortalité de toutes causes confondues (11%), la mortalité cardiovasculaire (12%), les accidents cardiaques (9 %) et les accidents vasculaires cérébraux (17 %).

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) : Ce sont des acides gras qui contiennent plusieurs doubles liaisons. Parmi ces acides, on retrouve dans l'huile d'olive des acides gras essentiels, tels que l'acide linoléique (2,5 - 21,0 %) et l'acide linoléique (< 1,0 %), de la famille des oméga 6 et des oméga 3, respectivement. Ils sont dits "essentiels" car le corps humain ne peut pas les synthétiser, mais fortement impliqués dans la croissance et les fonctions physiologiques des cellules ; ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Cependant, il semble que l'apport alimentaire en acides gras essentiels oméga-6 et oméga-3 devrait être maintenu à des proportions raisonnables. Ainsi, des quantités excessives d'AGPI (oméga-6) et un rapport oméga-6/oméga-3 très élevé, très présentes dans les régimes occidentaux actuels, favorisent la pathogenèse de nombreuses maladies, dont les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies inflammatoires et auto-immunes (Simopoulos, 2004).

2.2. Fraction mineure

2.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques font partie de la fraction polaire des huiles d'olive vierges. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont présents dans la nature sous forme de composés phénoliques simples et complexes. Les principales classes de phénols présents dans l'huile de l'*Olea europaea. var europaea* sont les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les lignanes, les flavonoïdes et les sécoiridoïdes. La plupart de ces composés interviennent dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge en tant qu'antioxydants naturels, mais également dans la détermination de sa qualité organoleptique. Ils contribuent aux saveurs classiques de l'huile à travers une sensation d'amertume et d'astringence ressentie dans la gorge (Servili et *al.*, 2004). Par ailleurs, les polyphénols de l'huile d'olive sont considérés

comme des molécules hautement bioactives, à larges effets thérapeutiques et biologiques. Ces propriétés ont été observées dans la prévention et la lutte contre plusieurs maladies chroniques dégénératives, telles que le diabète, l'Alzheimer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, et contre différents types de cancer (Wahrburg et *al.*, 2002 ; Servili et *al.*, 2004; Tripoli et *al.*, 2005; Celano et *al.*, 2018). En effet, le règlement UE n.432/2012 de la commission européenne a accordé la reconnaissance de l'allégation de santé, " les polyphénols de l'huile d'olive contribuent à la protection des lipides sanguins contre le stress oxydatif ", pour les huiles d'olive vierges contenant au moins 5 mg/20 g d'huile (environ une cuillère à soupe) de tyrosol, d'hydroxytyrosol et de leurs sécoiridoïdes (EEC, 2012).

2.2.1.1. Sécoiridoïdes

Sont des substances majoritaires des polyphénols de l'huile d'olive, elles constituent plus de 75% de la fraction phénolique (Bakhouche et *al.*, 2013). Les sécoiridoïdes sont des dérivés aglycones des formes glycosidiques des sécoiridoïdes, tels que l'oleuropéine, le ligstroside et la diméthyl-oleuropéine. Ils sont présents en quantité abondante dans l'olive et libérés par l'activité des b-glucosidases endogènes durant le processus d'extraction de l'huile (Oliveras-López et *al.*, 2007). Ainsi, les principaux sécoiridoïdes de l'huile d'olive vierge sont les formes aglycones le diméthyl-oleuropéine, l'oleuropéine (3,4-DHPEA-EA), le ligstroside (p-HPEA-EA), et leurs dérivés respectifs l'oléacein (3,4-DHPEA-EDA) et l'oléocanthal (p-HPEA-EDA). L'oléacein et l'oléocanthal sont des dérivés dialdéhydes et décarboxylés de l'oleuropéine aglycone et du ligstroside aglycone, respectivement. Ils agissent comme de puissants antioxydants naturels et contribuent aux caractéristiques organoleptiques (attributs amers et piquants) de l'huile d'olive (Celano et *al.*, 2018).

La présence et la concentration des sécoiridoïdes dans l'HOVE est affectée par des facteurs agronomiques et environnementaux, mais plus particulièrement par le degré de maturité des olives et le processus d'extraction de l'huile (Servili et *al.*, 2004 ; Bakhouche et *al.*, 2013; Piroddi et *al.*, 2017). Les propriétés biologiques et bénéfiques pour la santé des sécoiridoïdes sont nombreuses et considérables. Elles sont particulièrement associées à des effets anti-sclérose, anti-œstrogène, anti-inflammatoire, anti-cancer et anti-Alzheimer, et à une protection contre l'arthropathie et contre les maladies cardiovasculaires (Lozano-Castellón et *al.*, 2020).

2.2.1.2. Alcools phénoliques

Ce sont des phénols simples caractérisés par un noyau phényle contenant au moins un alcool aliphatique et un groupe hydroxyle. Les principaux alcools phénoliques présents dans l'huile d'olive sont l'hydroxytyrosol (3,4-DHPEA) et le tyrosol (p-HPEA), provenant essentiellement de l'hydrolyse de l'oleuropéine et du ligstroside dans le fruit et dans l'huile (figure 8).

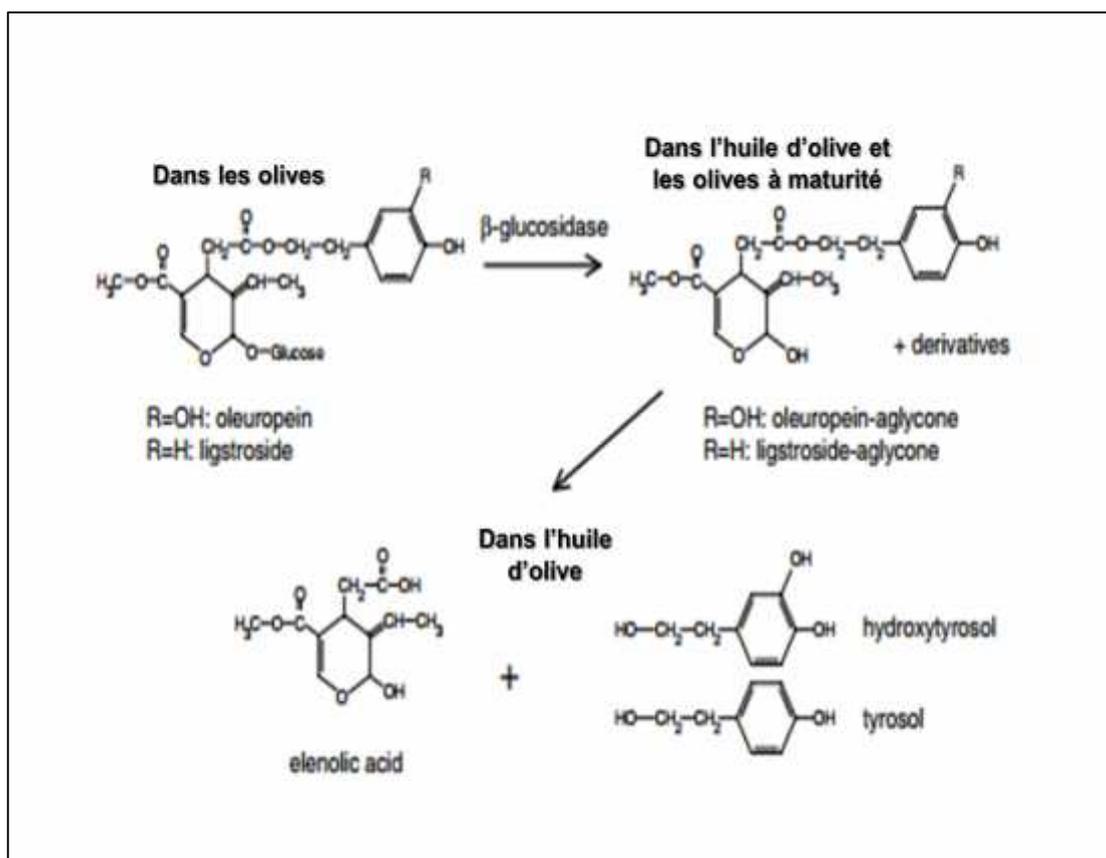


Figure 8 : Structure du tyrosol et de hydroxytyrosol et de leurs différents dérivés dans l'huile et dans le fruit.

Le tyrosol et l'hydroxytyrosol sont des composés d'une grande valeur nutritionnelle et thérapeutique, liée notamment à la protection des lipides sanguins contre le stress oxydatif. (Miró-Casas *et al.*, 2003; Piroddi *et al.*, 2017). Ils sont également responsables de la qualité sensorielle et la stabilité oxydative de l'huile d'olive et utilisés comme des marqueurs dans la classification de la qualité de l'huile d'olive. Ils sont présents dans l'huile sous forme libre ou estérifiée à une molécule d'acide élinolique, et liés aux différents sécoiridoïdes de l'huile d'olive. Ils représentent 3 à 4 % des polyphénols de l'huile d'olive. Leur concentration est faible dans les HOVE issues de récolte précoce, mais elle augmente avec la maturité des olives, elle

est due à l'hydrolyse enzymatique de composés phénoliques complexes comme l'oleuropéine et le ligstroside (Bakhouché et *al.*, 2013; Bengana et *al.*, 2013).

2.2.1.3. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des phénols simples comportant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, dérivés de l'acide benzoïque (C6–C1) et de l'acide cinnamique (C6–C3) (Tripoli et *al.*, 2005). L'huile d'olive contient une faible teneur en acides phénoliques (moins de 1 mg/kg) constituée d'acide caféique, d'acide o-coumarique, d'acide p-coumarique, d'acide syringique, d'acide férulique ou encore d'acide vanillique (figure 9) (Papadopoulos et Boskou, 1991; Bakhouché et *al.*, 2013; Djelloul et *al.*, 2020).

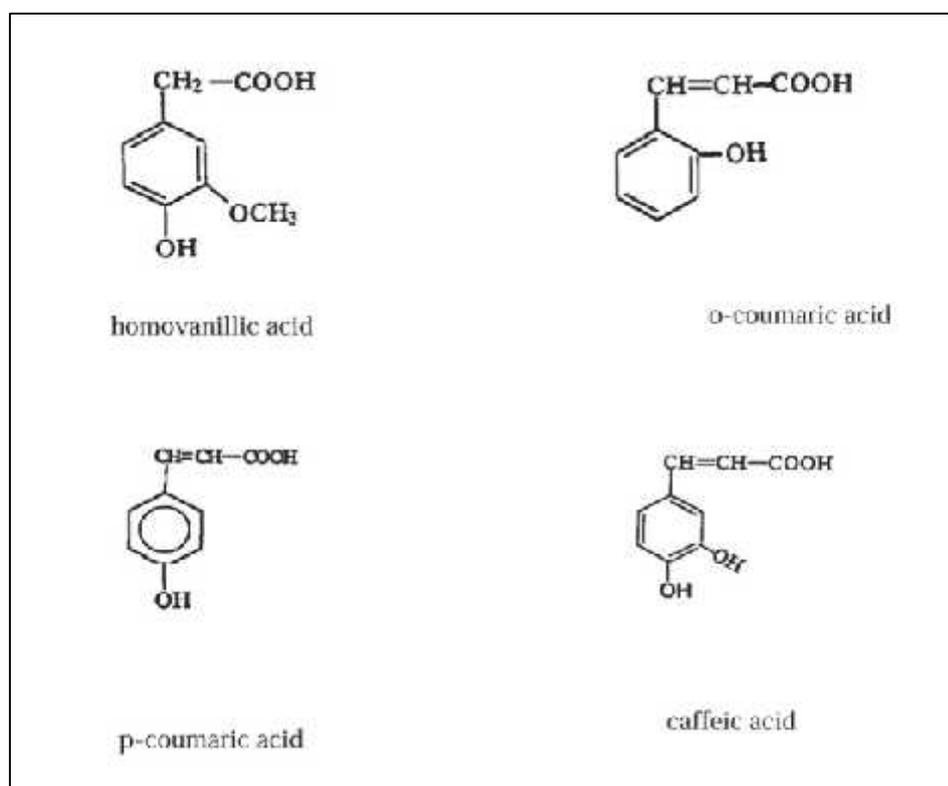


Figure 9: Structure de certains acides phénoliques de l'huile d'olive (Pubchem).

Les acides phénoliques sont également associés à la qualité organoleptique de l'huile, ainsi l'acide cinnamique est responsable de la sensation d'amertume de l'HOVE (Visioli et *al.*, 2002). Cependant, d'autres auteurs (Segura-Carretero et *al.*, 2010) ont associé à des attributs négatifs, comme le moisi, à certains acides phénoliques de l'huile d'olive. En outre, les acides phénoliques jouent un rôle important en tant qu'antioxydants naturels et dans la stabilité

oxydative de l'huile ; l'acide caféique, par exemple, a montré des taux de protection supérieurs à ceux du BHT (Papadopoulos and Boskou, 1991).

2.2.1.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes se caractérisent par une grande diversité structurale, environ 9000 composés différents ont déjà été signalés dans différentes espèces végétales. Ils constituent les pigments colorés de nombreuses plantes (Alzand et Mohamed, 2012). Il existe plusieurs flavonoïdes dans l'huile d'olive, des glycosides de flavonol tel que la lutéoline-7-glucoside et la rutine, l'apigénine, des anthocyanes, de la cyanidine et des glucosides de delphinidine. Les flavonoïdes constituent environ 2% de sa fraction phénolique (Bakhouche et *al.*, 2013; Tripoli et *al.*, 2005). L'apigénine et de la lutéoline sont les composés phénoliques majeurs des flavonoïdes de l'huile d'olive.

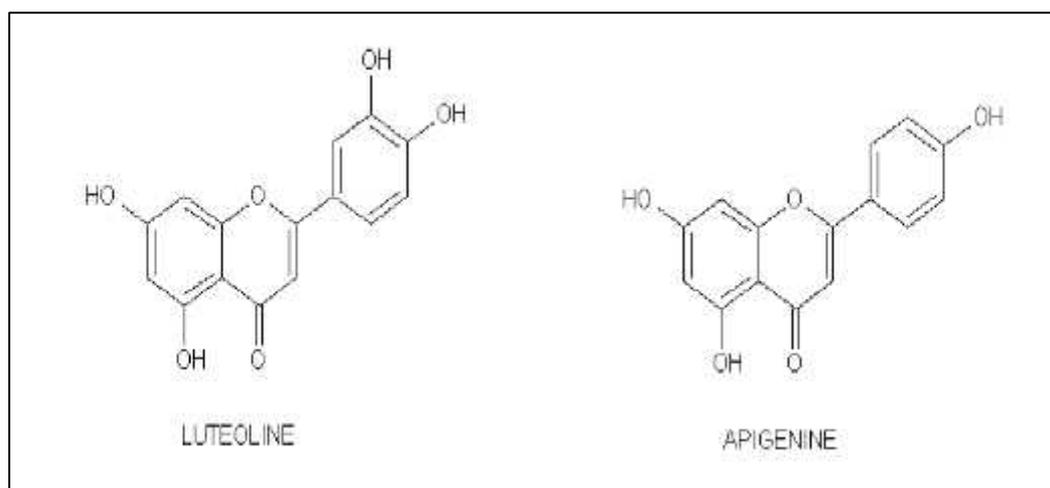


Figure 10: Structures des flavonoïdes majoritaires de l'huile d'olive (Pubchem).

Chimiquement, les flavonoïdes ont une structure poly-phénolique qui leur confère des propriétés antioxydantes. en effet, ils sont corrélés avec une large activité antioxydante contre différents radicaux libres (ABTS, DPPH and FRAP) ; fournissant des avantages pour la santé, associés à des risques plus faibles en maladies chroniques et dégénératives (Pérez-Cano et Castell, 2016; Huang et *al.*, 2020). En outre, la composition flavonoïdique est utilisée comme des marqueurs dans l'identification des huiles d'olive monovariétales. Ainsi, la plupart des huiles d'olive espagnoles, italiennes et portugaises sont connues pour avoir des teneurs plus élevées en lutéoline et en apigénine (Ocakoglu et *al.*, 2009).

2.2.1.5. Lignanes

Les lignanes sont un groupe de substances phytochimiques localisées dans la pulpe d'olive et dans la partie ligneuse du noyau. Elles sont libérées dans l'huile d'olive lors du processus d'extraction mécanique (Servili *et al.*, 2004). Parmi les lignanes présents dans l'huile d'olive, on trouve l'acytoxypinoresinol, le (+)-1-acétoxypinoresinol, (+)-1-hydroxypinoresinol, le (+)-pinoresinol et le syringaresinol (figure 11). Ce sont des composés caractéristiques des huiles d'olive vierges, ils sont pratiquement absents des huiles vierges raffinées et dans les huiles de graine. Ils peuvent atteindre une concentration de 100 mg/kg d'huile et/ou 11% de la fraction phénolique. Le (+)-1-acétoxypinoresinol et le (+)-pinoresinol sont des composants majeurs des lignanes de l'huiles d'olive (Bakhouché *et al.*, 2013; Owen *et al.*, 2000).

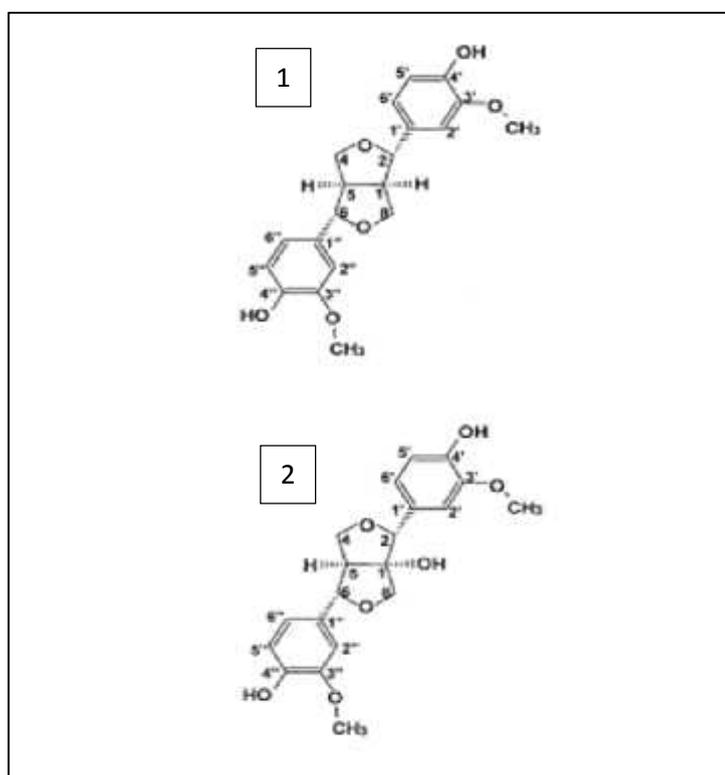


Figure 11: Structure du (+)-1-acétoxypinoresinol (1) et du (+)-pinoresinol (2) (Pubchem).

Leurs effets thérapeutiques et biologiques ont été observés dans le cadre d'un régime alimentaire riche en lignanes, qui confèrent une très bonne protection contre le cancer du sein, du côlon et de la prostate. Par ailleurs, des lignanes simples comme le (+)-pinoresinol ont été corrélés avec des effets antiprolifératifs et anticancéreux associés à une régulation du cycle cellulaire modifié (Owen *et al.*, 2000; Piroddi *et al.*, 2017). En outre, la teneur et la composition

en lignanes constituent des indicateurs de référence dans l'identification et la caractérisation de l'origine variétale et géographique des HOVE (Bakhouché et *al.*, 2013).

2.2.2. Les pigments

L'huile d'olive se caractérise par la présence de deux pigments majeurs, les chlorophylles et les caroténoïdes. Ils sont responsables de la variation de la couleur de l'huile d'olive, du vert au jaune doré (Minguez-Mosquera et *al.*, 1991). Grâce à leur propriété lipophile, ils sont transférés dans l'huile d'olive lors du processus de trituration. Leur teneur dans l'huile varie entre 1 et 20 ppm (Boskou, 2006), en fonction de la variété, des conditions climatiques, du processus d'extraction et particulièrement du degré de maturité des olives (Yorulmaz et *al.*, 2013; Youssef et *al.*, 2010).

a) Chlorophylles

Les chlorophylles peuvent être définies comme un complexe de coordination au magnésium de tétra-pyrroles cycliques. Ce dernier contient un cinquième anneau isocyclique, appelé porphyrine, associé à une longue chaîne d'ester d'alcool isoprénoïde. C'est la présence dans sa structure de nombreuses doubles liaisons conjuguées qui permet une absorption du rayonnement lumineux, lui conférant ainsi la capacité de photosynthèse (Kuczynska et *al.*, 2015). En outre, en raison de leur activité antioxydante dans l'obscurité, les chlorophylles sont connues pour jouer un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile. Cependant, elles ont un effet inverse, pro-oxydant, au contact de la lumière (Giuliani et *al.*, 2011).

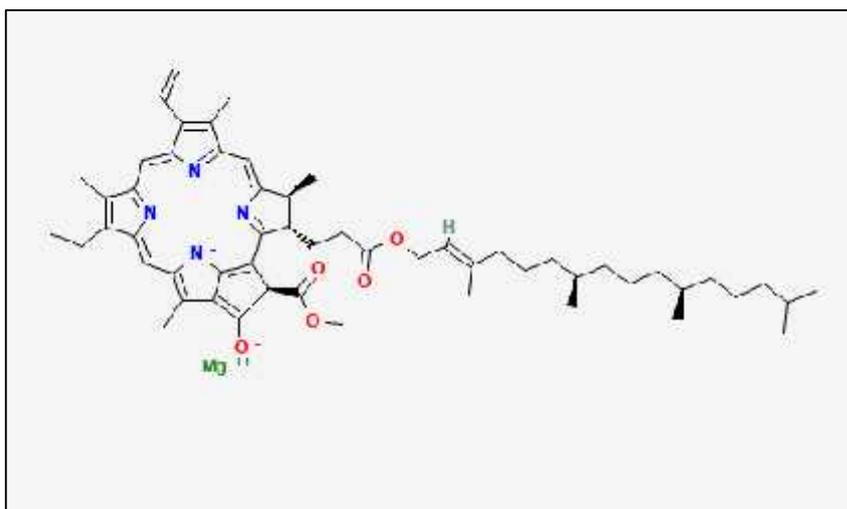


Figure 12 : Structure chimique des chlorophylles (Pubchem)

Les chlorophylles sont également responsables de la couleur verte caractéristique des olives et de son huile. Etant un pur jus de fruit issu d'une extraction mécanique et physique des olives, l'huile d'olive vierge garde toutes les caractéristiques de ce dernier. Cependant, la totalité des pigments chlorophylliens n'est pas transférée à l'huile, près de 80% de ce pigment sont perdus au cours du processus d'extraction (Giuliani *et al.*, 2011).

Les recherches de Minguez-Mosquera *et al.* (1990) ont montré que la chlorophylle "a" est la principale composante des fruits frais. Cette dernière diminue avec la maturation et disparaît pratiquement dans l'huile, en se transformant en phéophytine "a". Par conséquent, la fraction chlorophyllienne présente dans l'huile d'olive est constituée principalement de la phéophytine "a", accompagnée par de faibles quantités en chlorophylles "a" et "b", et en phéophytine "b". La teneur des chlorophylles varie généralement entre 1 à 10 ppm dans l'huile d'olive, influencée par plusieurs facteurs : variétal, agronomique, climatique et technologique (Minguez-Mosquera *et al.*, 1990; Giuliani *et al.*, 2011; Bengana *et al.*, 2013).

b) Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des substances lipophiles, issues du métabolisme lipidique secondaire. Ces pigments jouent un rôle essentiel dans l'activité photosynthétique et physiologique des plantes, mais sont également des composés importants sur le plan nutritionnel. La plupart des caroténoïdes sont des terpénoïdes à 40 atomes de carbone dont l'unité structurelle de base est l'isoprène. Tout comme les chlorophylles, les caroténoïdes sont dotés d'une chaîne polyénique responsable de l'absorption de la lumière, qui rend la molécule de caroténoïde extrêmement sensible aux conditions d'isomérisation et d'oxydation. L'activité antioxydante des caroténoïdes est une conséquence directe de la chimie de leur longue chaîne polyénique. Cette caractéristique structurelle est principalement responsable de la réactivité chimique des caroténoïdes vis-à-vis des agents oxydants et des radicaux libres, mais aussi de leur caractère prooxydant (Kiokias *et al.*, 2016).

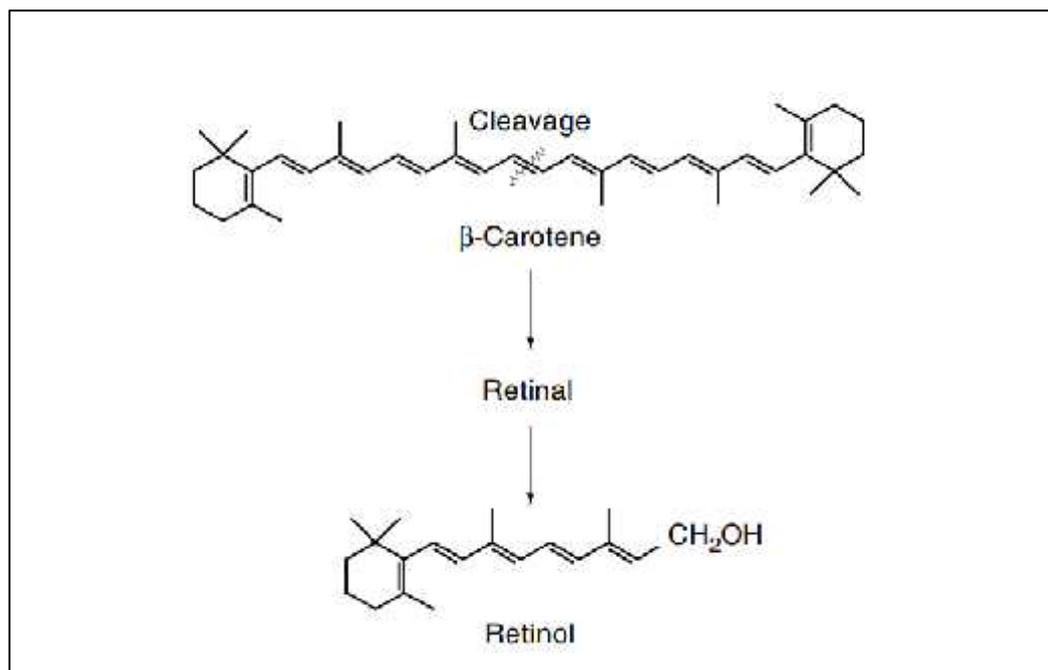


Figure 13 : Structure du β -carotène et clivage enzymatique de la molécule pour donner deux molécules de vitamine A (Mínguez-Mosquera et al., 2008).

La fraction caroténoïde de l'huile d'olive est un mélange de β -carotène, lutéoline, violaxanthine et de la néoxanthine, néanmoins, la lutéoline est le principal caroténoïde de l'huile avec une concentration qui varie entre 2,46 à 11,15 mg/kg (Minguez-Mosquera et al., 1990; Mateos et al., 2003;). Les variations de la composition et de la teneur en caroténoïdes de l'huile d'olive sont des critères de différenciation variétale et d'origine géographique des cultivars, ainsi que de détermination du stade de maturité des olives (Bengana et al., 2013; Kiokias et al., 2016). Par ailleurs, L'importance diététique des caroténoïdes se manifeste également par leur rôle de précurseur de la vitamine A, en effet, les molécules de β -carotène, une fois incorporées dans l'alimentation, peuvent être scindées en deux molécules de rétinol (vitamine A) par l'action de l'enzyme β -carotène-15,15 -dioxygénase dans l'intestin (figure 13) (Mínguez-Mosquera et al., 2008).

2.2.3. Les tocophérols

Les tocophérols sont des composés hétéroacides à haut poids moléculaire. L'huile d'olive est également une source importante de vitamine E, qui est l'un des principaux composés de sa fraction insaponifiable. Les tocophérols sont des vitamines liposolubles, qui jouent un

rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive. Leur teneur dans les HOVE varie généralement entre 36 et 370 mg/kg, dépendant de la variété, de la technique d'extraction, de l'origine géographique et du stade de maturité des olives (Boskou, 2006).

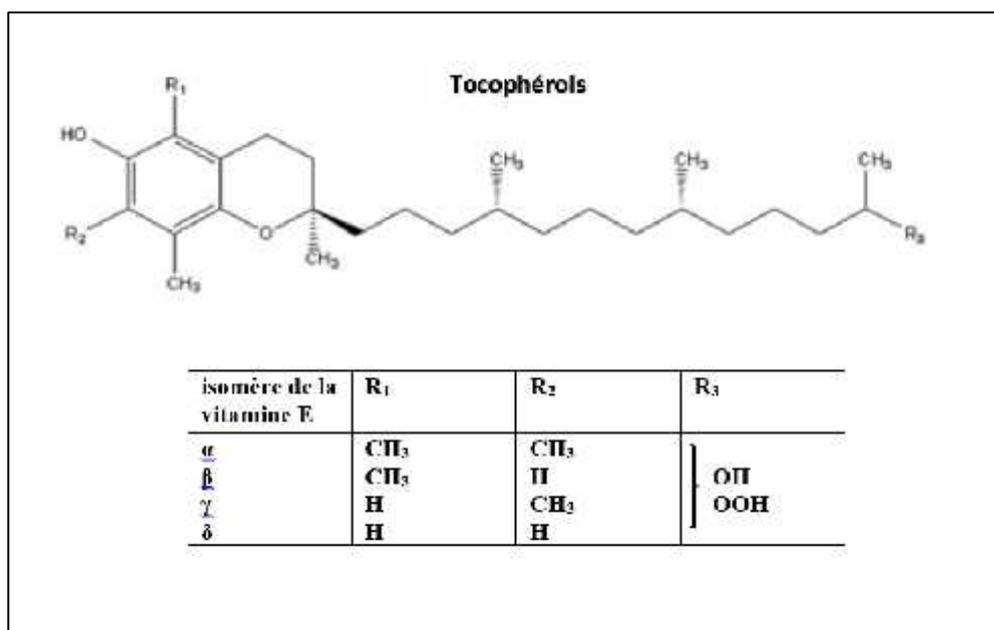


Figure 14 : Différentes structures des tocophérols (Pubchem)

L'alpha-tocophérol est le principal homologue des différentes formes de vitamine E présentes dans l'huile d'olive. Il constitue environ 95 % du total des tocophérols, les 5 % restants sont constitués principalement de formes bêta et gamma. Les delta-tocophérols sont généralement trouvés sous forme de trace. L'activité antioxydante des tocophérols est environ 250 fois plus performante que celle du BHT. Cependant, cette capacité diffère d'un isomère à l'autre (figure 14) ; leur pouvoir antioxygène est classé dans l'ordre décroissant suivant : α , β , γ et δ (Boskou, 2006; Hashim et al., 2005).

2.2.4. Les stérols

Les phytostérols sont des produits découlant de la voie de biosynthèse des isoprénoïdes des cellules végétales. Ils sont présents dans l'huile aussi bien sous forme libre que sous forme estérifiée en association avec des acides gras. L'huile d'olive est particulièrement riche en fraction stérolique, elle contient divers composés tels que le β -sitostérol, le 5-avenasterol, le stigmasterol et le campesterol. La teneur en phytostérols varie entre 80 à 260 mg/100 g dans les HOVE. Le β -sitostérol est le stérol le plus répandu dans les huiles (sa teneur peut atteindre 93,0

% des stérols totaux), tandis que le campestérol et le stigmastérol comptent respectivement 3% et 1% (Martínez-Vidal et *al.*, 2007). Par ailleurs, plusieurs facteurs peuvent affecter la composition stérolique de l'HOVE, en particulier les facteurs agronomiques, géographiques et technologique lié à l'extraction de l'huile (Boskou, 2006; Martínez-Vidal et *al.*, 2007; Yorulmaz et *al.*, 2014).

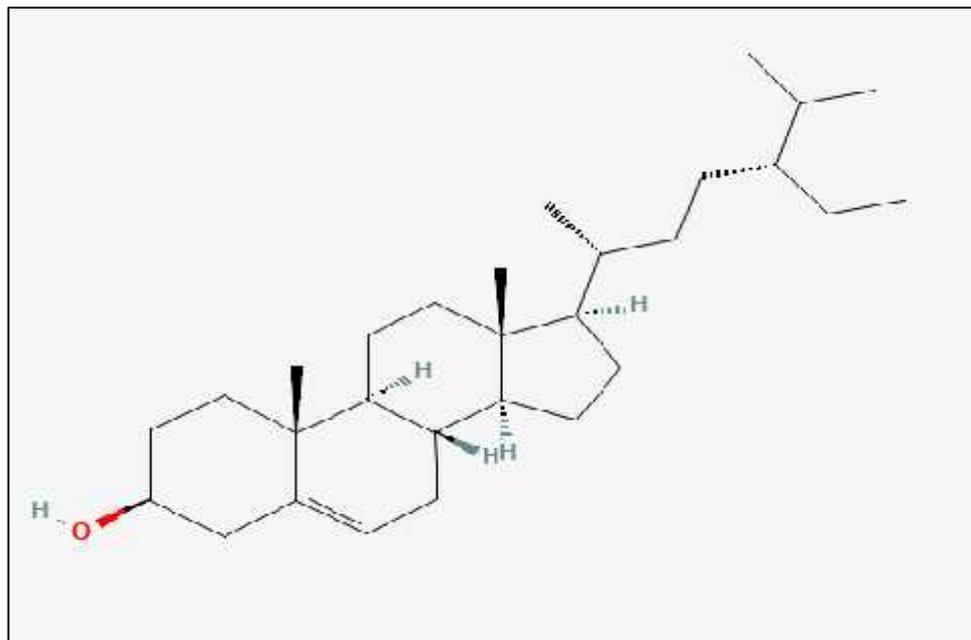


Figure 1 : Structure du β -sitostérol (PubChem).

L'effet bénéfique des phytostérols, en particulier le β -sitostérol, a été observé dans la réduction de la concentration de cholestérol total et des LDL dans le plasma, en inhibant l'absorption intestinale du cholestérol. Ils contribuent également à la stimulation de la signalisation apoptotique des cellules cancéreuses de la prostate et l'hyperplasie prostatique (Piroddi et *al.*, 2017). En outre, le profil stérolique est utilisé comme marqueur dans le contrôle de qualité et d'authenticité de l'huile d'olive vierge, afin de détecter les mélanges frauduleux avec d'autres huiles. Il est également utilisé comme critère de distinction entre l'huile d'olive vierge et lampante, notamment par le pourcentage plus faible de campestérol et de stigmastérol libre dans cette dernière (Ben-Ayed et *al.*, 2013).

2.2.5. Les composés volatils

Les composés volatils sont générés par la voie de la lipoxygénase au cours des premières étapes de l'extraction de l'huile. Ces composés sont généralement impliqués dans la qualité sensorielle, en étant associés au goût et aux arômes (positifs et négatifs) de l'huile d'olive.

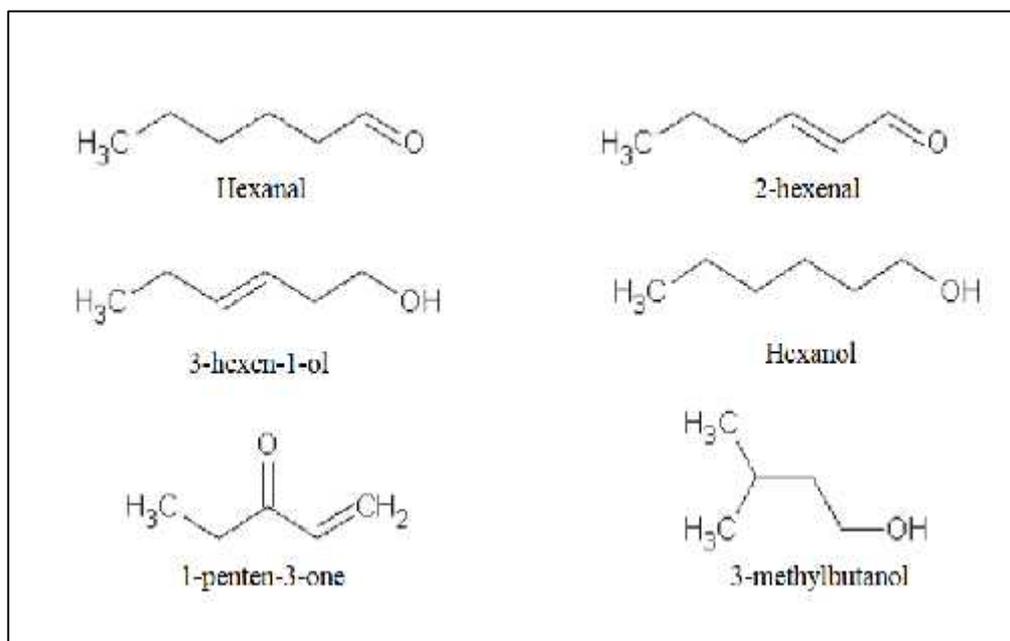


Figure 16: structure des composés volatils de l'huile d'olive

La composition de la fraction volatile de l'huile d'olive comprend des alcanols et des alcénols ayant moins dix atomes de carbone dans leur molécule. Ils sont présents sous forme libre et estérifiés, et en tant qu'alcools aromatiques (alcool benzylique et 2-phényléthanol). Les composés volatils majoritaires de l'huile d'olive sont l'hexanal, le (E)-2-hexenal, le (Z)-3-hexenal, l'hexan-1-ol, le (Z)-3-hexen-1-ol, et l'acétate de (Z)-3-hexényle. Ils sont responsables de la perception verte et fruitée de l'huile d'olive extra vierge (Boskou, 2006). Selon Veneziani et al. (2018), la teneur en aldéhydes de l'huile d'olive, principalement représentée par la concentration de (E)-2-hexenal, est influencée par la technique d'extraction utilisée. En revanche, la teneur en alcools et en esters semble être plus affectée par l'origine génétique des cultivars d'olives et leurs activités enzymatiques spécifiques liées à la voie de la lipoxygénase.

dans la promotion des tumeurs. Ce composé lipophylique contribue également dans l'inhibition de l'oxydation des AGPI (l'acide arachidonique et docosahexaénoïque), et la stabilité oxydative de l'huile d'olive, même à basses températures (Amarowicz, 2009).

Chapitre III

**Facteurs influençant la composition
de l'huile d'olive**

1. Facteur génétique

Il est considéré comme l'un des facteurs les plus déterminants de la qualité de l'huile d'olive. La diversité génétique des cultivars d'olivier a permis de générer une large gamme d'huiles d'olive monovariétales, caractérisées par une variation spécifique dans leur teneur et composition lipidique et non lipidique. Cette différence est généralement liée à des variations qualitatives et quantitatives dans leur profil en triglycérides et en acides gras, en tocophérols, en pigments, en composés volatils et en polyphénols. Ces changements sont directement responsables de la détermination des caractéristiques nutritionnelles, thérapeutiques et organoleptiques, propres à chaque huile d'olive vierge (Stefanouadaki et *al.*, 1999 ; Oliveras-López et *al.*, 2007).

La composante génétique joue un rôle important dans l'expression et l'activité des enzymes endogènes du fruit. Elle influence directement et indirectement la qualité finale de l'huile d'olive des différentes variétés. Ainsi, certaines variétés se caractérisent par de faibles teneurs en composés phénoliques. C'est le cas de l'huile de la variété algérienne *Chemlal* qui est généralement pauvre en polyphénols ; les faibles teneurs de cette dernière confèrent un goût doux à son huile prisée par la population locale (Douzane et *al.*, 2012 ; Bengana et *al.*, 2013; Djelloul et *al.*, 2020) . Selon Kalua et al. (2007), l'accumulation des composés volatils dans l'olive est influencé par le type de cultivar, mais il semble que ce ne soit pas le cas pour tous les composés volatils, en particulier les composés volatils C5.

2. Facteurs géographiques

L'influence du facteur géographique est très variable sur la qualité de l'huile d'olive, en raison des différentes conditions propres à chaque site de culture (température, précipitations, sol, altitude et latitude) (Mailer et *al.*, 2010). Les huiles d'olive de la rive nord de la Méditerranée (Grèce, Italie et Espagne) sont généralement caractérisées par une faible teneur en acides linoléique et palmitique et un pourcentage élevé en acide oléique. Par contre, les huiles d'olive de la rive sud (Tunisie, Algérie) ont généralement une teneur élevée en acides linoléique et palmitique et une teneur plus faible en acide oléique (Boskou et *al.*, 2006).

Par ailleurs, le pourcentage d'acides gras insaturés dans l'huile d'olive augmente avec la diminution de la température ou l'augmentation de l'altitude (Mailer et *al.*, 2010). Selon l'étude

de Stefanoudaki et al. (1999), les huiles d'olive obtenues à haute altitude sont plus riches en acides gras monoinsaturés, tandis que les huiles obtenues à basse altitude ont une teneur plus élevée en acides gras saturés. La température est également importante pour le développement des drupes comme pour la composition de l'huile. Dans les régions très chaudes, les olives se pigmentent très précocement, ce qui entraîne une dégradation rapide de la chlorophylle (Di Vaio et al., 2013).

L'étude réalisée par Bakhouché et al. (2013) sur la variété *Arbequina*, a montré que la fraction phénolique des huiles d'olive, provenant de différentes régions, ne varie pas qualitativement, mais bien davantage quantitativement pour un grand nombre de composés phénoliques (sécoiridoïdes, phénols simples et lignanes). Ces derniers ont tendance à réduire leur teneur dans l'huile avec une plus grande disponibilité en eau et/ou en pluie (Beltrán et al., 2004). En outre, la zone de culture de l'olivier peut également déterminer la teneur en composés volatils en C₆ et C₅ des huiles d'olive vierges. En effet, les huiles européennes se caractérisent par la prédominance du trans-2-hexénal dans le profil des composés volatils, ce qui n'est pas toujours observé dans les huiles provenant d'autres régions. Ainsi, les huiles italiennes sont plus riches en aldéhydes en C₆, tandis que les esters fruités sont les composés aromatiques dominants des huiles marocaines (Kalua et al., 2007).

3. Facteurs agronomiques

3.1. Age des arbres

L'âge des oliviers semble être un facteur déterminant dans la modélisation de la composition de la fraction mineure et majeure de l'huile d'olive produite. Ces différences sont principalement liées à un développement plus important du système racinaire et à une activité photosynthétique plus importante des arbres avec l'âge. Ce dernier peut influencer la teneur des acides gras saturés, du squalène, de l' α -tocophérol et des tocophérols totaux, des sécoiridoïdes (décarboxyméthyl oleuropéine aglycon), et des composés volatils (l'hexanal, le (Z)-3-hexénal, et le 1-penten-3-ol), produisant ainsi des huiles d'olive vierges aux compositions très variées. La composition en acides gras est également influencée, notamment les concentrations en acide oléique qui sont dépendantes de l'âge (Mele et al., 2018).

L'âge des arbres peut également affecter la teneur et la composition de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. En effet, les oliviers les plus âgés (30-50 ans) produisent des huiles plus riches en composés phénoliques que les arbres jeunes (10-30 ans) (Beltran et *al.*, 2004).

3.2. Densité

Le nombre de plants/ ha est un paramètre très important dans la détermination de la productivité des vergers oléicoles (Benito et *al.*, 2013). Dans la perspective de l'intensification de la production oléicole, la densité des nouvelles plantations d'oliviers est en constante augmentation. Une comparaison entre des densités de plantation de 1250 et 2500 arbres /ha, effectuée par Rodrigues et *al.* (2018), a montré qu'une augmentation du nombre de plantes dans la rangée et entre les rangées provoque une légère augmentation de l'acidité libre, C18:1, C18:2 et AGMI, suivie d'une réduction du peroxyde, de la teneur en C16:0, C18:0, AGS et AGPI. Ces changements affectent l'activité antioxydante et de la stabilité oxydative des huiles d'olive vierges.

3.3. Irrigation

L'irrigation est essentielle pour assurer une meilleure production et des rendements plus élevés des vergers oléicoles, toutefois un équilibre entre la production et la qualité doit être recherché. Ainsi, des apports d'eau élevés pendant l'été produisent des huiles d'olive avec des niveaux d'acide oléique plus faibles et des rapports C16/C18 plus élevés ; alors que les huiles provenant d'olives cultivées dans des conditions de stress hydrique ont un taux plus élevé en acide oléique (Beltrán et *al.*, 2004). Ainsi, l'irrigation doit être conduite de manière raisonnée, en effet, une plus grande disponibilité de l'eau tend à réduire la teneur en polyphénols et la stabilité oxydative de l'huile d'olive (Di Vaio et *al.*, 2013; Mafrica et *al.*, 2021).

3.4. Fertilisation

Une gestion correcte de la fertilisation permet de satisfaire les besoins nutritionnels des vergers oléicoles modernes, limiter le phénomène d'alternance et d'assurer une productivité durable des oliviers. Les recherches de Aïachi Mezghani et *al.*, (2019) sur des cultivars tunisiens

ont montré que les variétés d'olives réagissent différemment à la fertilisation. Ainsi, certains cultivars (Koroneiki) étaient plus sensibles (un rendement plus élevé en huile) à l'application des engrais. Une fertilisation azotée élevée de l'olivier accroît la teneur en acides gras poly-insaturés (AGPI), notamment en acide linoléique (C18:3). Cependant, elle provoque une compétition protéines-phénols dans les feuilles, ce qui réduit le contenu phénolique de l'huile (Dag et *al.*, 2009; Erel et *al.*, 2013). En outre, des apports élevés en P et N ont démontré une influence négative sur la stabilité oxydative de l'huile, tout en augmentant les avantages nutritionnels. En effet, des doses plus élevées de N et P ont tendance à augmenter les niveaux des AGPI par rapport aux AGMI dans l'huile, plus spécifiquement les niveaux de l'acide oléique. Alors que, le contenu en AGS, en polyphénols et en peroxydes sont susceptibles de diminuer. Par ailleurs, la somme des effets de la fertilisation sur le rendement et la composition de l'huile d'olive, est une donnée clé dans la conception d'une stratégie optimale pour l'application de fertilisants dans les vergers oléicoles (Dag et *al.*, 2009).

3.5. Maturité du fruit

Le début du développement du fruit est marqué par la floraison de l'olivier. Au cours des six à huit mois suivants, les olives atteignent leur poids maximal. La maturation des olives commence généralement en septembre, entraînant des changements dans la couleur du fruit, allant du vert au noir (pleine maturité) en passant par le violet. Cette période est également connue pour apporter des changements importants dans les caractéristiques chimiques et physiologiques du fruit (Ryan et Robards, 1998).

Au cours de la période de la maturation des olives, l'accumulation d'huile dans le fruit se poursuit, entraînant une augmentation du rendement et des changements dans sa composition lipidique (Dag et *al.*, 2011). Cependant, la synthèse de l'huile a tendance à diminuer, puis à s'arrêter à la fin de la maturation. Cette étape se déroule généralement à la période de fin de novembre- fin décembre pour la plupart des variétés Algériennes. En outre, les teneurs en acide stéarique, en acide linoléique, en acide palmitique et en acides gras saturés ont tendance à diminuer, tandis que les concentrations en acides oléique et linoléique augmentent avec la maturation. Ces changements sont dus principalement à une augmentation de l'activité enzymatique condensatrice de l'â-cétoacyl-ACP synthase II. (KAS II), responsable de l'élongation du palmitoyl-ACP en stéaroyl-ACP et du degré d'insaturation de l'huile d'olive obtenue, au cours de la maturité des olives (Beltrán et *al.*, 2004).

La qualité physico-chimique de l'huile est affectée également par la progression de la maturité. En effet, l'acidité libre augmente légèrement mais progressivement tout au long du processus de maturation, tandis que les valeurs de peroxyde et les coefficients d'extinction ont tendance à diminuer. La concentration des pigments chlorophylliens et caroténoïdes dans l'olive diminue avec la maturation, entraînant des changements dans la couleur des huiles d'olive extraites. La teneur en antioxydants naturels est également en diminution durant la maturation, notamment la concentration en tocophérol, principale tocophérol de l'huile d'olive (Benito et *al.*, 2013).

La teneur en phénols totaux augmente au début de la maturité jusqu'à un maximum vers le stade tournant des olives, puis diminue progressivement au cours des stades de maturité avancés. La concentration en oleuropéine (composé majeur dans l'olive) diminue avec la maturité, mais s'accompagne de l'accumulation de deux autres composés, à savoir la déméthyleoleuropéine et le glycoside de l'acide élénolique. Ces derniers sont générés lors de la dégradation de l'oleuropéine par l'activité des estérases qui augmente au cours de la maturation, et/ou par l'arrêt de sa synthèse conduisant à l'accumulation de ces dérivés (Amiot et *al.*, 1989; Ryan et Robards, 1998 ; Benito et *al.*, 2013). La qualité sensorielle et la stabilité oxydative de l'huile d'olive, étant liée à la teneur en phénols totaux, suivent une tendance similaire le long du processus de maturité. En effet, les huiles d'olive provenant de récoltes précoces sont généralement caractérisées par un goût amer et piquant plus intense que les huiles récoltées issues des dates de maturité avancées. Par ailleurs, l'avancement de la maturité du fruit entraîne une réduction dans la teneur en composés volatils en C₆, notamment ceux dérivés de l'acide linoléique. Cette dernière est causée par une diminution de l'activité des enzymes (lipoxygénases) impliquées dans la formation de la plupart de ces composés dans l'huile d'olive (Kalua et *al.*, 2007).

4. Facteurs technologiques

4.1. Stockage des olives

L'huile d'olive vierge extra doit être obtenue à partir d'olives fraîches et saines. Elle est ainsi extraite dans les 24 heures qui suivent la récolte, afin d'obtenir une huile à faible teneur en peroxyde (20 meq O₂ /Kg) et en acidité libre (< 0,8 %), et riche en composés phénoliques. Ces caractéristiques confèrent à l'huile d'olive un goût et des arômes agréables (Foscolou et

al., 2018). Les olives stockées pendant de longues périodes et/ou entassées (dans des contenants étanches ou en tas) subissent des dommages mécaniques favorisant diverses détériorations. Celles-ci sont dues principalement à l'action de micro-organismes pathogènes et aux différents processus de fermentation.

Les huiles extraites des fruits dégradés présentent une palette d'attributs négatifs (chômé, rance et moisi) et une faible stabilité oxydative. Ces résultats sont dus à une importante dégradation de la qualité physico-chimique (taux de peroxyde et acidité élevés), une réduction de la teneur en composés phénoliques et à une augmentation de la formation de composés volatils à attribut négatif. Cette détérioration croissante est le résultat de l'intensification de l'activité enzymatique en lien avec une désintégration progressive de la structure cellulaire (Kalua et *al.*, 2007).

4.2. Lavage et effeuillage

La pré-étape du lavage est la première opération du processus d'extraction de l'huile d'olive. Le lavage des olives contribue à maintenir la qualité naturelle de l'huile. Il consiste à laver les olives et à éliminer les feuilles, les tiges, les brindilles et autres débris qui proviennent de la récolte des olives (une partie des pesticides et de la poussière) (Souilem et *al.*, 2017). La présence d'une grande quantité de feuilles pendant l'extraction de l'huile, génère des huiles d'olive de couleur verte ayant une forte sensation organoleptique, généralement peu appréciée par les consommateurs. (Mele et *al.*, 2018). Par ailleurs, un pourcentage élevé en feuilles et/ou d'olives non lavées augmente le pourcentage d'acides gras libres dans les huiles d'olive produites (Gharbi et *al.*, 2015).

4.3. Broyage

L'opération du broyage vise à rompre les membranes cellulaires des olives et à libérer les fines gouttes d'huile contenues dans les vacuoles. La désintégration des tissus de l'olive libère les différents constituants de la pulpe et du noyau, responsables de l'activation de plusieurs réactions enzymatiques. Ces dernières modifient le profil et la concentration des composés phénoliques et volatils de l'huile d'olive extraite (Souilem et *al.*, 2017).

Au cours du processus de broyage, il y a une libération des enzymes endogènes des olives, à savoir les α -glycosidases et les oxydoréductases présentes dans le noyau. Des polyphénoloxydases et les peroxydases, responsables de l'hydrolyse et l'oxydation des polyphénols, sont ainsi libérées (Servili et *al.*, 2004; Souilem et *al.*, 2017). L'activité de ces enzymes dépend du type de broyage, de la taille des fragments d'olive, de la température, du temps de malaxation, et de l'exposition à l'oxygène atmosphérique (Lozano-Castellón et *al.*, 2020). Afin d'obtenir une huile d'olive riche en composés phénoliques, ayant une meilleure stabilité oxydative et une valeur nutritionnelle élevée, il est nécessaire de maintenir une bonne stratégie pour contrôler l'activité enzymatique pendant le broyage. Par ailleurs, des méthodes douces de broyage des olives (réduisant la dégradation des tissus du noyau) et des procédés d'extraction à partir d'olives préalablement dénoyautées ont été développées. Ces techniques visent à limiter la libération de peroxydase et de polyphénoloxydase dans la pâte et à diminuer le taux d'oxydation des polyphénols (Servili, 2014; Souilem et *al.*, 2017).

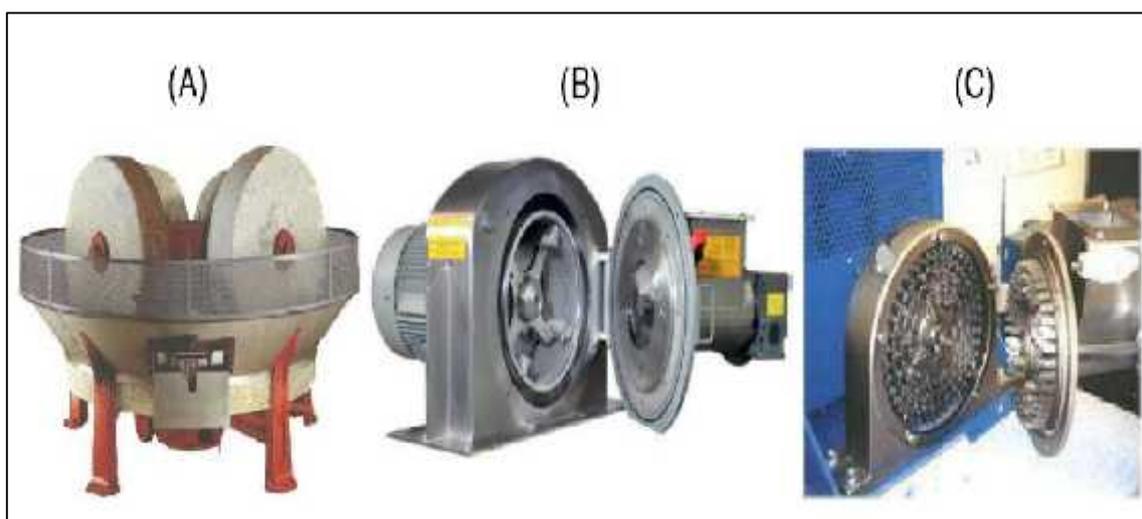


Figure 18: différents type de broyeurs d'olive (Souilem et *al.*, 2017).

A : Broyeur à pierre, B : Broyeur à marteau, C : Broyeur à disque

De nos jours, le broyeur à marteaux et le broyeur à disque (figure 18) sont les plus utilisés dans l'industrie de l'huile d'olive. Ils produisent des huiles contenant de plus grandes quantités de composés phénoliques que les broyeurs à pierres, dues principalement au broyage flash et fin des olives (Souilem et *al.*, 2017). Selon Polari et Wang (2019) la vitesse de broyage, la taille et le diamètre des trous de la grille du broyeur ont un impact considérable sur la composition majeure et mineure de l'huile. En effet, une augmentation des rendements en huile, de la teneur en chlorophylles, des phénols totaux et des dérivés sécoiridoïdes, sont obtenues en utilisant un broyeur dont la grille est dotée de petites perforations (López-Yerena et *al.*, 2021;

Polari et Wang, 2020). Par ailleurs, López-Yerena et al. (2021) ont montré qu'un broyage à haute température des olives provoque une diminution de la teneur en composés phénoliques et une dégradation plus importante des aglycones l'oleuropéine et du ligstroside, ce qui entraîne la formation d'oléacein et d'oleocanthal.

4.4. Malaxage

Le but du malaxage est de séparer la phase huileuse (huile d'olive) de la phase aqueuse, et ce par un pétrissage lent et continu de la pâte d'olive. Il permet ainsi la coalescence des petites gouttelettes d'huile libérées durant l'étape du broyage (Jiménez et al., 2014). Le malaxage s'effectue dans des bacs en inox hermétiques capables de fonctionner en atmosphère contrôlée ou sous vide. Ces conditions permettent d'éviter l'oxydation des polyphénols et contrôler la libération des substances volatiles (Di Giacomo et Roman, 2022).

L'étude réalisée par López-Yerena et al. (2021), en appliquant différents paramètres de malaxage (temps (30 et 60 min) et température (27, 32, et 37°C)), a montré que les huiles d'olive à forte teneur en polyphénols ont été obtenues après 30 min de malaxage à 37°C. En outre, une température du malaxage élevée (jusqu'à 30 et 35 °C) entraîne une augmentation de d'oléocanthal dans les huiles obtenues. En effet, ces températures peuvent réduire l'activité oxydante des polyphénoloxydases et des peroxydases, et augmenter le coefficient de partage entre les phases huileuse et aqueuse de la pâte d'olive. Ce dernier accroît la disponibilité et la solubilité des sécoiridoïdes dans la phase huileuse (De Torres et al., 2016). Plus encore, une durée et une température de malaxage élevées peuvent être la cause de la diminution des composés volatils responsables de l'arôme agréable de l'huile d'olive. Ces conditions entraînent également la production de composés volatils à attributs négatifs comme le 2-méthyl butanol et le 3-méthyl butanol (Kalua et al., 2007).

Par ailleurs, des enzymes ont été proposées comme une aide efficace à l'extraction de l'huile d'olive. L'ajout de cocktails de cellulases, d'hémicellulases et de pectinases durant le malaxage ou après le broyage, a montré une augmentation de la qualité et de la quantité des polyphénols dans les huiles d'olive extraites (une libération accrue des composés phénoliques de la matrice des parois cellulaires). Cependant, les cultivars d'olives et la maturité ont un impact déterminant sur l'efficacité des cocktails enzymatiques sur le rendement et les composés phénoliques de l'huile d'olive (Polari et Wang, 2020).

4.5. Séparation solide/liquide

4.5.1. La presse

La presse d'extraction traditionnelle est encore utilisée de nos jours. Elle fonctionne avec un système discontinu qui passe par trois étapes essentielles : le broyage, le pressage et la séparation des phases. Les olives sont broyées à l'aide de roues en pierre qui tournent sur une cuve fabriquée de la même matière. Le malaxage de la pâte est effectué au même temps que le broyage. Cette étape nécessite généralement plus de temps que les broyeurs métalliques. La pâte est ensuite transférée manuellement et étalée dans des scourtins (doubles disques reliés par le bord extérieur et percés au centre) en fibres. Ces derniers sont empilés les uns sur les autres pour former une colonne verticale à la presse. Une pression hydraulique est appliquée sur la colonne de scourtins va permettre de faire sortir le moût d'huile des bords extérieurs. A la fin de chaque pressage les scourtins sont nettoyés en éliminant le grignon sec (noyau, pulpe et chaire) et ils sont ensuite remplis à nouveau avec de la pâte. L'ajout de petites quantités d'eau est nécessaire pour faciliter la percolation de la phase huileuse. En outre, les margines obtenues par ce procédé sont plus concentrées que les margines des huileries modernes (Kapellakis et *al.*, 2008).



Figure 19: Presse hydraulique.

La séparation des phases liquides (huile et eau de végétation) s'effectue par une simple décantation naturelle dans des bassins de sédimentation. L'huile obtenue par ce système peut contenir une fraction d'eau de végétation qui réduit la durée de conservation de l'huile lorsqu'elle

n'est pas filtrée. Ainsi, une étape de filtration de l'huile est immédiatement nécessaire pour limiter la dégradation de l'huile par les impuretés. En outre, un nettoyage adéquat des scourtins doit se faire régulièrement afin de ne pas accentuer le phénomène d'oxydation qui peut être occasionné par les matières solides restantes dans les scourtins. Par conséquent, la qualité de l'huile d'olive se trouve altérée par la manifestation d'attributs négatifs et de saveurs indésirables, entraînant une perte de la valeur nutritionnelle et commerciale de l'huile (Souilem *et al.*, 2017).

4.5.2. Décanteur à trois phases

La centrifugeuse horizontale est installée sur un système d'extraction continu. La pâte d'olive provenant du malaxeur est acheminée vers un contenant cylindrique à l'extrémité conique. Grâce à une vitesse de rotation élevée, une séparation gravitationnelle des différents constituants est réalisée. Le système de centrifugation à trois phases sépare la pâte en trois fractions distinctes : le moût d'huile, le grignon (résidus solides) et la margine (eau de végétation).



Figure 20 : Centrifugeuse horizontale

Ce système est réputé pour son rendement élevé en huile, la facilité de gestion des effluents (margine et grignon), mais aussi pour sa forte consommation d'eau pendant la séparation des phases. Les deux premières raisons sont celles qui ont favorisé une large utilisation par les oléifacteurs, en dépit de leur impact néfaste sur l'environnement. L'ajout d'une

grande quantité d'eau pendant l'extraction affecte négativement la teneur en polyphénols et la stabilité oxydative de l'huile d'olive. En effet, une grande quantité d'eau favorise la migration de la fraction phénolique (molécules de nature plus ou moins polaires) de l'huile d'olive vers les margines. C'est pourquoi un système de centrifugation biphasée (grignon humide et moût d'huile) a été développé, qui se distingue pour sa faible consommation d'eau. Par ailleurs, le type de système utilisé semble affecter davantage la quantité de polyphénols présents dans l'huile que leur qualité, cette dernière dépendant principalement des activités enzymatiques, notamment lors du malaxage (Cecchi et *al.*, 2018).

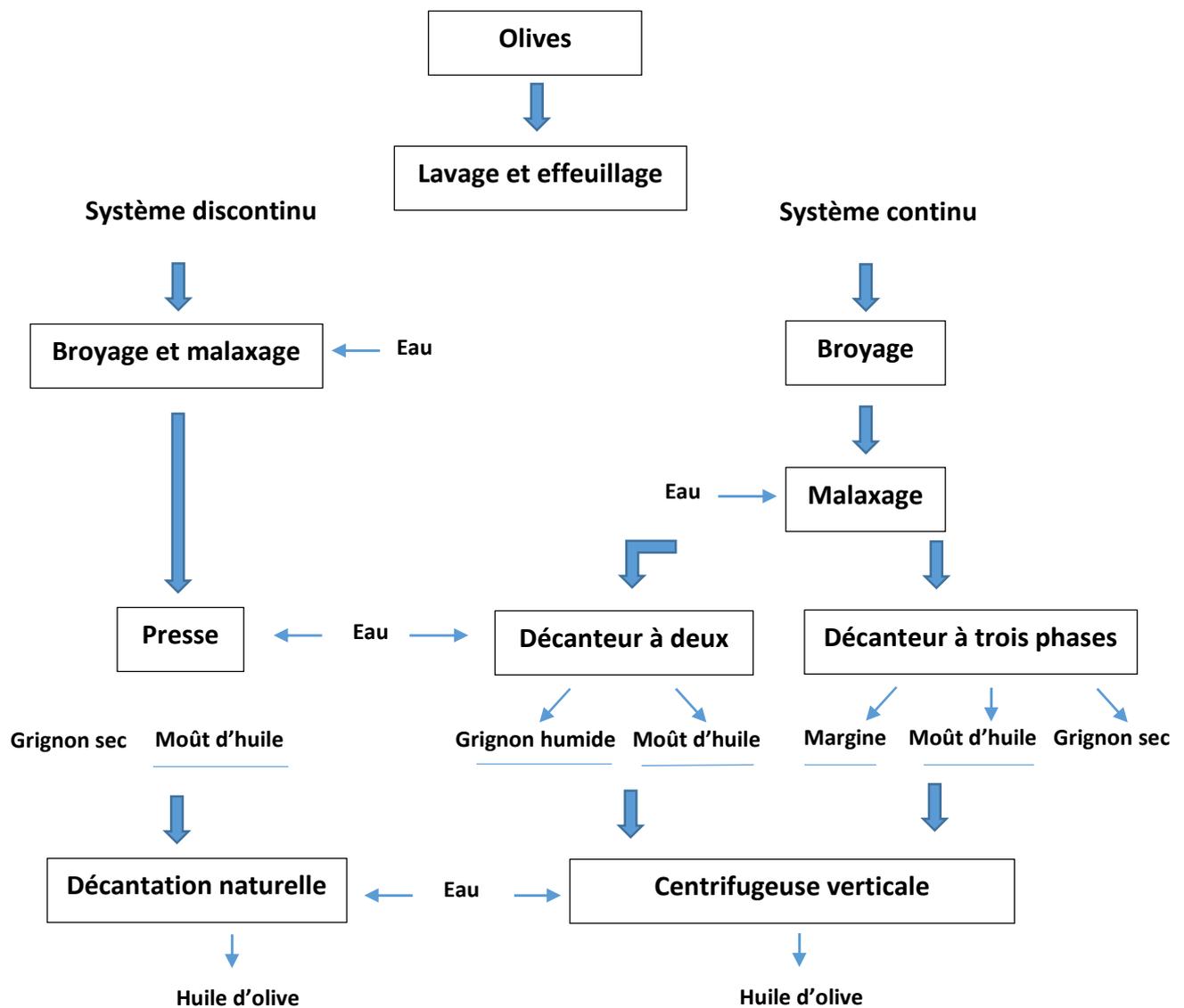


Figure 21: Schémas montrant les principales étapes d'extraction d'huile d'olive

4.5.3. Décanteur à deux phases

Parmi les trois systèmes d'extraction, le système à deux phases est le plus intéressant en termes de quantité de polyphénols dans l'huile, en effet 1,5% des phénols d'olive sont transférés à l'huile par ce système, tandis que la presse traditionnelle et le système de centrifugation à trois phases ont une capacité d'extraction de 1,2% et 0,5 %, respectivement (Klen et Vodopivec, 2012). Ainsi, la qualité de l'huile extraite est de meilleure qualité, plus riche en antioxydants naturels et ayant une durée de conservation plus longue.

Cependant, ce système est connu pour sa production de grignons à forte teneur en humidité (50-70%) et en huile (8-11%) à la sortie de la centrifugeuse horizontale. Ainsi, le grignon humide doit être soumis à une seconde centrifugation verticale pour extraire l'huile résiduelle, en vue d'obtenir un grignon à faible teneur en huile (1 à 2,5 %) (Lama-Muñoz, 2014).

4.5.4. Décanteur à multi-phases

Il s'agit de la dernière technique développée à destination de l'industrie oléicole, qui représente l'évolution du décanteur à deux phases. Ce système produit deux phases solides et une phase huileuse. L'une des phases solides est semblable à celle de la trois phase, tandis que l'autre est une phase dénoyautée appelée « pâte d'olive ». L'extraction de l'huile du décanteur à multi phases s'effectue sans ajout d'eau lors de l'étape de malaxation. Elle produit ainsi une huile plus riche en composés phénoliques, ayant une qualité sensorielle supérieure. Par ailleurs, le pâte d'olive produit constitue une source prometteuse pour l'alimentation humaine (semblable aux tapenades), en raison de sa forte concentration en nombreuses substances à grandes valeurs nutritionnelles et thérapeutiques (Di Giacomo et Romano, 2022).

4.6. Séparation huile/eau

La centrifugeuse verticale peut être employée dans différentes opérations. Elle est généralement utilisée pour la filtration du moût d'huile provenant des différents systèmes d'extraction. Cette étape vise à éliminer l'infime quantité d'eau (élimine près de 0,18%) et les résidus solides qui rendent l'huile trouble et affectent ses caractéristiques sensorielles et organoleptiques.

L'autre objectif des centrifugeuses verticales est également d'obtenir une plus faible quantité d'huile dans les margines produites par le système à presse et à trois phases. Elles sont également utilisées pour extraire l'huile du grignon humide provenant du décanteur à deux phases. La différence étant la sortie du grignon, qui peut être réglée par un anneau de régulation de la centrifugeuse et un ajout plus important de l'eau chaude pour augmenter l'épaisseur de la phase solide.



Figure 22 : centrifugeuse verticale.

Par ailleurs, la centrifugation verticale a certains inconvénients. En effet, l'ajout d'une quantité importante en eau affecte négativement la teneur en composés phénoliques et aromatiques de l'huile extraite (Uceda, Beltrán, et Jiménez, 2006). La centrifugeuse verticale a tendance à augmenter, plus que les autres installations de l'huilerie, le taux d'oxygène dissout dans l'huile d'olive. Ce dernier entraîne une oxydation plus importante de l'huile durant le stockage et une diminution de sa durée de vie (Masella et al., 2009).

5. Conditionnement de l'huile

Le stockage de l'huile doit s'effectuer dans des récipients hermétiques, inoxydables et opaques, pour limiter tout phénomène d'oxydation. La durée de conservation de l'huile d'olive extra vierge peut être définie comme la période de temps durant laquelle l'huile ne développe pas de défauts sensoriels et les paramètres de qualité se situent dans les limites acceptées pour cette catégorie commerciale (Li et Wang, 2018). La dégradation de la qualité de l'HOVE se

produit lentement mais inévitablement, même dans les meilleures conditions de stockage. Durant sa conservation, l'huile d'olive subit des modifications notables dans sa composition physico-chimique, notamment une hydrolyse progressive des triglycérides par les lipases qui entraîne une augmentation de la teneur en acides gras libres.

Par ailleurs, une dégradation lente mais progressive des composés phénoliques est également favorisée, notamment par l'activité des phénoloxydases qui entraîne leur oxydation et la polymérisation des phénols libres (Ryan et Robards, 1998). D'autres études (Ciafardini et Zullo, 2018) ont montré que l'huile d'olive nouvellement produite contient différentes espèces de levures dans les micro-gouttelettes d'eau de végétation qu'elle contient (0,2%), et certaines espèces de levures contribuent grandement à améliorer les caractéristiques sensorielles de l'huile fraîchement produite, tandis que d'autres espèces sont considérées comme nuisibles car elles peuvent dégrader la qualité de l'huile, notamment au cours du stockage par la production de saveurs désagréables et l'hydrolyse des triglycérides.

Partie expérimentale

Chapitre IV

**Evolution de la qualité et de la composition de l'huile
d'olive des cultivars *Chemlal* et *Azeradj*, en fonction de
l'altitude et du degré de maturité**

1. Matériel et méthodes

Cette étude est consacrée particulièrement à la caractérisation des composés lipophiles de l'huile d'olive, notamment le profil en triglycérides, acides gras et tocophérols individuels. Elle vise également à évaluer la sensibilité des cultivars endémiques et dominants de la région de Kabylie (*Chemlal et Azeradj*) aux facteurs les plus déterminants de la qualité de l'huile d'olive. Cette partie a été réalisée avec la collaboration de différents laboratoires de recherche :

- Laboratoire de production et de sauvegarde des espèces menacées et des récoltes, Département de Biologie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), Tizi-Ouzou, Algérie.
- Division de la recherche sur les technologies agroalimentaires, Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA), El Harrach, Alger, Algérie
- Département de technologie alimentaire, Institut de recherche sur l'Olivier, Bornova, Izmir, 35100, Turquie
- Laboratoire de biochimie appliquée, Faculté des sciences naturelles et des sciences de la vie, Université de Bejaia, Bejaia, Algérie.
- Laboratoire de l'Institut Technique d'Arboriculture Fruitière (ITAF) de Sidi-Aiche, Bejaia, Algérie.
- Ecole Nationale supérieure d'Agronomie (ENSA) d'Alger, Algérie.

1.1. Echantillonnage

Le prélèvement des échantillons a été réalisé durant la campagne oléicole de l'année 2017. Les olives proviennent de deux variétés d'olivier dominantes, cultivées en Algérie (var. *Chemlal* et var. *Azeradj*). Les fruits des deux cultivars sont récoltés dans trois vergers commerciaux : Tizi-Ouzou (T), Boghni (B) et Ait-Khellili (A), situés à différentes altitudes (110, 320 et 490 m, respectivement) dans la région oléicole du centre-nord de l'Algérie (Tizi-Ouzou), comme indiqués dans le tableau 5. Les trois oliveraies sont caractérisées par la présence des arbres des deux variétés ayant un âge moyen de 50 ans, une charge importante en olives et un degré de maturité similaire ; afin d'assurer un échantillonnage homogène et éliminer le maximum de facteurs résiduels.

Tableau 5 : Informations sur l'échantillonnage et étiquetages.

Cultivars	Date de récolte	Région	Informations géographiques et climatiques					Température moyenne annuelle
			Altitude	Latitude	Exposition	Système de production	Précipitation annuelle	
Chemlal (C)	25/11/2017 (1)	Tizi-Ouzou (T)	110 m	36°42N	Sud			
	05/12/2017 (2)	Boghni (B)	320 m	36°40N	Sud	Régime traditionnel pluvial	689.0 mm	19.7 °C
	15/12/2017 (3)							
Azeradj (A)	25/12/2017 (4)	Ait-Khellili (A)	490 m	36°32N	Sud-Est			

Les vingt-quatre échantillons ont été codés par deux lettres et un chiffre comme suit : La première lettre désigne les variétés (Chemlal (C), Azeradj (A)), la deuxième les emplacements des vergers (Tizi-Ouzou (T) ; Boghni (B) ; Ait-khellili (A)), les chiffres indiquent la date de récolte (25/11/2017 (1) ; 05/12/2017 (2) ; 15/12/2017 (3) ; 25/12/2017 (4)).

Pour chaque variété, quatre échantillons d'olives ont été récoltés à la main, en suivant la méthode d'échantillonnage proposée par le Conseil Oléicole International (COI, 2011), afin d'obtenir quatre stades de maturité différents (D1, 25 novembre 2017 ; D2, 05 décembre 2017 ; D3, 15 décembre 2017 ; D4, 25 décembre 2017). Après la récolte, les échantillons ont été effeuillés et débarrassés des fruits blessés et ceux attaqués par la mouche d'olive (*Bactrocera oleae*).

1.2. Extraction de l'huile

Les olives, non entassées, ont été transportées dans des caisses en plastique ventilées. La trituration des olives a été effectuée 24 heures après la récolte. Les huiles ont été extraites à l'aide d'un Oléodoseur. Ce mini-moulin à huile fonctionne avec un système d'extraction à deux phases (Grignon humide, huile d'olive) (Figure 23).

Les fruits ont été broyés à l'aide d'un broyeur à marteaux, qui écrase les olives contre une grille perforée avec des trous de 0.8 de diamètre, afin d'obtenir une pâte fine et homogène (1). La pâte est transférée dans des bacs en inox non hermétiques et malaxée pendant 35 minutes à 25 °C à l'aide de palettes rotatoires. Le malaxage permet d'assurer une meilleure coalescence des gouttelettes d'huile et limiter le phénomène d'oxydation (2).

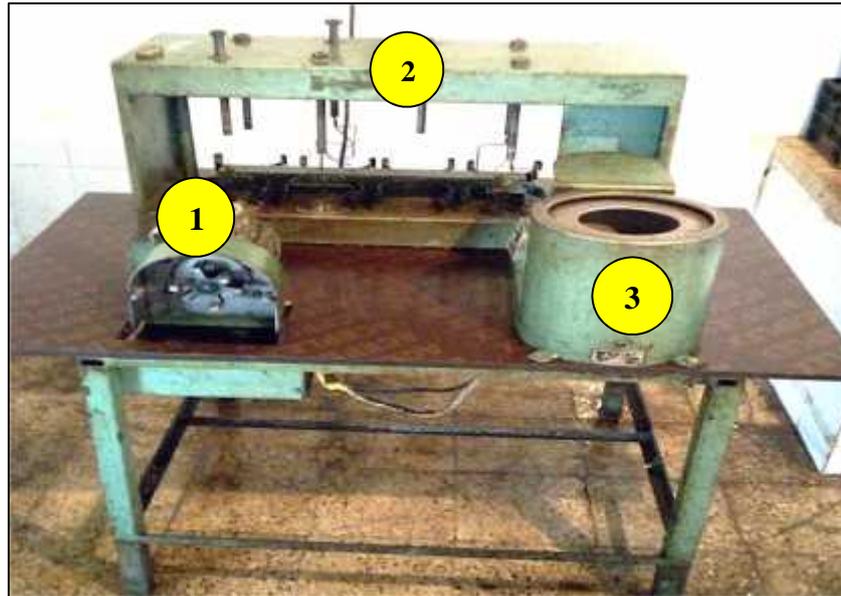


Figure 23: Oléodoseur.

La séparation des phases (huile et grignon humide) est effectuée au moyen d'une centrifugeuse à 3000 tr/min pendant 3 min et sans ajout d'eau (3). Enfin l'huile obtenue est décantée dans des éprouvettes graduées jusqu'à ce que les margines se séparent complètement de l'huile. Les échantillons d'huiles ont été conservés dans des flacons en verre opaque et à une température de 4°C, en attente des analyses.

1.3. Analyse des fruits

1.3.1. Indice de maturité

L'estimation du degré de maturité est basée sur une observation visuelle du changement de la couleur de la pulpe (mésocarpe) et de la peau (épicarpe) de l'olive durant le processus de maturation (Figure 24).



Figure 24 : Variation de la coloration de la pulpe et la chair de l'olive au cours de la maturation, et son influence sur la couleur de l'huile (COI, 2011).

L'indice de maturité (IM) des olives a été déterminé visuellement et quantitativement en suivant la formule développée par la station agronomique Venta del Llano de Jean (Espagne), comme indiqué dans le document du COI (2011):

$$IM = (A*0 + B*1 + C*2 + D*3 + E*4 + F*5 + G*6 + H*7) / 100$$

Où A, B, C, D, E, F, G et H sont respectivement le nombre de fruits des classes indiquées dans la figure 25.



- Classe 0 : Epiderme de couleur vert intense ;
- Classe 1 : Epiderme de couleur vert jaunâtre ;
- Classe 2 : Epiderme de couleur vert avec la moitié du fruit marquée par des taches rougeâtres;
- Classe 3 : Epiderme de couleur rouge ou violet sur plus de la moitié du fruit
- Classe 4 : Epiderme de couleur noire et mésocarpe blanc;
- Classe 5 : Epiderme de couleur noire et la moitié du mésocarpe violet;
- Classe 6 : Epiderme de couleur noire et mésocarpe violet sans atteindre le noyau ;
- Classe 7 : Epiderme de couleur noire et tout le mésocarpe violet .

Figure 25: Coloration des olives au cours de la maturation

I.3.1. Analyses pomologiques

Les caractéristiques morphométriques des drupes pour chaque cultivar ont été évaluées à partir de fruits frais (40 olives) et de leurs noyaux, en suivant la méthode proposée par le COI (1997). Les caractères étudiés sont : le poids du fruit (PF), le poids du noyau (PN), le rapport pulpe/noyau (P/N) et le pourcentage de pulpe (P%).

1.3.2. Humidité des olives

La teneur en eau des olives a été déterminée selon la méthode suggérée par le COI (2011). Plus précisément, 70 g d'olives fraîches ont été écrasés à l'aide d'un mortier et d'un pilon. La pâte a été séchée dans une étuve dans une étuve réglée à une température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$. Les échantillons ont été contrôlés régulièrement jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant.

1.4. Indices de qualité de l'huile d'olive

1.4.1. Acidité libre

La teneur en acidité libre (A%) a été déterminée selon la méthode de solvant à froid, établie par l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO 660, 2009). 10g d'huile sont pesés directement dans un erlenmeyer. Les échantillons d'huile ont été préalablement dissous avec 50 ml du mélange éthanol/ éther-diéthylique (v/v) neutralisé. Après ajout et agitation de l'indicateur coloré (phénolphtaléine à 1%), on titre les solutions préparées avec une solution de l'hydroxyde de potassium à 0,1N jusqu'à l'apparition d'une couleur jaune pâle durant au moins 10 secondes ; indiquant la neutralisation de tous les acides gras libres contenus dans nos échantillons. L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique libre (%).

1.4.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) représente la quantité d'oxygène liée chimiquement à un acide gras ou à des chaînes organiques d'un corps gras sous forme de peroxydes (les hydroperoxydes). Il a été mesuré selon la méthode iodométrique recommandée par l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO 3960, 2007). La valeur du peroxyde est généralement exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme d'huile (meq d'O₂/Kg). Brièvement, dans un erlenmeyer de 250 ml, 2,5g d'huile d'olive vierge ont été dissous avec un mélange d'acide acétique/chloroforme (60 :40, v/v). Après agitation, on ajoute 0,5 ml d'iodure de potassium (KI) (solution aqueuse et saturée à 14g/8ml), et 60 ml d'eau distillée fraîchement bouillie. La solution finale est titrée avec la solution de thiosulfate de sodium à 0.01N, en présence d'empois d'amidon (1%) comme indicateur coloré. Un essai à blanc est nécessaire pour calculer les valeurs du peroxyde.

1.4.3. Les paramètres K232 et K270

L'extinction spécifique K232 (diènes conjugués) et K270 (triènes conjugués) ont été déterminées selon la procédure de l'Organisation internationale de standardisation (ISO 3656, 2011). Les échantillons sont dissous dans du cyclohexane à une concentration de 1% (p/v). L'absorbance de la solution est mesurée aux longueurs d'onde spécifiées 232 nm et 270 nm par rapport au solvant pur, au moyen d'un spectrophotomètre dans la gamme ultra-violet.

1.5. Analyses de la composition en acide gras

J) Préparation des esters méthyliques d'acides gras

La technique la plus utilisée pour la détermination de la composition en acide gras des échantillons d'huile d'olive est la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG). La préparation des ester méthyliques d'acide gras (EMAG) a été effectuée selon la méthode de transestérification à froid, préconisée par la réglementation 2568/91 de la Commission Economique Européenne (CEE, 1991). Les EMAG ont été préparés par agitation vigoureuse d'un mélange de 0.1g d'huile d'olive, 2ml d'heptane et 0.2 ml de la solution méthanolique (2 N) d'hydroxyde de potassium. Le tout a été préparé dans un tube à essai avec un bouchon à vis. Après agitation, on laisse le mélange reposer jusqu'à l'apparition de deux phases distinctes. Puis, la couche supérieure qui contient les esters méthyliques a été prélevée et transférée dans un autre tube. Les solutions d'EMAG ont été conservées au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse chromatographique.

Tableau 6 : Conditions chromatographiques utilisées pour l'identification de la composition en acides gras de l'huile d'olive.

Conditions Chromatographiques	
Chromatographe	Chrompack CP 9002
Détecteur	FID (250°C)
Injecteur	SPLIT 1 /100 (250°C)
Gaz vecteur	Azote
Colonne capillaire	Cp Sil 8 CB (5% phenyl+ 95% dimethyl polysiloxane)
Longueur	30 m
Diamètre intérieur	0.32 mm * 0.25 UM
Epaisseur	0.25 µm
Injecteur	250°C
Détecteur	260°C
Four	200 C° (4C°/mn)
Quantité injectée	0.8 ul
Vitesse du papier	0.5 cm/ mn

J Analyse en chromatographie en phase gazeuse

Les analyses des EMAG ont été réalisées à l'aide d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse (Chrompack CP 9002) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Environ 0,8 μL ont été injectés en mode GC-split à travers une colonne capillaire Cp-Sil 8 CB (5%Phenyl+ 95%dimethylpolysiloxane) caractérisée par un diamètre interne de 0,32 mm et une épaisseur du film de 0.25 μm (Tableau 6). La température du four et de l'injecteur ont été fixées à 200 et 250°C, respectivement. L'azote a été utilisé comme gaz porteur avec un débit de 1 ml/min. Les EMAG ont été détectés à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) réglé à 260°C. L'identification des acides gras a été effectuée en comparant leurs temps de rétention à ceux des composés de référence standard.

1.6. Détermination du profil en triglycérides

La détermination des triglycérides par chromatographie en phase liquide (LC) a été réalisée selon la méthode décrite dans le règlement CEE/2568/91 de la Commission Economique Européenne (CEE, 1991). La séparation des triglycérides est très difficile à réaliser par la technique de CPG à cause de leur polarité qui est très similaire. À cet égard, 0,5 g d'huile d'olive ont été dilués dans 10 ml d'acétone (p/v), puis 0,5 μL de la solution ont été injectés dans un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (Agilent 1200) équipé d'une colonne RP- 18 (Merck, Allemagne ; 250 \times 4 mm de diamètre interne \times 4 μm).

La phase mobile utilisée était un gradient isocratique d'acétone/acétonitrile (63.6 :36.4, v/v) avec un débit de 1,2 ml/min. La pression a été réglée à 2 bars et la température à 35° C. Ainsi, les différents triglycérides de l'huile d'olive ont été séparés selon leur nombre de carbone équivalent (NEC), qui est intimement lié à la longueur de la chaîne et au degré d'insaturation des acides gras porté par le triglycéride.

1.7. Analyse des tocophérols

La composition en tocophérols individuels (α -, β -, γ - and δ - tocophérol) a été déterminée au moyen de la technique chromatographique HPLC, décrite par Köseoglu et al. (2016). L'analyse a été réalisée à l'aide d'un système analytique, Agilent 1100, équipé d'une colonne μ -

porasil (250 × 4,6 mm de diamètre interne × 5 µm). Le volume d'injection de 20 µL a été élué dans une phase mobile hexane/2-propanol (99 :1, v/v) avec un débit de 1 ml/min et une température de 25° C. L'identification des différents tocophérols a été réalisée au moyen d'un détecteur à barrette photodiodes (DAD) a été réglé sur une longueur d'onde de 292 nm. Les valeurs obtenues ont été exprimés en mg de tocophérol par kilogramme d'huile.

1.8. Teneur en chlorophylles et caroténoïdes

La teneur en chlorophylles et en caroténoïdes a été mesurée selon la méthode de spectrophotométrie décrite par Minguez-Mosquera et al. (1991). Brièvement, 7,5 g de l'échantillon testé ont été dissous dans 25 ml de cyclohexane, puis le mélange a été analysé avec un spectrophotomètre UV-VIS réglé à 670 et 470 nm, qui sont les maximums d'absorption des chlorophylles et des caroténoïdes, respectivement. La teneur en chlorophylles a été calculée comme s'il s'agissait de la totalité de la phéophytine "a", connue comme la fraction majeure des chlorophylles, en utilisant les valeurs des coefficients d'extinction spécifiques de cette fraction $E_0 = 613$. La concentration en caroténoïdes a été calculée également en fonction de son composant principal, la lutéine, avec son coefficient d'extinction spécifique $E_0 = 2000$. Les teneurs en pigments ont été déterminées à l'aide de la formule suivante:

$$\text{Chlorophylles} \quad (mg_{\text{pheophytin 'a'}} / kg) \times (A_{670} \mid 10^6) / (E_0 \mid 100 \mid d)$$

$$\text{Caroténoïdes} \quad (mg_{\text{lutein}} / kg) \times (A_{470} \mid 10^6) / (E_0 \mid 100 \mid d)$$

« A » est l'absorbance et « d » est l'épaisseur de la cellule du spectrophotomètre (10 mm).

1.9. Stabilité oxydative par Rancimat

La stabilité oxydative des huiles d'olive extra vierges provenant de la variété *Chemlal* et *Azeradj* a été évaluée par le biais d'un appareil Rancimat 743 (Metrohm Ltd., Herisau, Suède). Une quantité d'huile de 4g est soumise en continu à un flux d'air de 20 litres /heure et à une température constante de 120° C. L'indice de stabilité oxydative (temps d'induction) lié à l'apparition des produits d'oxydation secondaire est mesuré en permanence avec la conductivité électrique de l'appareil. Les valeurs de stabilité oxydative (SO) ont été exprimées en unité de temps (heure).

1.10. Analyse statistique

Les données récoltées dans cette étude ont été analysées avec le logiciel statistique MINITAB 19 (MINITAB, USA). Le test de variance ANOVA a été utilisé afin d'évaluer l'effet du facteur « Date de récolte », « Altitude » et « Cultivar » sur les caractéristiques de l'huile et des olives de la variété *Chemlal* et *Azeradj*. Les différences significatives ($<0,05$) entre les moyennes ont été déterminées par une ANOVA à un facteur, appuyées par un test post-hoc de Fisher (LSD) afin de définir les différents groupes homogènes existants. Afin d'évaluer les effets directs de chaque facteur et des interactions possibles, l'analyse de nos données a été renforcée par le test de modèle linéaire général, intégrant un pourcentage de contribution pour chaque facteur étudié. Enfin, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les échantillons des deux variétés, en prenant la composition en acides gras et en triglycérides comme variables discriminantes.

2. Résultats et discussions

2.1. Indice de maturité

L'olive pendant la véraison (septembre-février) passe par différents stades de coloration allant du vert au noir, en passant par le violet. L'indice de maturité développé par la station expérimentale Venta del Llano de Mengibar (Jaén, Espagne) est l'indice le plus utilisé pour évaluer quantitativement l'état de maturité des olives. Il est également un critère indispensable pour la détermination de la date optimale de récolte (COI, 2011). L'indice de maturité des olives a été évalué après chaque campagne de récolte. Les résultats obtenus montrent une augmentation linéaire de l'indice de maturité (du 25 novembre au 25 décembre) chez les deux cultivars (Figure 26).

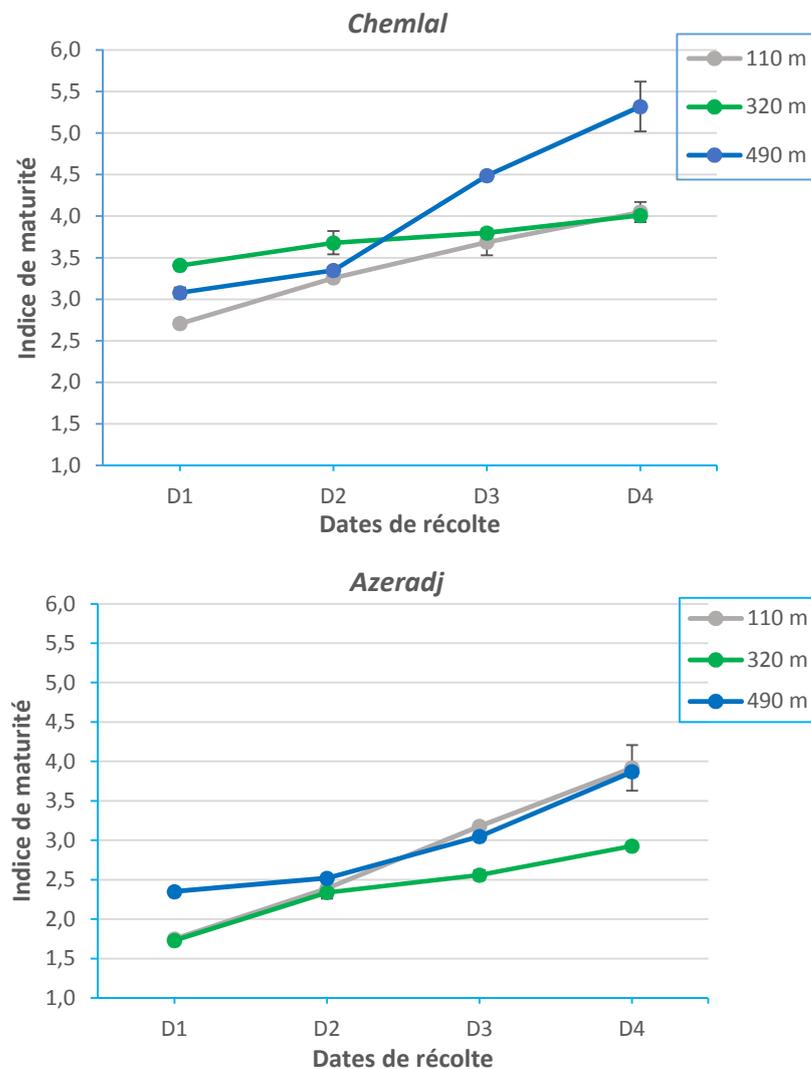


Figure 26 : Indices de maturité des olives du cultivar *Chemlal* et *Azeradj*
Test ANOVA : altitude ($P=0,00$) ; maturité ($P=0,00$).

Ce phénomène visuel est dû aux changements dans les rapports de pigmentation des chlorophylles, des caroténoïdes et des anthocyanes qui se produisent à l'intérieur de la drupe pendant les phases de maturation, générant une succession de couleurs d'olive allant du vert, du violet au noir (Roca and Minguez, 2001).

Les fruits de *Chemlal* sont caractérisés par des degrés de maturité plus avancés par rapport à ceux des cultivars *Azeradj*. Les olives de *Chemlal* ont ainsi atteint le stade de maturité noire avec un indice de maturité supérieur à 4 lors de la dernière date de récolte, et ce dans les différents sites. Une différence très hautement significative ($P < 0.01$) a été observée entre les deux cultivars, ce qui peut suggérer que le cultivar *Chemlal* a une maturité plus précoce que *Azeradj*. Selon Baccouri et al. (2008), la maturation précoce ou tardive du fruit de certaines cultivars d'olivier est principalement due à l'influence du facteur génétique sur le processus de maturation. Par ailleurs, les données présentées dans la figure 26 montrent que le changement d'altitude de la zone de culture a une influence non significative ($P > 0.05$) sur le processus de maturation des deux cultivars. Cela montre clairement que la maturation des olives est plus dépendante du cultivar que de l'altitude des vergers oléicoles.

2.2. Paramètres du fruit

L'étude pomologique du fruit, à travers les différentes mesures morphométriques des olives, permet de classer la production des différentes cultivars d'olivier en fonction notamment du volume du fruit, en différentes destinations : olive de table, huile d'olive ou à double fin (COI, 1997). Les analyses morphométriques permettent également de suivre l'évolution de la croissance des olives au cours de la maturation.

Les mesures effectuées sur les fruits récoltés dans les différentes zones de culture (figure 27) ont révélé que les oliviers cultivés à une altitude de 490 m, produisent des olives caractérisées par une diminution du poids sec et frais. Les poids moyens de ces dernières dans le verger d'Ait-khellili, sont de 0,75 g et 1,12 g pour le cultivar *Chemlal* et de 1,18 g et 2,22 g pour *Azeradj*, respectivement ; ce sont les valeurs les plus basses (moyenne de toutes les dates de récolte) enregistrées pour les deux cultivars. En revanche, les olives récoltées à 110 m d'altitude étaient caractérisées par un pourcentage élevé de la pulpe et un rapport pulpe/noyau (P/N) de 4,43 et 7,15 observés respectivement dans les cultivars *Chemlal* et *Azeradj*. Des résultats similaires ont été trouvés par Di Vaio et al. (2013) sur les cultivars endémiques du sud

de l'Italie. Cette différence dans la croissance des fruits provenant de haute et basse altitude est probablement due à une meilleure nutrition des oliviers cultivés dans les plaines.

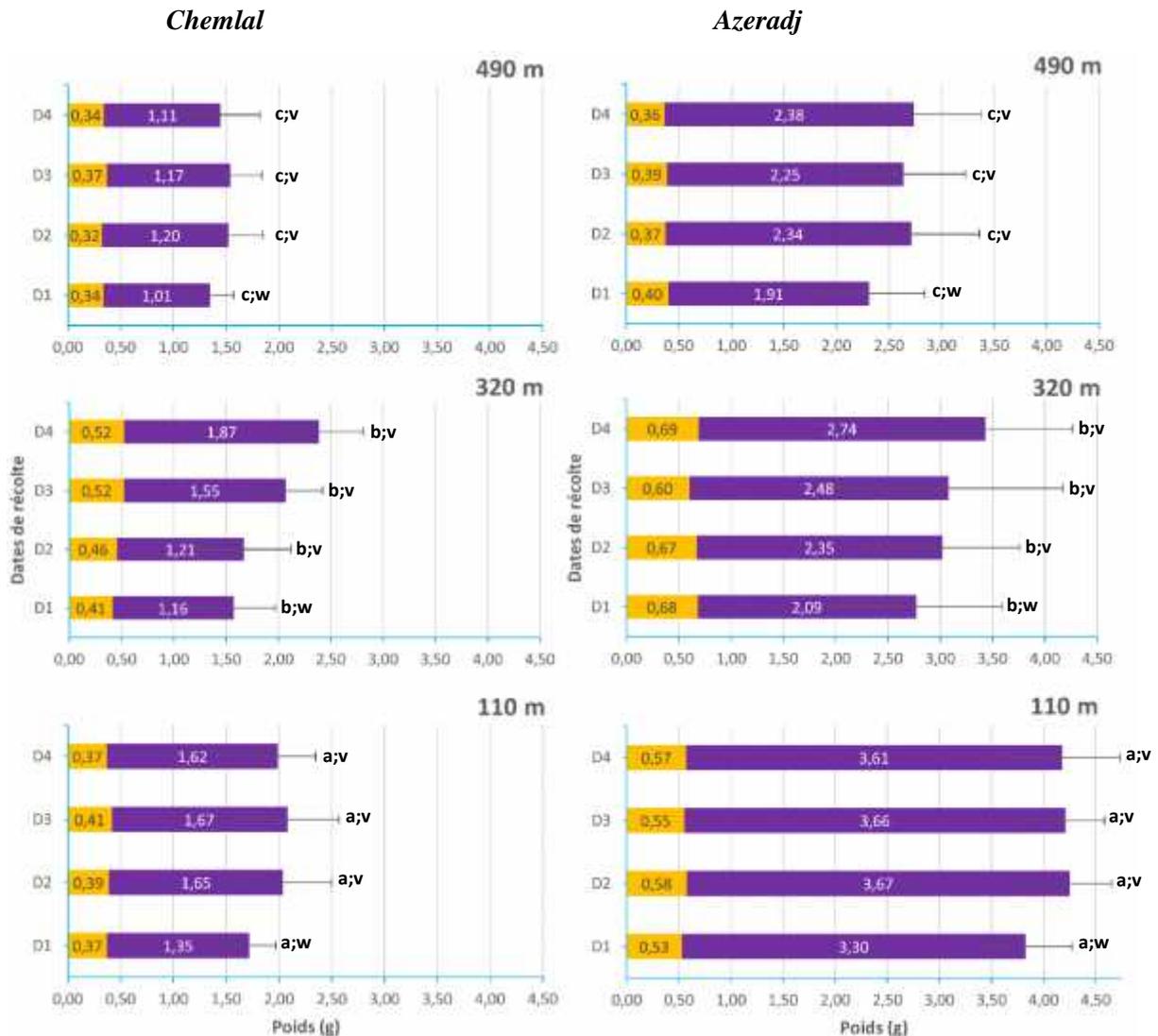


Figure 27: Poids des olives selon à l'altitude et la période de récolte.

Noyau (jaune), pulpe (violet). Les différences significatives ($p < 0,05$), a-c se réfèrent à l'effet variétal et v-x à l'effet du temps de récolte

En outre, le cultivar *Azeradj* se distingue par ses caractéristiques pomologiques supérieures à celles du cultivar *Chemlal*, notamment en termes de poids sec et frais du fruit. Ces derniers varient respectivement de 2,31 g à 4,25 g et de 1,35 g à 2,39 g pour les deux cultivars. L'étude de Al-Maaitah et al. (2009) a montré des résultats similaires sur la relation entre le poids et le cultivar du fruit. Le rapport P/N élevé ($\approx 5,31$) des fruits du cultivar *Azeradj* permet de la classer dans la catégorie d'olive à double fin, ce qui coïncide avec la classification de l'Institut technique d'arboriculture fruitière (ITAF, 2012).

Les données recueillies sur les fruits des cultivars *Chemlal* et *Azeradj* (Figure 27) ont montré une augmentation légère mais significative du poids du fruit, du ratio pulpe/ noyau et du pourcentage de la pulpe, au fur et à mesure de la maturation. En outre, le poids sec des fruits a augmenté de plus de 10 % (du 25 novembre au 25 décembre), accompagné notamment d'une légère augmentation du pourcentage de chair, avec une croissance de près de 5 % par rapport aux fruits de la récolte initiale. Ces observations sont en accord avec les résultats trouvés par Desouky et al. (2009) sur les cultivars turcs. Selon les résultats illustrés dans la figure 28, les fruits à un stade avancé de maturation (CT4, AT4, CA4) ont tendance à perdre leur poids frais ; ceci est probablement dû à la perte d'humidité de l'olive et/ou à la chute des fruits lourds survenant dans la phase finale de maturation (Mailer et al., 2007).

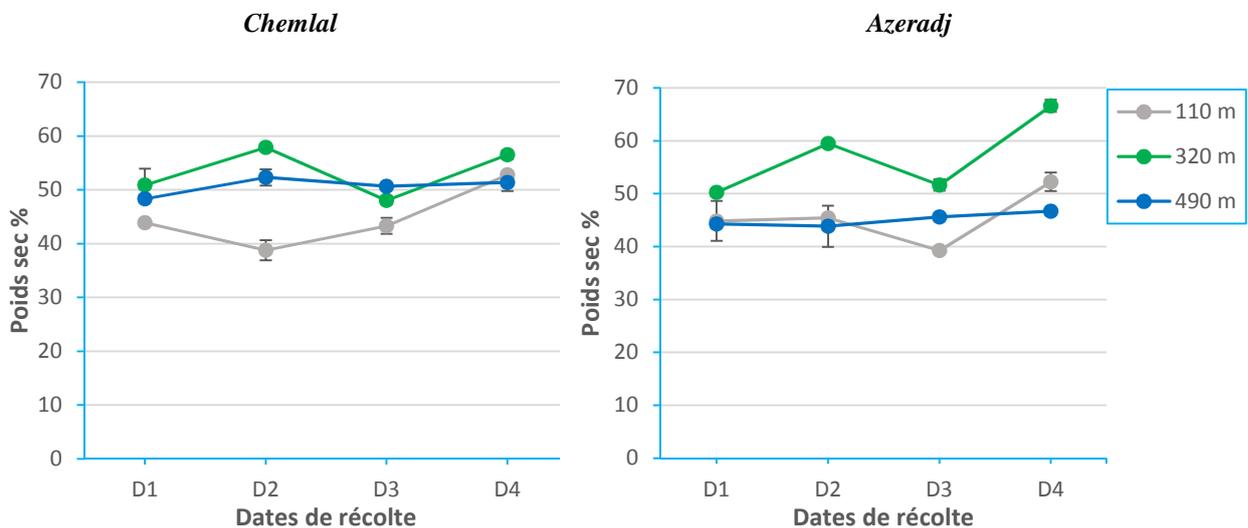


Figure 28 : Pourcentage de la matière sèche des olives des deux cultivars.
Significativité des résultats : altitude ($P=0,00$) ; maturité ($P=0,10$).

D'autre part, le pourcentage d'eau déduit des résultats obtenus à partir de la matière sèche du fruit a présenté un niveau élevé 50% au niveau de la première date de récolte (D1) et tend à diminuer dans les fruits pendant la période de maturation. Des résultats similaires ont été observés par Yorulmaz et al. (2013) sur le cultivar Edremit. Par ailleurs, l'augmentation du poids sec des fruits confirme que l'olive continue son développement durant la période de maturation (figure 28).

2.3. Indices de qualité

Les résultats obtenus sur les paramètres de qualité de base (la figure 29) sur l'acidité (A%), l'indice de peroxyde (IP) et l'extinction spécifique (K232 et K270) ont été largement inférieurs aux limites établies par le COI (2019). Ces valeurs positives permettent de classer tous les échantillons dans la catégorie des huiles d'olive vierge extra (HOVE). De plus, les faibles valeurs de ces paramètres de qualité peuvent être très déterminantes pour la durée de conservation de l'huile d'olive pendant le stockage ; en réduisant l'initiation à l'oxydation de ses huiles (Fadda et *al.*, 2012).

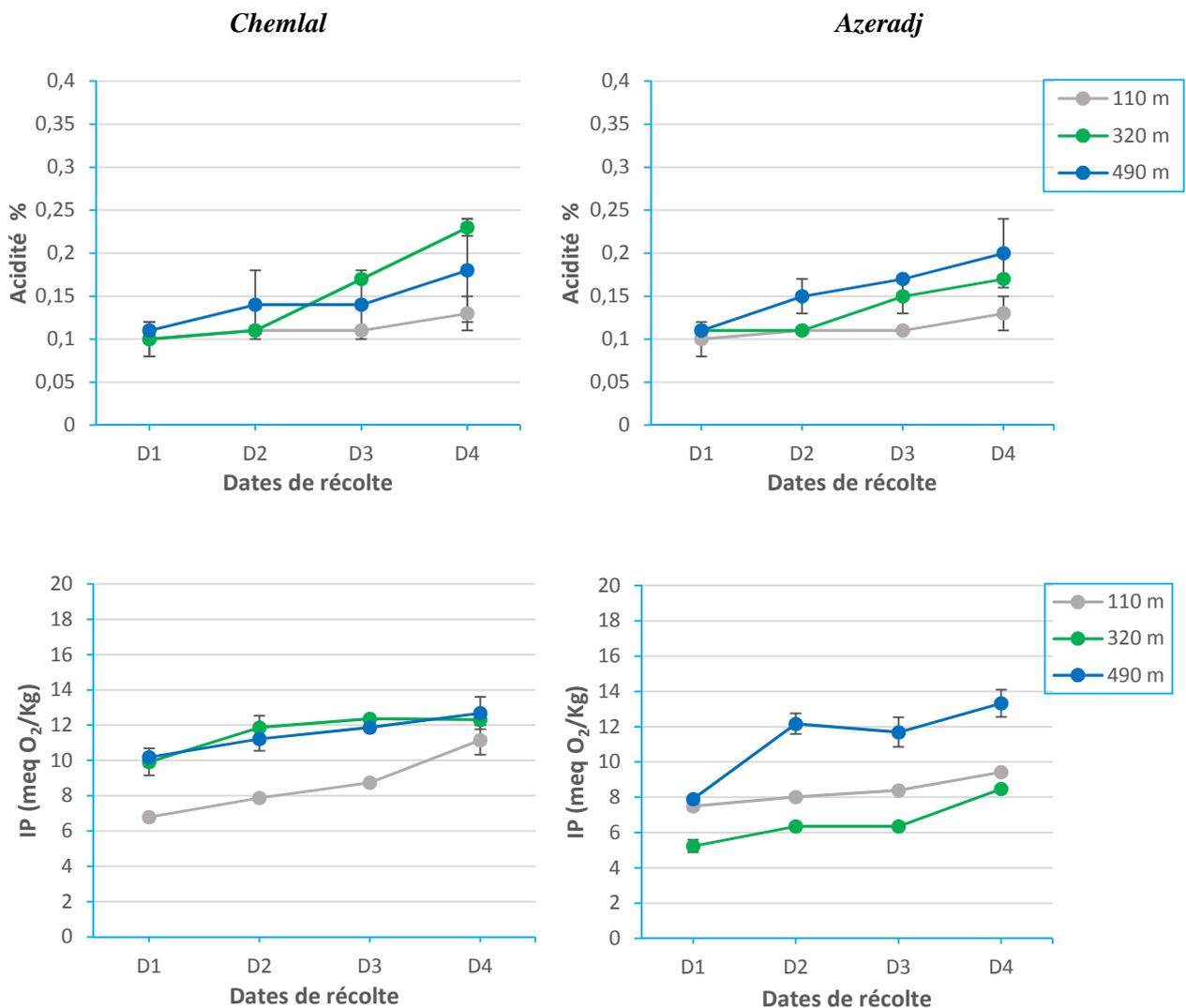


Figure 29: Teneur en acidité libre et en peroxyde des échantillons analysés.

Test ANOVA pour l'acidité: altitude (P=0,00) ; maturité (P=0,01). Test ANOVA pour l'IP: altitude (P=0,001) ; maturité (P=0,00).

Notre analyse des données recueillies sur les différentes altitudes et cultivars a révélé que le pourcentage d'acides gras libres est très faible et proche de 0,10 % au niveau des

premières récoltes, et tend à s'accumuler légèrement mais de manière continue au cours de la maturation pour atteindre le niveau maximal de 0,13 % à 0,20 % lors de la dernière récolte (25 décembre). L'augmentation de l'acidité est probablement liée à l'activité enzymatique exponentielle des lipases au cours du processus de maturation des olives (Martinez-Suarez, 1973). Les variations de la teneur en acides gras libres se sont révélées significatives ($P < 0,05$) et concordent avec les résultats d'autres auteurs (Desouky et *al.*, 2009 ; Bengana et *al.*, 2013). En outre, les huiles obtenues au niveau des hautes collines d'Ait-Khellili (échantillons CA et AA) ont montré des niveaux légèrement plus élevés en acides gras libres, en particulier l'huile du cultivar *Azeradj*, avec 0,20 % d'acide oléique libre. L'altitude semble augmenter significativement ($P < 0,05$) le taux d'hydrolyse des lipides dans les deux cultivars. Cependant, Ouni et *al.* (2012) ont révélé l'effet inverse de l'altitude sur ce paramètre.

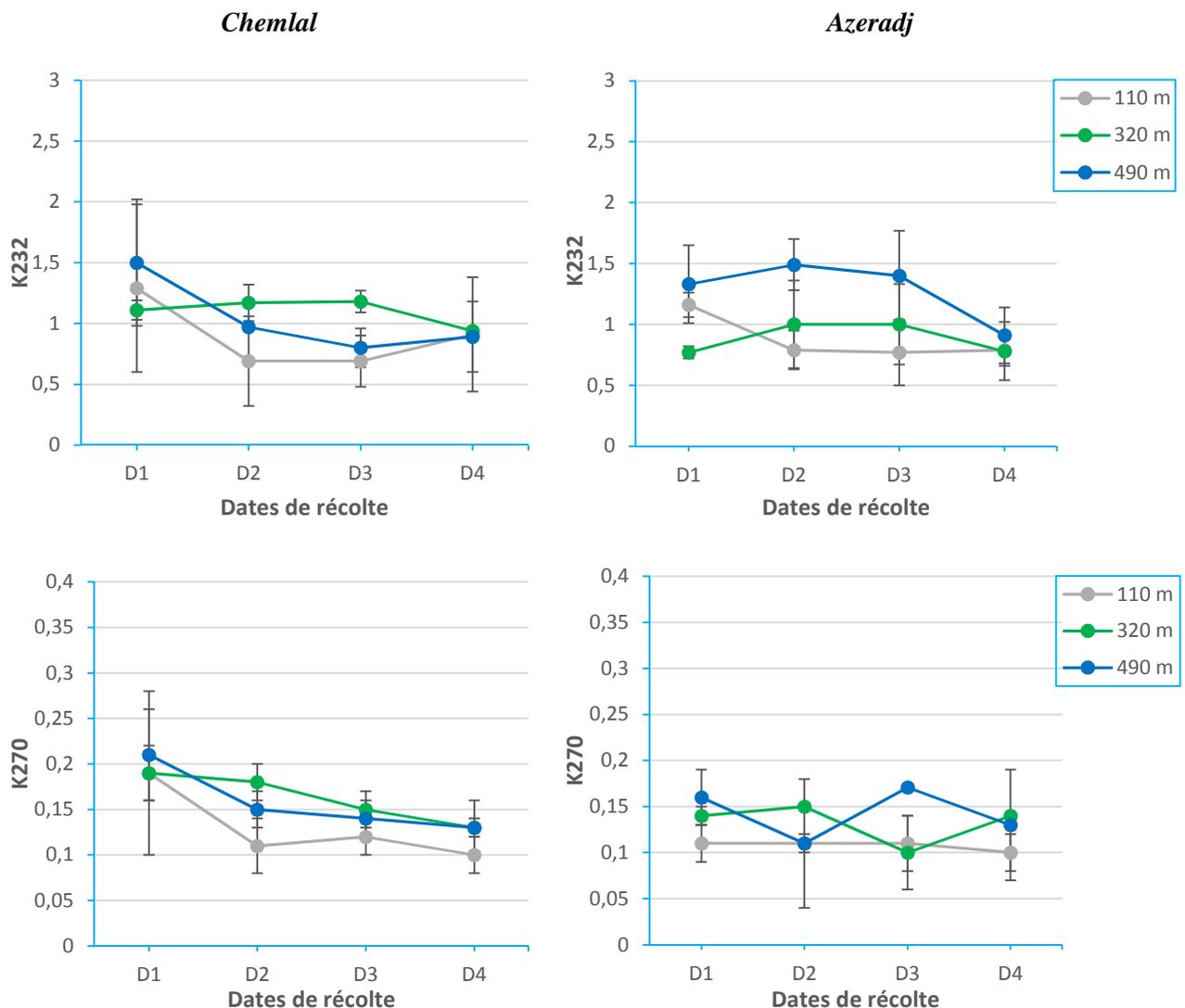


Figure 30: Teneur en K232 et K270 des huiles analysées.

Test ANOVA du K232: altitude ($P=0,046$) ; maturité ($P=0,23$). Test ANOVA du K270: altitude ($P=0,049$) ; maturité ($P=0,02$).

Les valeurs de K232 et K270, reflétant respectivement les contenus des produits d'oxydation primaires (diène conjugué) et secondaires (aldéhydes, cétones), ont montré une légère diminution pendant la maturation des olives des deux cultivars. Leur comportement est similaire aux résultats rapportés par Baccouri et al. (2008), notamment les valeurs minimales enregistrées durant les dernières dates de récolte. Cependant, ces variations dans les valeurs de K232 et K270 ont été trouvées non significatives ($P > 0,05$) dans les huiles analysées. Cependant, le test ANOVA a révélé un effet considérable ($P=0,049$ et $P=0,046$) de l'altitude sur la variation des produits d'oxydation primaire et secondaire, respectivement. En effet, les valeurs maximales du coefficient d'extinction K232 et K270 sont enregistrées dans les huiles récoltées dans l'oliveraie située à 490 m d'altitude. Leurs valeurs sont comprises entre 1,50 et 0,21 pour *Chemlal*, et 1,49 et 0,16 pour *Azeradj*.

D'après les résultats répertoriés dans la figure 30, les valeurs d'indice de peroxyde ont augmenté de manière significative au cours de la maturation des olives des deux cultivars. Par ailleurs, les valeurs d'indice de peroxyde les plus élevées ont été enregistrées dans le verger d'Ait-khellili avec des niveaux allant de 10,19 à 12,69 meq O₂/kg dans les huiles de *Chemlal* et de 7,91 à 13,33 meq O₂/kg dans les huiles d'*Azeradj*. Ces valeurs sont significativement ($P > 0,05$) supérieures aux valeurs observées dans les huiles produites à basse altitude (110 m). Dag et al. (2011) ont obtenu des résultats similaires et ont attribué cette tendance à l'influence du caractère variétal. Plusieurs études (Uceda et al., 1992 ; Freihat et al., 2008) ont lié les différents changements observés dans les indices de peroxyde à la modification de l'activité de la lipoxigénase survenant au cours du processus de maturité et au changement d'altitude de la culture.

2.4. Composition en acides gras

Les principaux acides gras identifiés sont l'acide myristique (C14:0), palmitique (C16:0), palmitoléique (C16:1), margarique (C17:0), stéarique (C18:0), oléique (C18:1), linoléique (C18:2), linoléique (C18:3), arachidique (C20:0), gadoléique (C20:1) et béhénique (C22:0). Dans tous les échantillons d'HOVE, le profil des acides gras était dominé par l'acide oléique avec un pourcentage dépassant 61% des acides gras totaux. De plus, les teneurs en acide oléique varient de 69,90% à 74,05% et de 61,14 à 67,67% dans le cultivar *Azeradj* et *Chemlal*, respectivement.



Figure 31 : composition en acides gras majeurs des huiles de Chemlal et Azeradj.

En outre, les huiles du cultivar *Azeradj* sont plus riches en acide oléique (Figure 32), comme le rapportent Douzane et al. (2012). Pendant la maturation des fruits, les variations de quantité d'acide oléique se comportent différemment chez les deux cultivars. En effet, son niveau le plus élevé a été observé aux premières dates de récolte (D1, D2) chez *Chemlal*, puis il diminue continuellement au fur et à mesure que les olives mûrissent. La teneur en acide

oléique, dans les huiles d'*Azeradj*, augmente au cours du processus de maturation pour atteindre le niveau maximum lors des dernières récoltes, mais suivi d'une légère diminution dans certains stades avancés de maturation (AT4 et AA4). Des tendances similaires ont été observées par Zaringhalami et al. (2015).

Les résultats illustrés dans la figure 31 ont révélé que la teneur en acide linoléique, un autre acide gras important de l'huile d'olive, a augmenté durant la période de maturation chez les deux cultivars. Ainsi, une tendance opposée a été observée dans la teneur en acide oléique et linoléique, ce qui a entraîné une diminution de leur rapport (oléique/linoléique) au cours de la maturation de l'olive. Ce comportement peut être dû à l'activité de l'enzyme oléate desaturase au cours du processus de maturation du fruit. Cette enzyme est connue pour transformer l'acide oléique en acide linoléique (Gutiérrez et al., 1999, Baccouri et al., 2008).

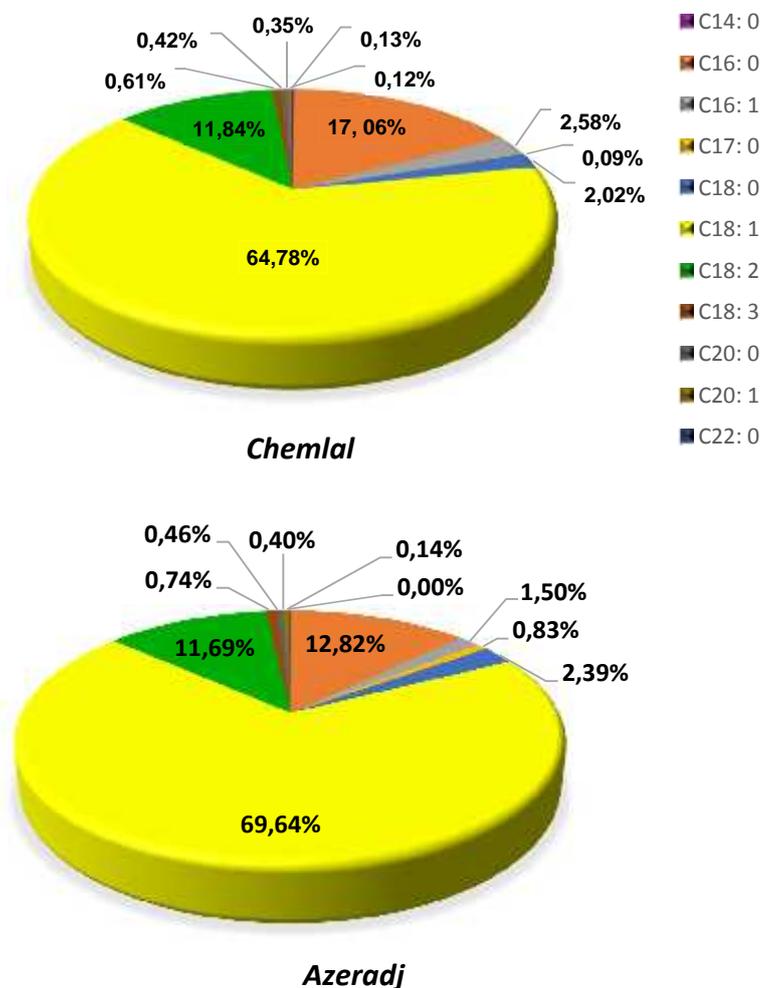


Figure 32 : profil en acides gras des huiles de *Chemlal* et *Azeradj*.

La teneur en acide palmitique a montré une variation non significative ($P = 0,05$) au cours des différentes étapes de maturation. Cependant, une légère diminution peut être remarquée au niveau de la dernière récolte D4, probablement due à un facteur de dilution (Baccouri et *al.*, 2008). Ce dernier, est généralement dû à des teneurs stables en C16:0, accompagnées d'une plus grande synthèse d'autres acides gras.

Contrairement à la distribution de l'acide oléique dans les deux cultivars, les quantités d'acide palmitique étaient plus élevées dans les huiles extraites du cultivar *Chemlal* que du cultivar *Azeradj*, avec des variations de l'acide palmitique allant de 13,12 à 17,92% et de 8,63 à 14,0%, respectivement. Nos résultats sont en accord avec les observations de Boucheffa et *al.* (2018) sur les cultivars algériens. Plusieurs études ont indiqué une forte influence du facteur génétique sur l'évolution de la composition des acides gras de l'huile d'olive (Mailer et *al.*, 2007 ; Baccouri et *al.*, 2008 ; Zaringhalami et *al.*, 2015).

En termes de changements d'altitude, aucune variation claire n'a été observée pour les acides oléique et palmitique. Cependant, l'effet de ce facteur est définitivement plus apparent dans les variations des ratios oléique/linoléique et AGMI/AGPI. Les deux cultivars ont répondu différemment à l'altitude du verger. Ainsi, les valeurs les plus basses du rapport oléique/linoléique (variant de 4,99 à 6,69) et AGMI/AGPI (variant de 4,78 à 6,35) ont été enregistrées à basse altitude pour le cultivar *Azeradj*, alors que le cultivar *Chemlal* présentait les niveaux les plus élevés de ces ratios. Selon d'autres études (Mailer et *al.*, 2007 ; Freihat et *al.*, 2008), la composition en acide gras de l'huile d'olive monovariétale est largement influencée par les conditions de culture. Grâce à la richesse du cultivar *Azeradj* en acide oléique, le rapport AGPI/AGS s'est avéré plus élevé chez ce cultivar et particulièrement remarquable dans les oliviers cultivés à basse altitude. Le niveau élevé du rapport AGPI/AGS est probablement lié à l'activité de l'oléate désaturase qui augmente avec la température élevée présente à basse altitude (Garcés et *al.*, 1992).

2.5. Profil en triglycérides

La composition en triacylglycérols (TAG) (%) est considérée comme un marqueur biochimique pour la classification des huiles d'olive monovariétales. La trioléine (OOO) domine le profil en TAG dans tous les échantillons d'huile d'olive, avec des taux allant respectivement de 24 à 32% et de 31 à 42% dans les cultivars *Chemlal* et *Azeradj*. Des résultats similaires ont été indiqués dans la littérature (Köseolu et *al.*, 2016). En outre, les niveaux de trioléine les plus élevés ont été obtenus à partir d'oliviers cultivés à l'altitude de 320m.

Cependant, des variations peu importantes ($P=0,169$) de la trioléine ont été trouvées à travers les changements de maturation. Ces derniers sont probablement causés par des indices de maturité proches (Sevim *et al.*, 2017). En outre, Covas *et al.* (2009) soutiennent qu'une alimentation riche en AGMI est corrélée à une faible incidence en maladies cardiovasculaires. En effet, l'acide oléique ne possède qu'une seule double liaison, ce qui rend l'huile d'olive plus résistante à l'oxydation et contribue à sa longue durée de conservation par rapport aux huiles de graines (Owen *et al.*, 2000).

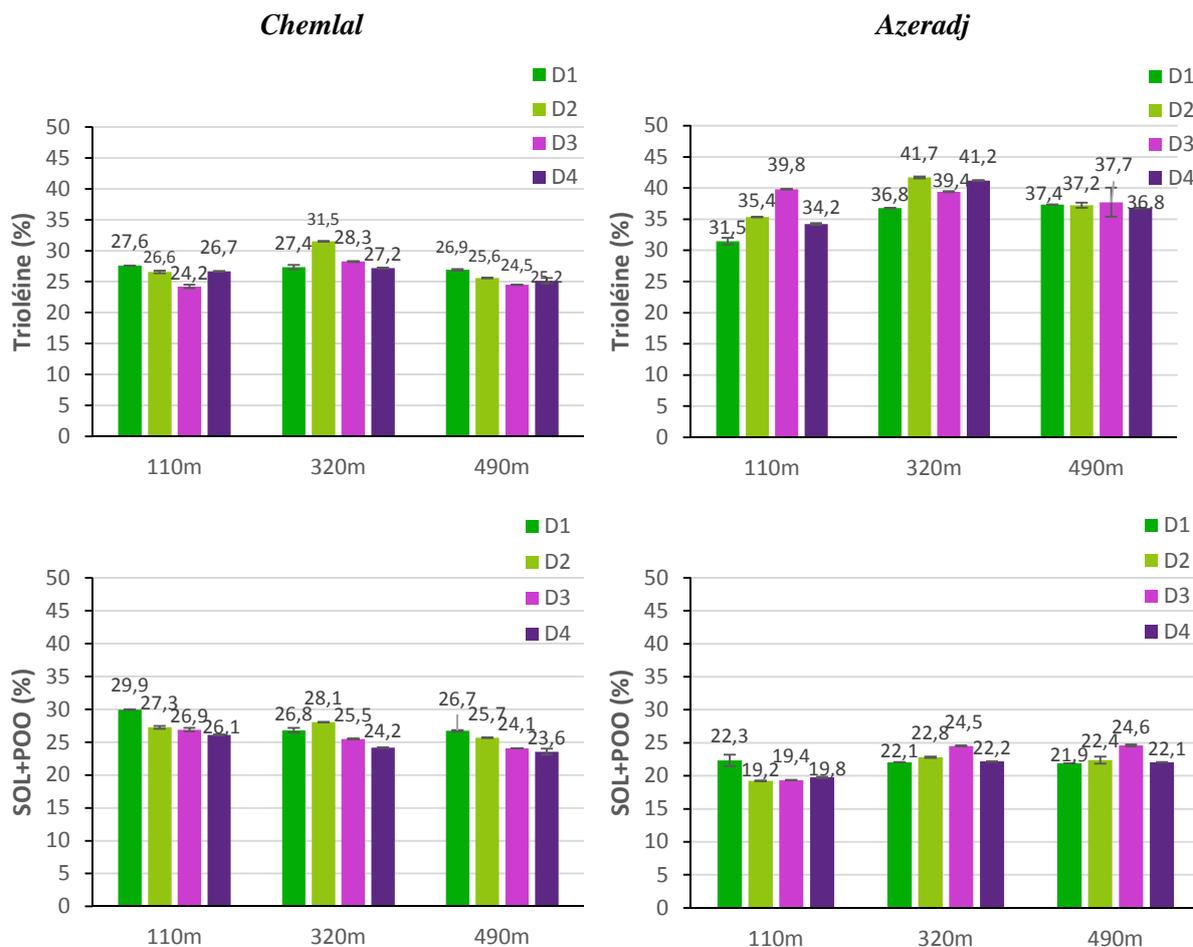


Figure 33 : Variations de la teneur des principaux triglycérides de l'huile des deux cultivars. Significativité de la trioléine: altitude ($P=0,00$); maturité ($P=0,169$). Significativité du SOL+POO: altitude ($P=0,00$); maturité ($P=0,00$).

Le deuxième pic de triglycérides le plus important récupéré par le système HPLC correspond au mélange de triacylglycérols SOL+POO. Ce dernier varie significativement ($P=0,05$) dans les deux cultivars *Chemlal* et *Azeradj*, et oscille entre 19,24% et 24,59% et de 23,55% et 29,94 %, respectivement. Des résultats similaires ont été observés par Aranda *et al.* (2004) sur la variété espagnole *Cornicabra*, dont la teneur en SOL+POO dépend notamment des phases de maturation du fruit. En outre, nos résultats ont révélé une diminution significative

2.6. Teneur en chlorophylles et en caroténoïdes

Les chlorophylles et les caroténoïdes sont impliqués dans la coloration et l'activité anti-oxydante de l'huile d'olive. Cependant, les chlorophylles ont tendance à se transformer en pro-oxydants au contact de la lumière (Minguez et al. 1991).

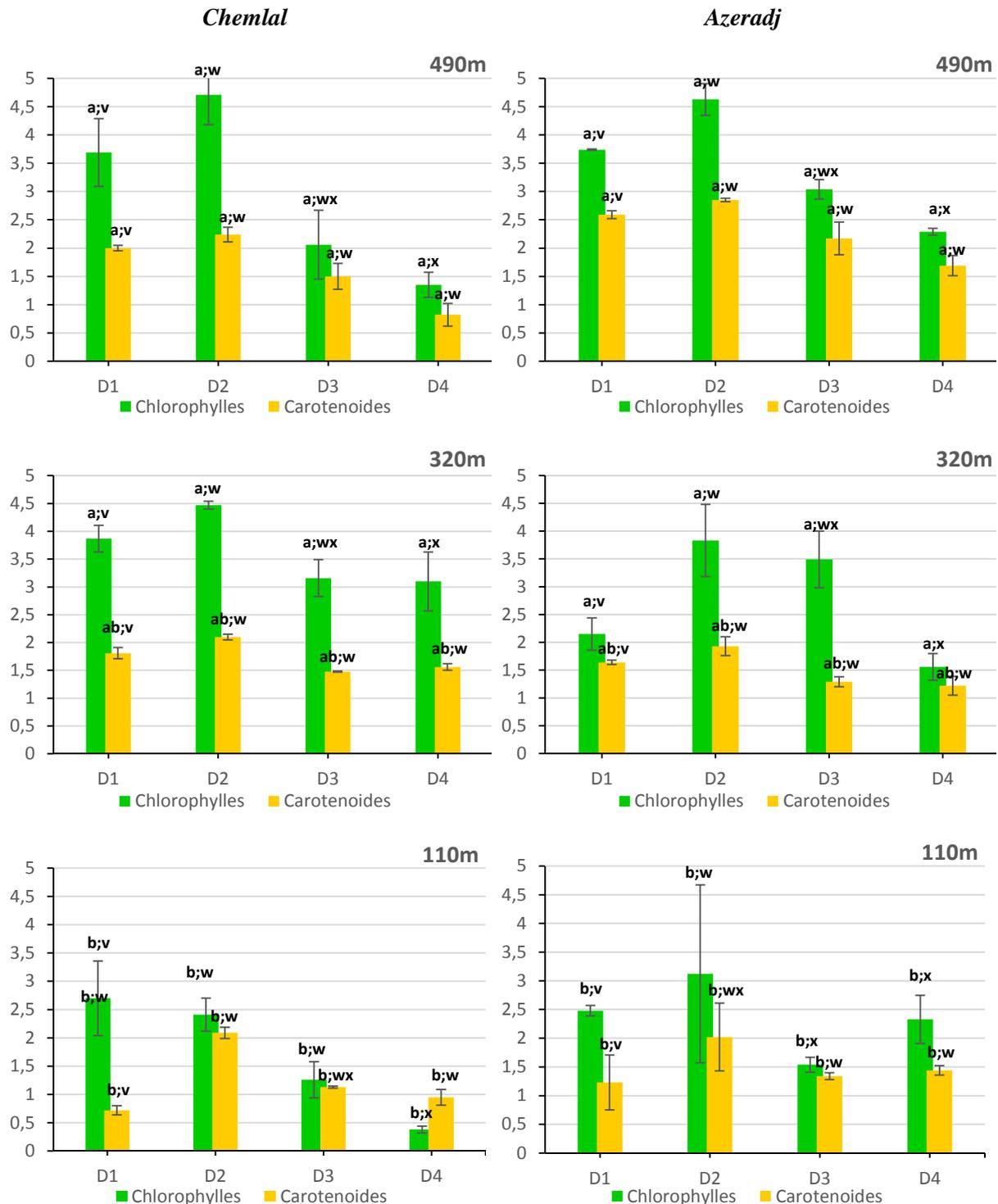


Figure 35 : Teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes des différents échantillons d'huile. Les différences significatives ($p < 0,05$), a-c se réfèrent à l'effet variétal et v-x à l'effet du temps de récolte.

Les résultats obtenus montrent que les quantités de pigments les plus élevées ont été enregistrées au début du processus de maturation (figure 35), avec un niveau maximal observé au niveau de la deuxième date de récolte correspondant aux échantillons CT2, AT2, CB2, AB2, CA2 et AA2 (5 décembre). Ensuite, l'activité photosynthétique diminue continuellement au cours de la maturation, entraînant une diminution progressive des concentrations en chlorophylles et en caroténoïdes, pour atteindre les niveaux les plus bas à la dernière date de récolte. Ces pigments sont continuellement remplacés par des anthocyanes à la fin du processus de maturation (Roca et Minguez, 2001).

L'analyse statistique a révélé un effet négligeable ($P=0,797$) du cultivar sur la teneur en pigments. Cependant, leurs quantités sont significativement ($P = 0,05$) affectées par les changements d'altitude. Ainsi, de faibles teneurs ont été observées dans les huiles issues des oliveraies de basse altitude (Tizi-Ouzou). Cette altitude est caractérisée par de faibles quantités de chlorophylles (1,69 et 1,63mg/kg) et de caroténoïdes (1,22 et 1,35 mg/kg) ; dont la moyenne a été calculée sur tous les échantillons d'huile *Chemlal* et *Azeradj* provenant de cette localité, respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude réalisée par Ouni et al. (2012).

2.7. Composition en tocophérols

Les tocophérols de l'huile d'olive sont de puissants antioxydants naturels, et un des plus importants inhibiteurs de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation (Mateos et al., 2003).

L'analyse HPLC de la composition en vitamine E (tableau 7) a permis d'identifier l' α -tocophérol comme l'isomère prédominant dans les échantillons d'huile d'olive, dépassant les 85% des tocophérols totaux. Des résultats similaires ont été observés dans d'autres travaux de recherche sur l'huile d'olive (Baccouri et al., 2008 ; Köseo lu et al., 2016). Par ailleurs, les deux cultivars ont montré une évolution différente des teneurs en tocophérols au cours du processus de maturation. En effet, des valeurs élevées ont été particulièrement observées dans les huiles d'olive issues de la première date de récolte du cultivar *Azeradj*. Ces valeurs ont fortement diminué pour atteindre un niveau plus bas à la fin du mois de décembre (AT4, AB4 et AA4).

A l'inverse, les variations de ces substances lipophiles dans les huiles du cultivar *Chemlal* ont été caractérisées par une augmentation linéaire au cours de la maturation des olives, marquée par une diminution considérable à la fin de la récolte. Ce qui est

particulièrement intéressant à souligner dans le cas des altitudes de 110 m et 320 m, où les quantités en tocophérols totaux passent de 237,98mg/kg à 197,18 mg/kg et de 228,6 mg/kg à 199,9 mg/kg chez les deux cultivars, respectivement. Baccouri et al. (2008) et Yorulmaz et al. (2013) ont enregistré la même tendance alors qu'ils travaillaient sur des cultivars différents.

Tableau 7 : Teneur en tocophérols individuels et totaux de l'huile d'olive.

Altitude	Samples	- Tocopherol mg/kg	- Tocopherol mg/kg	-Tocopherol mg/kg	-Tocopherol mg/kg	Tocopherols totaux
110 m	CT1	201.53 ± 3.46 ^{abv}	0.00 ± 0.00 ^{av}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	7.70 ± 0.23 ^{av}	209.23 ± 3.22 ^{abv}
	CT2	227.87 ± 10.38 ^{abvw}	0.00 ± 0.00 ^{av}	0.00 ± 0.00 ^{bvw}	7.63 ± 0.25 ^{av}	235.5 ± 10.63 ^{abv}
	CT3	228.42 ± 0.27 ^{abvw}	0.00 ± 0.00 ^{av}	1.10 ± 1.28 ^{bvw}	8.46 ± 0.18 ^{av}	237.98 ± 1.72 ^{abv}
	CT4	189.27 ± 0.12 ^{abw}	0.00 ± 0.00 ^{av}	0.00 ± 0.00 ^{bw}	7.91 ± 0.35 ^{av}	197.18 ± 0.23 ^{abv}
	AT1	235.06 ± 0.86 ^{abv}	5.39 ± 0.44 ^{av}	9.38 ± 0.06 ^{bv}	11.85 ± 1.92 ^{av}	261.67 ± 2.28 ^{abv}
	AT2	189.64 ± 2.47 ^{abvw}	3.87 ± 0.13 ^{av}	5.13 ± 1.25 ^{bvw}	12.62 ± 1.12 ^{av}	211.26 ± 2.22 ^{abv}
	AT3	166.57 ± 0.67 ^{abvw}	0.70 ± 0.04 ^{av}	2.44 ± 0.39 ^{bvw}	9.34 ± 0.65 ^{av}	179.05 ± 0.40 ^{abv}
	AT4	193.43 ± 0.09 ^{abw}	1.37 ± 0.26 ^{av}	5.99 ± 0.17 ^{bw}	9.76 ± 0.20 ^{av}	210.55 ± 0.20 ^{abv}
320 m	CB1	184.38 ± 7.76 ^{bv}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	1.25 ± 0.24 ^{abv}	8.33 ± 1.02 ^{bv}	193.96 ± 8.54 ^{bv}
	CB2	210.44 ± 1.29 ^{bvw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	5.95 ± 0.09 ^{abvw}	4.84 ± 5.14 ^{bv}	221.23 ± 6.53 ^{bv}
	CB3	217.28 ± 7.05 ^{bvw}	1.03 ± 1.45 ^{bv}	4.90 ± 3.99 ^{abvw}	5.40 ± 5.08 ^{bv}	228.60 ± 14.67 ^{bv}
	CB4	185.71 ± 1.31 ^{bw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	6.51 ± 1.14 ^{abw}	7.69 ± 0.10 ^{bv}	199.90 ± 0.27 ^{bv}
	AB1	317.95 ± 12.96 ^{bv}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	15.93 ± 0.52 ^{abv}	8.97 ± 0.46 ^{bv}	342.84 ± 13.02 ^{bv}
	AB2	124.81 ± 0.91 ^{bvw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	0.00 ± 0.00 ^{abvw}	8.20 ± 0.13 ^{bv}	133.00 ± 1.05 ^{bv}
	AB3	145.99 ± 2.81 ^{bvw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	0.00 ± 0.00 ^{abvw}	8.24 ± 0.21 ^{bv}	154.23 ± 3.03 ^{bv}
	AB4	148.28 ± 3.24 ^{bw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	0.00 ± 0.00 ^{abw}	8.63 ± 0.22 ^{bv}	156.41 ± 3.73 ^{bv}
490 m	CA1	182.89 ± 0.53 ^{av}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	1.66 ± 0.48 ^{av}	9.21 ± 0.08 ^{av}	193.76 ± 0.93 ^{av}
	CA2	187.17 ± 4.55 ^{avw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	2.35 ± 0.13 ^{avw}	8.95 ± 0.02 ^{av}	198.48 ± 4.40 ^{av}
	CA3	196.05 ± 6.68 ^{avw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	5.25 ± 5.09 ^{avw}	9.16 ± 0.32 ^{av}	210.45 ± 1.91 ^{av}
	CA4	211.93 ± 2.07 ^{aw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	1.19 ± 0.02 ^{aw}	8.54 ± 0.28 ^{av}	221.65 ± 1.78 ^{av}
	AA1	433.54 ± 3.42 ^{av}	0.87 ± 0.82 ^{bv}	20.77 ± 1.58 ^{av}	10.03 ± 0.13 ^{av}	465.21 ± 5.69 ^{av}
	AA2	358.25 ± 1.52 ^{avw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	16.99 ± 1.05 ^{avw}	9.19 ± 0.08 ^{av}	384.42 ± 0.39 ^{av}
	AA3	314.31 ± 4.67 ^{avw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	13.02 ± 0.18 ^{avw}	10.14 ± 1.44 ^{av}	337.46 ± 3.42 ^{av}
	AA4	124.93 ± 2.40 ^{aw}	0.00 ± 0.00 ^{bv}	0.59 ± 0.24 ^{aw}	8.70 ± 0.17 ^{av}	134.22 ± 2.33 ^{av}

Moyennes ± écart-type. ^{a-c} différentes lettres dans la même colonne indiquent des différences significatives (p < 0,05) concernant l'effet Altitude ; ^{v-x} différentes lettres dans la même colonne indiquent des différences significatives (p < 0,05) concernant l'effet Date de récolte.

Par ailleurs, les deux cultivars se comportent différemment en réponse à l'effet de l'altitude, comme observé sur les paramètres étudiés précédemment. En effet, les quantités d'alpha et de tocophérols totaux augmentent progressivement chez le cultivar *Azeradj* avec l'élévation du verger, observable sur leurs valeurs maximales enregistrés dans les différentes zones de culture : entre 235,06 et 261,67 mg/Kg à 110 m, entre 317,95 et 342,84 mg/Kg à 320 m, et un pic de 433,54 et 464,21 mg/Kg à 490 m d'altitude. Des résultats plus proches ont été rapportés par Dabbou et al. (2009). En revanche, un effet inverse a été observé avec le cultivar *Chemlal*, notamment par les faibles teneurs en alpha tocophérol (211,93 mg/Kg) et en tocophérols totaux (221,65 mg/Kg) constatées à l'altitude de 490 m.

Les α -tocophérols ont été trouvés à l'état de traces dans tous les échantillons d'huile, sauf pour les huiles obtenues à partir du cultivar *Azeradj* dans le verger situé à Tizi-Ouzou. De plus, une concentration plus élevée en α - et γ -tocophérols a été observée dans l'huile extraite du cultivar *Azeradj*. Beltrán et al. (2010) ont trouvé des quantités similaires dans la composition des tocophérols et ont établi une forte relation entre la variation des tocophérols et le facteur génétique.

2.8. Stabilité oxydative

La stabilité oxydative de l'huile d'olive est liée directement aux changements de la qualité et de la quantité de ses différents antioxydants naturels et aux variations de sa fraction lipidique (Baccouri et al., 2008 ; Bengana et al., 2013).

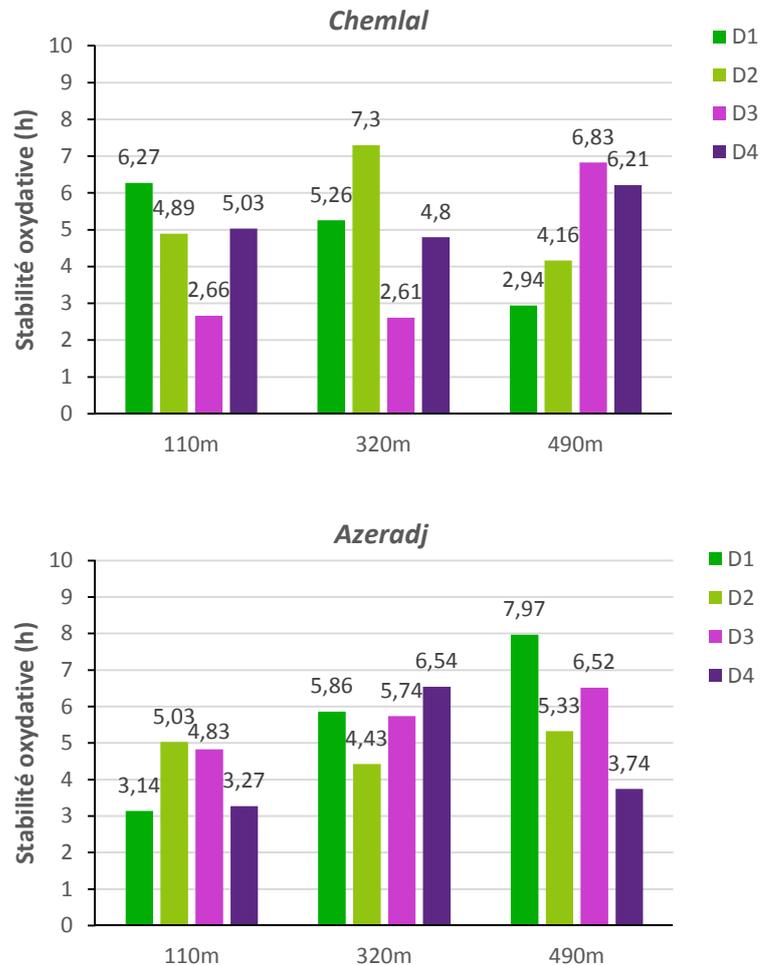


Figure 36: Stabilité oxydative des différents échantillons d'huile.

Les valeurs de stabilité oxydative (enregistrées dans la figure 36) montrent une corrélation positive ($r=0,419$ et $r= 0,414$; $P = 0,001$) avec la variation de la teneur en alpha tocophérol et tocophérols totaux dans les échantillons d'HOVE, respectivement. Ainsi, les faibles valeurs de la stabilité oxydative, enregistrées à la dernière date de récolte (D4), peuvent être expliquées par la baisse importante de la teneur en tocophérols, observée dans les échantillons récoltés à cette période pour les deux cultivars. Des résultats similaires ont été mentionnés dans de nombreuses études (Baccouri *et al.*, 2008 ; Bengana *et al.*, 2013 ; Yorulmaz *et al.*, 2013).

Selon les résultats présentés dans la figure 36, les moyennes de la stabilité oxydative varient positivement avec l'altitude du verger, la stabilité passant de 4,71 h à 4,99 h puis à 5,04 h dans les huiles de *Chemlal* et de 4,07 h à 5,64 h puis à 5,82 h dans les huiles d'*Azeradj*. Des résultats similaires ont été révélés par Ouni *et al.* (2012), qui ont relié la meilleure stabilité de l'huile d'olive produite en haute altitude à un niveau élevé d'acides gras mono-insaturés (AGMI) dans ces huiles.

D'autre part, une légère différence peut être remarquée entre les deux cultivars, notamment par une meilleure résistance à l'oxydation des huiles d'*Azeradj* récoltées aux altitudes 320 et 490 m. Ce comportement est probablement dû à la teneur en acide oléique plus élevée des huiles d'*Azeradj* par rapport aux huiles de *Chemlal*, ce qui rejoint les observations rapportées par Boucheffa *et al.* (2018).

2.9. Analyse en composante principale

Les profils en acides gras et en triacylglycérols sont connus comme des marqueurs importants dans la classification et la caractérisation des huiles d'olive vierges (Abdallah *et al.*, 2016 ; Sevim *et al.*, 2017). De manière concordante, la meilleure discrimination a été obtenue avec une ACP réalisée sur la combinaison des deux profils lipidiques, comme révélé par Ollivier *et al.* (2006). Les résultats indiquent que les deux facteurs principaux représentent 62,6 % de la variance totale (F1 : 43,1 %, F2 : 19,5 %).

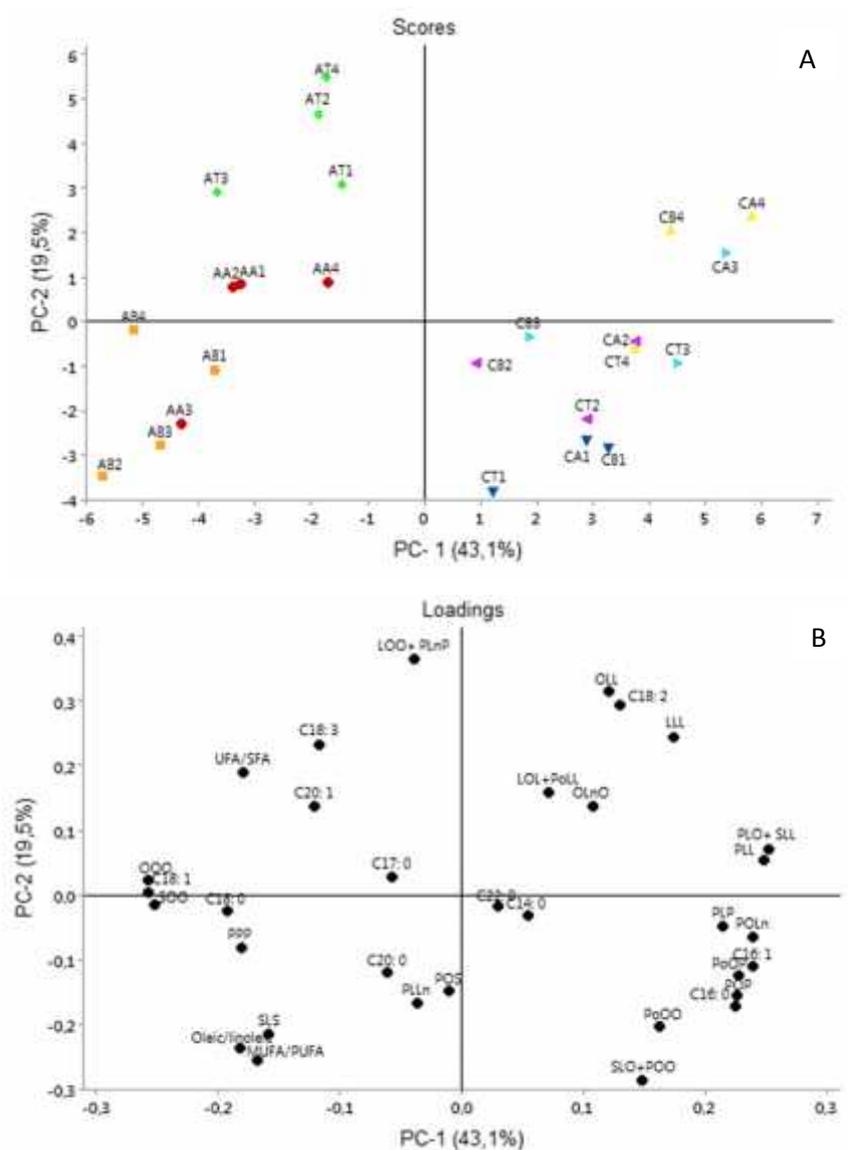


Figure 37: Analyse en composante principale (ACP).

Graphique des observations (a); graphique des variables (b). Les échantillons d'huile d'*Azeradj* ont été regroupés en trois sous-groupes principaux (110m (), 320 () et 479 ()) selon le changement d'altitude ; Les échantillons d'huile de *Chemlal* ont été triés en quatre sous-groupes principaux (25/11/2017 (), 05/12/2017 (), 15/12/2017 () et 25/12/2017 ()) en fonction de l'avancement de la date de récolte.

Les résultats de l'ACP, présentés dans la figure 37, divisent les différents échantillons d'HOVE en deux groupes principaux en fonction du premier axe de l'ACP (PC-1). Le premier groupe rassemble les huiles d'olive extraites du cultivar *Chemlal*, qui sont caractérisées par un plus grand niveau de POP, PoOP, POLn, PLL, somme de PLO+ SLL, acide palmitique et acide palmitoléique. Quant au deuxième groupe, il est composé des huiles d'*Azeradj* triées selon leur richesse en OOO, SOO, acide oléique et acide stéarique. Ainsi, on peut noter que chaque acide

gras a été corrélé avec son triglycéride respectif, et que la distribution des variables a confirmé la différence de composition lipidique observée entre les deux cultivars (Figure 31).

Le graphe des observations (figure 37a) a montré que les points représentant les deux cultivars (*Azeradj* à gauche et *Chemlal* à droite) sont largement répartis du bas vers le haut du graphique de l'ACP. Le deuxième axe de l'ACP (PC-2) était positivement corrélé avec les variables C18:2, C18:3, LLL, OLL, LOO+ PLnP, et négativement avec les triacylglycérols SLS, PoOO et SLO+POO, et les rapports AGMI/AGPI et Oléique/Linoléique. Il convient de souligner que ces variables ont montré un pourcentage élevé de contribution des facteurs altitude, maturité et/ou de leur interaction avec les cultivars ("Cultivar x Altitude" et "Cultivar x Maturité"), comme le montrent les données illustrées dans la figure 31.

D'après le graphique des variables (figure 37b), il n'y a pas de relation réelle entre les variables C18:2 et C18:3 d'un côté, et les triacylglycérols SLO+POO, PoOO, et les rapports AGMI/AGPI et Oléique/Linoléique de l'autre côté ; en raison de la perpendicularité des vecteurs portant ces variables. En superposant les graphiques des variables et des observations, on peut remarquer que les échantillons AT1, AT2, AT3, et AT4 regroupés dans le quadrant supérieur gauche sont plus concentrés en C18:3, LOO+ PLnP, et opposés aux échantillons AB1, AB3, AB4, et AA3 dans le quadrant inférieur gauche, qui se distinguent par leurs ratios AGMI/AGPI et oléique/linoléique élevés. Dans la partie droite du graphique des observations, les échantillons CB1, CA4, et CA3 de *Chemlal*, riches en C18:2 et OLL, s'opposent aux échantillons CT1, CA1, CB1, et CT2, qui sont corrélés à un taux élevé de SLO+ POO et PoOO. Ces résultats sont cohérents avec l'observation effectuée sur les données de triglycérides mentionnés précédemment.

En outre, la PC-2 de l'ACP a permis de répartir les échantillons en différents sous-groupes, en fonction du comportement spécifique des variables caractérisant chaque cultivar. D'un côté, les échantillons d'*Azeradj* ont été divisés en trois sous-groupes en fonction de leur origine géographique, indiquant que les huiles d'olive récoltées à basse altitude sont plus concentrées en LOO+ PLnP et en acide linoléique. D'autre part, les échantillons de *Chemlal* ont également été divisés, de bas en haut du graphique de l'ACP, en quatre sous-groupes distincts, mais cette fois-ci en fonction de l'évolution de leurs stades de maturation. Cela a été rendu possible grâce à la teneur élevée de *Chemlal* en certains acides gras et triacylglycérols qui sont sensibles aux changements de la maturation, tels que l'acide linoléique, LLL, OLL, PoOO et SLO+POO. Ces résultats ont montré que les comportements métaboliques de ces

cultivars étaient différents en termes de certains paramètres de composition à travers les changements d'altitude et de maturation.

2.10. Influence des facteurs étudiés sur la composition de l'huile

L'étude de Montedoro et al (1989), sur les facteurs déterminant les caractéristiques de qualité de l'huile d'olive, a montré que le facteur variétal et le degré de maturité des olives affectent la composition de l'huile à un taux de 20% et 30%, respectivement. L'analyse du modèle linéaire général a été effectuée sur les différents paramètres étudiés (Tableau 8). Les résultats ont montré que le facteur variétal est le plus influant des facteurs étudiés, avec notamment un taux de contribution moyen de 29% sur les paramètres analysés, suivi par la maturité et l'altitude à hauteur de 14% et 11%, respectivement. En outre, chaque facteur semble contribuer de manière distincte et spécifique à chaque paramètre étudié. Ainsi, les résultats repris dans le tableau 8, ont montré que la composition de la fraction majeure (acides gras et triglycérides) de l'huile d'olive est plus sensible aux variations du facteur génétique, qu'aux autres facteurs (une contribution moyenne de 54% sur ces paramètres). En revanche, la fraction mineure de l'huile (caractérisée principalement par des substances antioxydantes) est davantage influencée par le degré de maturité des olives, et ce avec un taux de 19%. Tandis que l'altitude du verger et le facteur génétique contribuent respectivement à hauteur de 16% et 7%.

La progression dans la maturité des olives a généralement un effet négatif sur la teneur en antioxydants et les paramètres de qualité de l'huile d'olive (Dag et *al.*, et 2011; Huang et *al.*, et 2020). La maturité des olives a eu une contribution majeure dans la variation des paramètres de qualité tels que l'acidité (43,07%), l'indice de peroxyde (25,32%), le K232 (13,32%) et le K270 (15,79%), de même pour la teneur en chlorophylle (42,22%), en caroténoïde (39,33%) et en α -tocophérols (17,11%) des huiles d'olive extraites. Cependant, la teneur en tocophérols individuels et particulièrement α -Tocophérol (le plus dominant dans l'HOVE) a été influencée de manière beaucoup plus importante par l'interaction existante entre chaque cultivar et la maturation du fruit, et ce à hauteur de 22%.

Tableau 8 : Pourcentage de contribution des facteurs étudiés et leur interaction sur les paramètres les plus importants de l'huile d'olive.

Source de variabilité	A%	IP	E232	E270	C16:0	C18:1	C18:2	C18:3	Oléique / linoléique
Cultivar	0,00% n.s	15,48% ***	0,01% n.s	7,84% *	82,63%	85,05%	7,61%	29,26%	25,09%
Altitude	20,78% ***	28,19% ***	12,53% *	12,82% *	0,22%	1,36%	4,46%	17,87%	7,77%
Maturité	43,07% ***	25,32% ***	13,32% *	15,79% *	2,03%	3,09%	29,26%	2,08%	20,32%
Cultivar x Altitude	2,27% n.s	22,75% ***	8,33% n.s	1,83% n.s	3,03%	2,13%	38,88%	6,58%	30,25%
Cultivar x Maturité	1,45% n.s	0,40% n.s	6,34% n.s	8,23% n.s	5,52%	5,65%	9,71%	8,04%	7,47%
Altitude x Maturité	12,07% *	1,68% *	14,23% n.s	7,31% n.s	1,62%	1,04%	3,55%	22,70%	3,14%
Cultivar x Altitude x Maturité	3,52% n.s	4,27% ***	3,73% n.s	7,91% n.s	4,94%	1,69%	6,54%	13,46%	5,97%
	MUFA/ PUFA	UFA/ SFA	LOO+ PLnP	PLO+ SLL	OOO	SLO+ POO	POP	Chlorophylle	Caroténoïde
Cultivar	19,27%	54,83%	17,36% ***	65,66% ***	83,11% ***	60,82% ***	82,30% ***	0,14% n.s	5,32% ***
Altitude	8,73%	3,58%	13,26% ***	9,35% ***	6,52% ***	1,24% ***	2,98% ***	22,45% ***	21,44% ***
Maturité	21,17%	10,01%	5,59% ***	1,22% *	1,19% ***	6,65% ***	3,73% ***	42,22% ***	39,33% ***
Cultivar x Altitude	31,65%	7,20%	45,56% ***	8,22% ***	1,07% ***	16,14% ***	2,06% **	8,97% ***	11,41% ***
Cultivar x Maturité	8,69%	13,48%	7,98% ***	8,42% ***	2,76% ***	6,02% ***	1,98% **	3,93% *	0,58% n.s
Altitude x Maturité	3,90%	2,82%	3,63% **	2,35% **	2,35% ***	5,81% ***	1,80% n.s	7,97% **	13,88% ***
Cultivar x Altitude x Maturité	6,58%	8,07%	3,42% **	2,26% *	2,62% ***	2,43% ***	2,25% *	5,62% *	1,42% n.s
	Tocophérol	Tocophérol	Tocophérol	Tocophérol	Total Tocophérol	stabilité Oxydatives			
Cultivar	3,67% ***	3,67%	17,43% ***	21,44% ***	5,14% ***	0,96%			
Altitude	12,71% ***	12,71%	11,01% ***	18,56% **	12,71% ***	10,58%			
Maturité	17,11% ***	17,11%	11,96% ***	3,38% n.s	1,91% ***	1,22%			
Cultivar x Altitude	17,87% ***	17,87%	13,83% ***	6,37% n.s	16,52% ***	5,17%			
Cultivar x Maturité	22,16% ***	22,16%	22,62% ***	3,01% n.s	5,48% ***	11,99%			
Altitude x Maturité	8,54% ***	8,54%	9,81% ***	7,70% n.s	24,87% ***	17,96%			
Cultivar x Altitude x Maturité	17,73% ***	17,73%	10,40% ***	6,24% n.s	33,10% ***	52,12%			

Niveaux de significativité: * P 0.05, ** P 0.01, *** P 0.001, n.s non significative

Les résultats obtenus avec le modèle linéaire général ont également montré que le facteur altitude avait un effet non négligeable sur la composition de l'huile d'olive. En effet, sa contribution a été de 19% sur les indices de qualité, de 22% sur les pigments et de 14% sur la teneur en tocophérols de l'huile d'olive. Par ailleurs, l'influence de ce facteur, sur certains paramètres, a été particulièrement dépendante du cultivar de l'olivier. Ces cas ont été observés dans l'interaction "Cultivar x Altitude", qui a montré un effet significatif et spécifique sur la quantité de l'acide linoléique et les ratios Oléique /linoléique et AGMI /AGPI de l'huile d'olive (avec un taux de contribution de 38,88%, 30,25% et 31,65%, respectivement). Par conséquent, ces résultats peuvent aussi expliquer la distribution des huiles du cultivar *Azeradj* dans le graphe des observations, de l'analyse en composantes principales (figure 37).

Chapitre V

Variation de la composition en sécoiridoïdes et de la qualité des huiles extraites des variétés cultivées et sauvages, en fonction de la maturation du fruit

1. Matériel et méthodes

Cette étude vise à comprendre l'influence de la ressource génétique sur les caractéristiques des huiles d'olive vierges. Elle se concentre également sur l'évaluation de la contribution du processus de maturation aux variations de différents paramètres de qualité, tels que la composition en sécoiridoïdes, la teneur en antioxydants naturels et le profil en acides gras, des variétés d'olives sauvages et cultivées. Cette partie a été réalisée avec la collaboration de plusieurs laboratoires de recherche :

- Laboratoire de production et de sauvegarde des espèces menacées et des récoltes, Département de Biologie, université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), Tizi-Ouzou, Algérie.
- Division de la recherche sur les technologies agroalimentaires, Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA), El Harrach, Alger, Algérie
- Institut de chimie organique et analytique, Université d'Orléans, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Orléans, France.
- Laboratoire de l'institut technique d'arboriculture fruitière (ITAF) de Sidi-Aiche, Bejaia, Algérie.

1.1. Echantillonnage

Les huiles d'olive ont été obtenues à partir de deux cultivars d'olive endémiques d'Algérie, *Chemlal* (C) et *Limli* (L), cultivés dans la région semi-aride de Bouira, au centre-nord de l'Algérie (figure 38). L'huile d'oléastre a été obtenue à partir de la population d'oliviers sauvages (*Olea europaea L. ssp. Oleastre* (O)) de la même région. La récolte a été réalisée durant la campagne oléicole 2018/2019, sur une période d'un mois répartie sur quatre dates de récolte (H) et espacées de dix jours entre elles (H1:25 novembre ; H2:5 décembre ; H3:15 décembre ; H4:25 décembre). Les échantillons d'olives ont été récoltés manuellement puis nettoyés avec soin, en respectant la méthode d'échantillonnage décrite par le Conseil Oléicole International (COI, 2011).



Figure 38: Carte de la zone d'échantillonnage.

1.2. Extraction à l'Oléodoseur

Le transport des olives a été effectué dans des caisses en plastique aérées. L'extraction de l'huile d'olive a été réalisée (24h après la récolte) avec un mini-moulin à huile à deux phases (Oléodoseur). Brièvement, les fruits ont été écrasés à l'aide d'un broyeur à marteaux équipé d'une grille perforée (trous de 0,8 mm de diamètre). La pâte homogène a été transférée dans des récipients inoxydables non hermétiques et agitée à l'aide de palettes rotatives pendant 35 minutes à 25° C. La séparation des phases (huile, grignon humide) a été réalisée à l'aide d'une centrifugeuse verticale réglée à 3000 tr/min, pendant 3 min. Enfin, les échantillons d'huile filtrés ont été stockés dans des flacons en verre opaque (à l'abri de la lumière et de l'oxydation de l'air) et à une température de 4°C jusqu'à leur analyse.

1.3. Indice de maturité des fruits

L'estimation du degré de maturité a été basée sur l'observation visuelle des couleurs du mésocarpe et de l'épicarpe de l'olive, l'indice de maturité (IM) a été déterminé par la formule décrite par le Conseil oléicole international (COI, 2011). Plus de détails ont été fournis dans la partie précédente.

1.4. Analyses des paramètres de qualité de l'huile d'olive

La progression de l'hydrolyse des triglycérides dans l'huile d'olive, exprimée en pourcentage d'acide oléique libre (%), a été déterminée selon la procédure de l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO 660, 2009). Selon les protocoles du Conseil oléicole international (COI., 2015, 2016), le niveau d'oxydation a été évalué en mesurant l'indice de peroxyde (IP) spécifique aux hydroperoxydes et les indices de spectrophotométrie K232 et K270 pour les produits primaires et secondaires d'oxydation.

1.5. Analyse du profil en acides gras

Le profil en acides gras des échantillons d'huile d'olive a été déterminé à l'aide d'un système Chrompack CP 9002 équipé d'une colonne Agilent Cp-Sil 8 CB (30 m de long, 0,25 mm de diamètre interne) (5% phényl+ 95% diméthyl polysiloxane). Les esters méthyliques d'acides gras (FAMES) ont été préparés par la méthode de transestérification à froid selon la procédure chromatographique définie par le règlement CEE 2568/91 (CEE, 1991). Ensuite, 0,8 µl de solution ont été injectés sous une température constante de 250°C. La température du four a augmenté progressivement de 150°C à 200°C, à savoir 4°C/min. L'azote a été utilisé comme gaz porteur avec des débits de 1ml/min. Les EMAG ont été détectées à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) réglé à 250°C. L'identification des différents acides gras a été effectuée en comparant leurs temps de rétention avec ceux des composés de référence standard.

1.6. Détermination des pigments

La teneur en chlorophylles et en caroténoïdes a été mesurée selon la méthode de spectrophotométrie décrite par Minguez-Mosquera et al. (1991), détaillée précédemment. Les résultats indiqués sont basés sur le poids de l'huile et exprimés ainsi en mg/kg d'huile d'olive.

1.7. Extraction de la fraction phénolique

L'étape d'extraction a été réalisée selon la méthode du Conseil oléicole international (COI, 2017), avec une modification mineure. Dans des tubes centrifuges de 20 ml, 2 grammes d'huile d'olive vierge ont été mélangés avec 1 ml d'acide syringique (utilisé comme standard

interne) ; ce dernier a été préparé dans un mélange méthanol/eau (80:20, v/v) avec une concentration de 0,015 mg/ml. Après 30 secondes d'agitation du mélange (huile et acide syringique) au vortex, 5ml de méthanol/eau (80:20, v/v) ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a passé 15 min dans un bain à ultrasons et 25 min dans une centrifugeuse à 5000 tr/min, sous une température de 25°C.

Le solvant a été évaporé avec un courant d'azote jusqu'à évaporation totale, puis la fraction polaire séchée a été reconstituée dans 1ml de méthanol/eau (80:20, v/v). En fin, les extraits phénoliques ont été filtrés à travers des filtres PVDF de 0.45µm, et réfrigérés jusqu'à leur utilisation.

1.8. Analyse de la fraction phénolique par UHPLC-DAD et UHPLC-HRMS

Les composés phénoliques ont été analysés à l'aide d'un système UHPLC Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, USA), équipé d'une colonne polaire C18 Luna Omega (100 mm × 2,1 mm id ; particules de 1,6 µm), qui permet de diminuer le temps de séparation et d'assurer une haute résolution. Un gradient binaire d'eau pure (A) et d'acétonitrile (B), acidifiés préalablement avec de l'acide formique à 0,1 %, a constitué la phase mobile. Le débit a été réglé à 0,4 mL/min et l'élution par gradient a été réalisée en 16 min comme suit : 10 % de B à 0 min, 10 % à 35 % B pendant 5 min, 35 % à 60 % B pendant 2 min, isocratique à 60 % pendant 3 min, 60 à 80 % B pendant 4 min, et 80 à 100 % B pendant 2 min. Quatre minutes ont été nécessaires pour l'équilibrage de la colonne entre chaque injection. La température du four est fixée à 25°C. Ensuite, 3 µL ont été automatiquement déduits de chaque extrait filtré. La détection a été effectuée avec le détecteur à photodiode (DAD) dans la gamme de 200 - 600 nm. La plupart des composés phénoliques des extraits de l'HOVE ont été observés à la longueur d'onde de 280 nm. Les mêmes conditions chromatographiques ont été utilisées pour l'analyse UHPLC- HRMS.

L'identification des différents composés phénoliques a été réalisée sur un spectromètre de masse maXis UHR-Q-TOF (Bruker, Bremen, Allemagne) en mode d'ionisation négative par électrospray (ESI). La tension capillaire a été réglée à 4,0 kV. Les débits de gaz de nébulisation et de séchage (azote) ont été réglés à 2,0 bars et 9,8 L/min, respectivement, et le gaz de séchage a été chauffé à 200°C. Les analyses ont été enregistrées à une fréquence d'acquisition de 2 Hz, et la gamme de masse a été fixée de m/z 50 à 1650. Les données ont été traitées avec DataAnalysis 4.4 (Bruker).

I.9. Méthode de quantification des phénols individuels

La détermination des concentrations en composés phénoliques dans les extraits d'huile d'olive a été effectuée selon la procédure du Conseil oléicole international (2017). L'acide syringique a été ajouté comme standard interne pendant la phase d'extraction, comme expliqué précédemment. Les sécoiridoïdes identifiés par UHPLC-HRMS ont été quantifiés en utilisant la somme des aires des pics chromatographiques correspondants (récupérés par l'UHPLC-DAD à 280 nm) et l'aire du pic de l'étalon interne. La quantité de sécoiridoïdes a été présentée en mg de tyrosol équivalent /kg, comme suit :

$$mg_{Tyrosol\ equivalent} / kg = \frac{(\sum A) \times 1000 \times RRF_{syr/tyr} \times W_{syr. acid}}{A_{syr. acid} \times W}$$

A : total des aires de pic des phénols individuels détectés à 280 nm ;

1000 : désigne le facteur nécessaire pour convertir la valeur en mg/kg ;

RRF_{syr/tyr} : le coefficient de multiplication (RRF_{syr/tyr}= 4,74) pour exprimer le résultat en équivalent tyrosol ;

A_{syr. Acid} : la zone de l'étalon interne (acide syringique) détectée à 280 nm ;

W_{acide syr.} : le poids de l'acide syringique (mg) ajouté comme étalon interne.

W : le poids (g) de l'huile d'olive testée.

1.10. Détermination des phénols totaux

La teneur en phénols totaux a été mesurée en utilisant la méthode modifiée décrite par Singleton et Rossi, (1965), basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique-phosphotungstique. Dans une microplaque simple à 96 puits, 20 ul de chaque extrait phénolique ont été transférés, avec 20 ul de réactif de Folin ciocalteau. Après 5 min d'attente, la coloration de la réaction a été activée par 30 ul de la solution aqueuse de carbonate de sodium à 20%. Enfin, le mélange a été dilué avec 140 ul d'eau distillée. Par ailleurs, les mêmes étapes ont été réalisées pour préparer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, comprenant une gamme de concentrations de 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 et 0,5 mg/ml. Après une incubation à 25°C pendant 2 heures dans l'obscurité, toutes les préparations ont été lues sous un spectrophotomètre à

microplaques (Thermo scientific multiskan, USA) à 760 nm. En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, le contenu total en phénols a été quantifié en mg d'acide gallique/kg d'huile.

1.11. Détermination de l'activité antiradicalaire DPPH

La capacité antiradicalaire DPPH a été estimée en utilisant la méthode rapportée par Tepe et al. (2005). 10 µl de chaque extrait d'huile d'olive et de la solution de calibration de Trolox (1 ; 0,8 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,1 et 0,05 mg/ml) ont été complétés par 190 µl d'une solution de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) concentrée à 0,15%, dans du méthanol. Après 30 secondes d'agitation, les mélanges ont été incubés durant 30 min à 25°C. Au cours de cette étape, un changement de couleur du violet foncé au jaune pâle a été observé, dû à la réduction des radicaux libres présents sous forme de DPPH, en particulier par le pouvoir antioxydant des composés phénoliques. L'absorbance a été lue avec un spectrophotomètre à microplaque dans une longueur d'onde de 516 nm. Les valeurs de l'activités de piégeage ont été exprimées en mg d'équivalent de trolox/ml (mg TE/ml).

$$\% \text{ Inhibition} = \left\{ 1 - \left(A_{\text{sample}} / A_{\text{control}} \right) \right\} \times 100$$

A_{control} : est le test de contrôle qui a été mesuré pour l'absorbance du DPPH sans ajout d'échantillon.

1.12. Analyse chimiométrique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec Minitab 19 (logiciel Minitab, USA). Un test d'analyse de variance à un facteur (ANOVA) a été effectué sur les données relatives à l'huile, suivi du test post-hoc de Tukey avec signification fixée à $P < 0,05$. Une analyse avec le modèle linéaire général a été réalisée sur nos résultats afin d'estimer le pourcentage de contribution de chaque facteur sur les caractéristiques de l'HOVE. Pour une meilleure discrimination et une meilleure visualisation de la variation des données, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les paramètres les plus importants de l'huile.

2. Résultats et discussions

2.1. Indice de maturité des olives

Au cours du processus de maturation, l'activité photosynthétique diminue progressivement dans le fruit de l'olivier (Salvador et al., 2001), et s'exprime par différentes gammes de couleurs allant du vert au noir en passant par le violet, ce qui permet d'évaluer les différents stades de maturation à travers l'indice de maturité (Conde et al., 2008 ; Dag et al., 2011). Les valeurs les plus basses de l'indice de maturité ont été observées dans les olives récoltées au cours de la première date de récolte (H1: 25 novembre), avec des indices de 2.30, 2.48 et 1.33 dans les variétés *Chemlal*, *Limli* et dans l'*Oléastre*, respectivement (figure 39). Ainsi, les fruits de l'*Oléastre* sont caractérisés par les indices de maturité les plus faibles, allant de 1,33 à 3,65 au cours de la maturation. Cette différence est due probablement à une maturité tardive des fruits de la variété sauvage par rapport aux variétés cultivées.

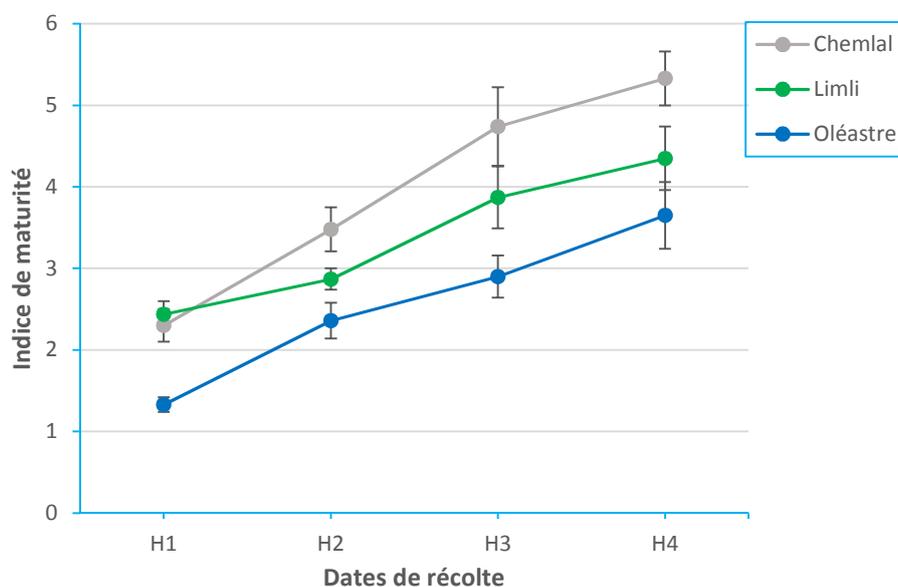


Figure 39: Indice de maturité des différentes variétés étudiées.
Significativité des résultats : variété (P=0,00) ; maturité (P=0,00).

D'un autre côté, un processus de maturation rapide a été observé dans les olives de *Chemlal*, qui ont atteint un niveau de maturation avancé de 5,33 (olive noire) lors de la dernière récolte (H4). En outre, l'analyse des données a montré des différences significatives (P 0,05) entre les variétés et confirme l'influence du facteur génétique sur le processus de maturité des olives, comme Baccouri et al. (2008) l'ont signalé dans leur étude.

2.2. Paramètres de qualité de l'huile d'olive vierge

De manière générale, les différents paramètres de qualité montrent que les huiles d'olive collectées dans différentes conditions d'échantillonnage (variété d'olive et maturation) ont été classées en dessous de la limite par le COI (2019), pour l'acidité libre ($\leq 0,8\%$), l'indice de peroxyde ($\leq 20 \text{ meqO}_2/\text{kg}$), K232 ($\leq 2,50$) et K270 ($\leq 0,22$). Ainsi, tous les échantillons d'huile ont été classés dans la catégorie. Ces résultats montrent que les huiles obtenues à partir d'olives fraîches et saines, triturées dans de bonnes conditions, permet d'obtenir une huile d'olive vierge extra (figure 40).

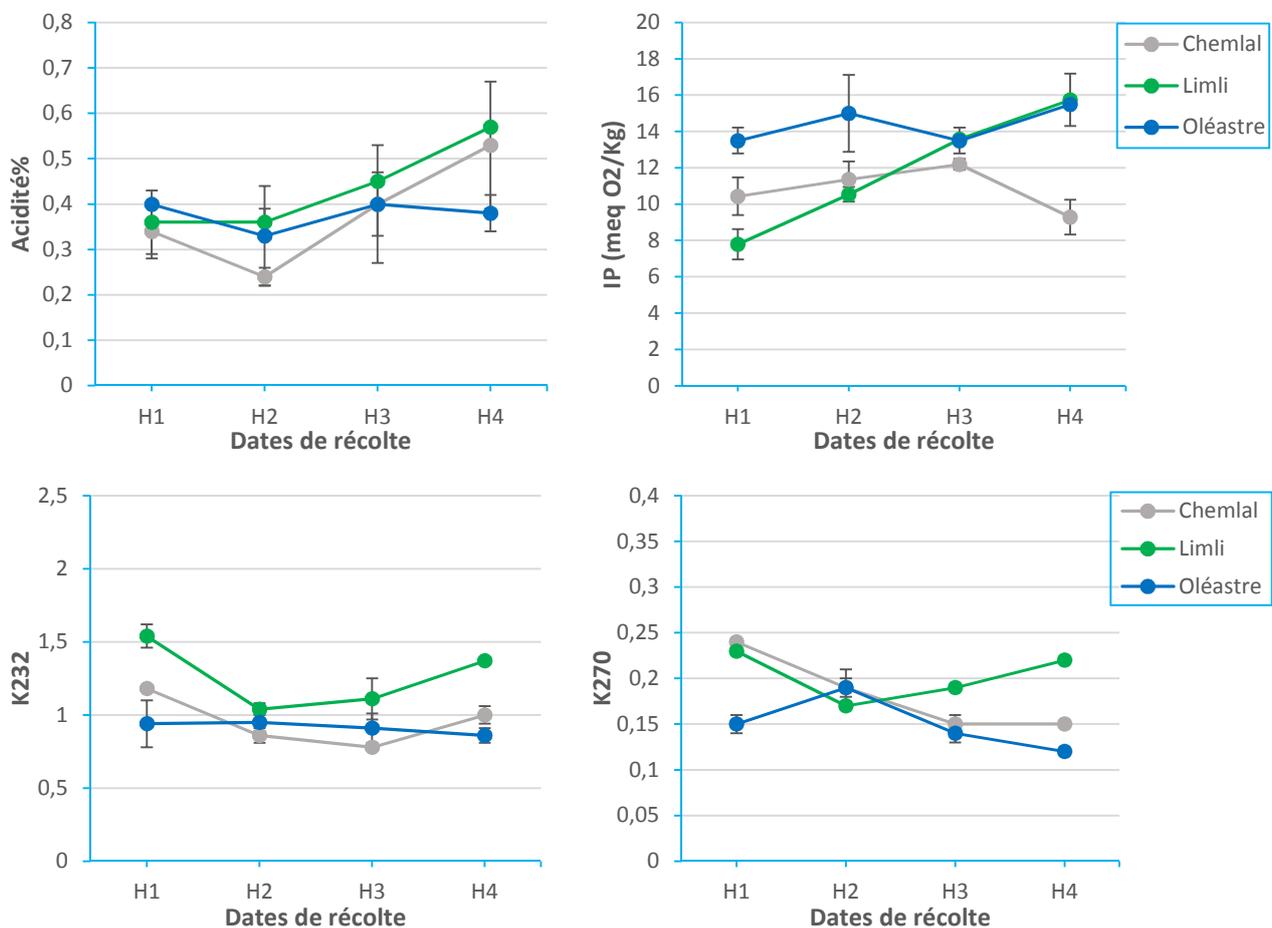


Figure 40: Graphes des variations des différents paramètres de qualité.

Test ANOVA pour K232: altitude ($P=0,001$) ; maturité ($P=0,079$). Test ANOVA pour K270: altitude ($P=0,012$) ; maturité ($P=0,108$).

L'analyse ANOVA a montré une influence significative ($P \leq 0,05$) de la composante variétale sur les paramètres oxydatifs de l'huile d'olive. En effet, l'huile d'*Oléastre* a présenté de faibles valeurs de spectrophotométrie UV, qui vont de 0,86 à 0,95 pour les produits d'oxydation primaire (K232) et de 0,12 à 0,19 pour les produits d'oxydation secondaire (K270). Ces valeurs

se sont révélées plus élevées dans les cultivars *Chemlal* et *Limli*. Des résultats similaires ont été rapportés par Bouarroudj et al. (2016), notamment sur les huiles d'*Oléastre*. Les faibles valeurs enregistrées dans les huiles d'oléastres sont probablement dues à la résistance des fruits de cette variété à l'oxydation des acides gras.

Les données obtenues (figure 40) n'ont pas montré de variation significative ($P > 0,05$) dans les paramètres K232 et K270 au cours des changements de la maturité. Le pourcentage d'acidité libre (A%) a montré une augmentation légère mais significative ($P < 0,05$) au cours du processus de maturation, en particulier dans les cultivars *Chemlal* et *Limli*. Cependant, ces valeurs restent en dessous de la limite de 0,8% pour les HOVE, même dans les stades avancés de maturité. L'augmentation de la teneur en acides gras libres est liée à l'augmentation de l'activité des enzymes lipolytiques dans le fruit pendant la phase de maturation (Baccouri et al., 2008).

2.3. Composition en acides gras

La composition en acides gras peut être exploitée comme un marqueur biochimique pour la classification et la détermination de l'origine variétale et géographique de l'huile d'olive (Tura et al., 2007 ; Douzane et al., 2012).

L'acide gras le plus abondant dans tous les échantillons d'HOVE était l'acide oléique. Ces résultats confirment que ce dernier est l'acide gras le plus dominant dans l'huile d'olive (Tura et al., 2007 ; Baccouri et al., 2008). Pendant la maturation de l'olive, son pourcentage varie entre 72,55 et 72,94% dans l'huile de *Chemlal*, entre 64,71 et 72,45% dans *Limli* et de 72,57 à 74,18% dans l'huile d'oléastre (Tableau 9). Les variations dans la teneur en acide oléique étaient hautement significatives entre les variétés étudiées ($P=0,007$) et non significatives en termes de progression de la maturité ($P > 0,05$). Ces résultats sont très similaires à d'autres données obtenues sur des variétés algériennes (Bouarroudj et al., 2016 ; Djelloul et al., 2020). Cependant, des valeurs maximales d'acide oléique ont été observées à la dernière date de récolte (H4) dans toutes les variétés. Ce comportement peut indiquer que la synthèse de l'acide oléique continue même aux stades tardifs du processus de maturation, comme observé par d'autres chercheurs (Beltrán et al., 2004 ; Yorulmaz et al., 2013).

Tableau 9: Composition en acides gras au cours de la maturité.

Variété	<i>Chemlal</i>				<i>Limli</i>				<i>Oléastre</i>			
	H1	H2	H3	H4	H1	H2	H3	H4	H1	H2	H3	H4
C16 : 0	14.08 a;v	17.19 a;v	12.50 a;vw	13.47 a;w	18.30 a;v	16.60 a;v	14.76 a;vw	12.47 a;w	14.40 a;v	13.55 a;v	14.69 a;vw	13.16 a;w
C18 : 1	72.55 ab;v	68.31 ab;v	71.43 ab;v	72.94 ab;v	64.71 b;v	68.11 b;v	70.39 b;v	72.45 b;v	72.57 a;v	73.30 a;v	71.18 a;v	74.18 a;v
C18 : 2	8.23 ab;v	9.35 ab;v	11.51 ab;v	8.34 ab;v	11.48 a;v	10.21 a;v	9.67 a;v	10.00 a;v	7.79 b;v	8.20 b;v	8.96 b;v	9.05 b;v
C18:1 / C18:2	8.82 ab;v	7.31 ab;v	6.21 ab;v	8.75 ab;v	5.64 b;v	6.67 b;v	7.28 b;v	7.25 b;v	9.32 a;v	8.94 a;v	7.94 a;v	8.20 a;v
AGMI /AGS	4.50 a;v	3.65 a;v	4.90 a;v	4.71 a;v	3.06 b;v	3.56 b;v	4.05 b;v	3.25 b;v	4.28 a;v	4.56 a;v	4.16 a;v	5.18 a;v
AGMI /AGPI	8.43 ab;v	7.30 ab;v	6.07 ab;v	8.38 ab;v	5.47 b;v	6.57 b;v	6.93 b;v	6.86 b;v	8.53 a;v	8.26 a;v	7.41 a;v	7.60 a;v

AGMI/AGPI, rapport acides gras mono-insaturés/acides gras polyinsaturés ; AGMI/AGS, rapport acides gras mono-insaturés/acides gras saturés. Des lettres différentes dans la même ligne indiquent des différences significatives ($p < 0,05$), a-c se réfèrent à l'effet variétal et v-x à l'effet du temps de récolte.

Le pourcentage du principal acide gras saturé - l'acide palmitique - dans les échantillons d'HOVE, a montré un comportement différent entre les variétés pendant la maturation du fruit. Ces teneurs spécifiques à chaque variété ont été observés par Dessouky et *al.* (2009) et Rondanini et *al.* (2014). Par ailleurs, un taux élevé en acide palmitique a été observé au début de la maturation (H2 pour la variété *Chemlal* et H1 chez *Limli*) ; et a été suivi d'une diminution importante aux stades avancés de maturation. En revanche, les huiles d'*Oléastre* n'ont pas présenté de variation claire ($P < 0,05$) de cet acide gras au cours des différentes récoltes. De nombreuses études (Baccouri et *al.*, 2008 ; Dag et *al.*, 2011), ont mis en relation la baisse de la teneur en acide palmitique pendant les stades avancés de maturation à l'effet de dilution, causé par la stabilité du niveau d'acide palmitique et l'augmentation plus importante des autres acides gras dans l'huile.

Les rapports oléique/linoléique, AGMI/AGS (acide gras mono-insaturé/acide gras saturé) et AGMI/AGPI (acide gras mono-insaturé/acide gras poly-insaturé) sont liés à l'aspect nutritionnel et à la stabilité oxydative de l'huile d'olive (Beltrán et *al.*, 2004). Pendant les dates de récolte H1, H2 et H3, l'huile de l'*Oléastre* a montré un rapport oléique/linoléique plus élevé (9.32, 8.94 et 7.94, respectivement) par rapport à la composition de l'huile *Chemlal* et *Limli* aux mêmes périodes. Les valeurs du rapport AGMI/AGPI ont montré une différence significative ($P < 0,05$) entre les variétés. Ces caractéristiques peuvent conférer à l'huile d'olivier une plus

grande stabilité et une plus longue durée de vie lors de son stockage (Beltrán et *al.*, 2004 ; Zaringhalami et *al.*, 2015).

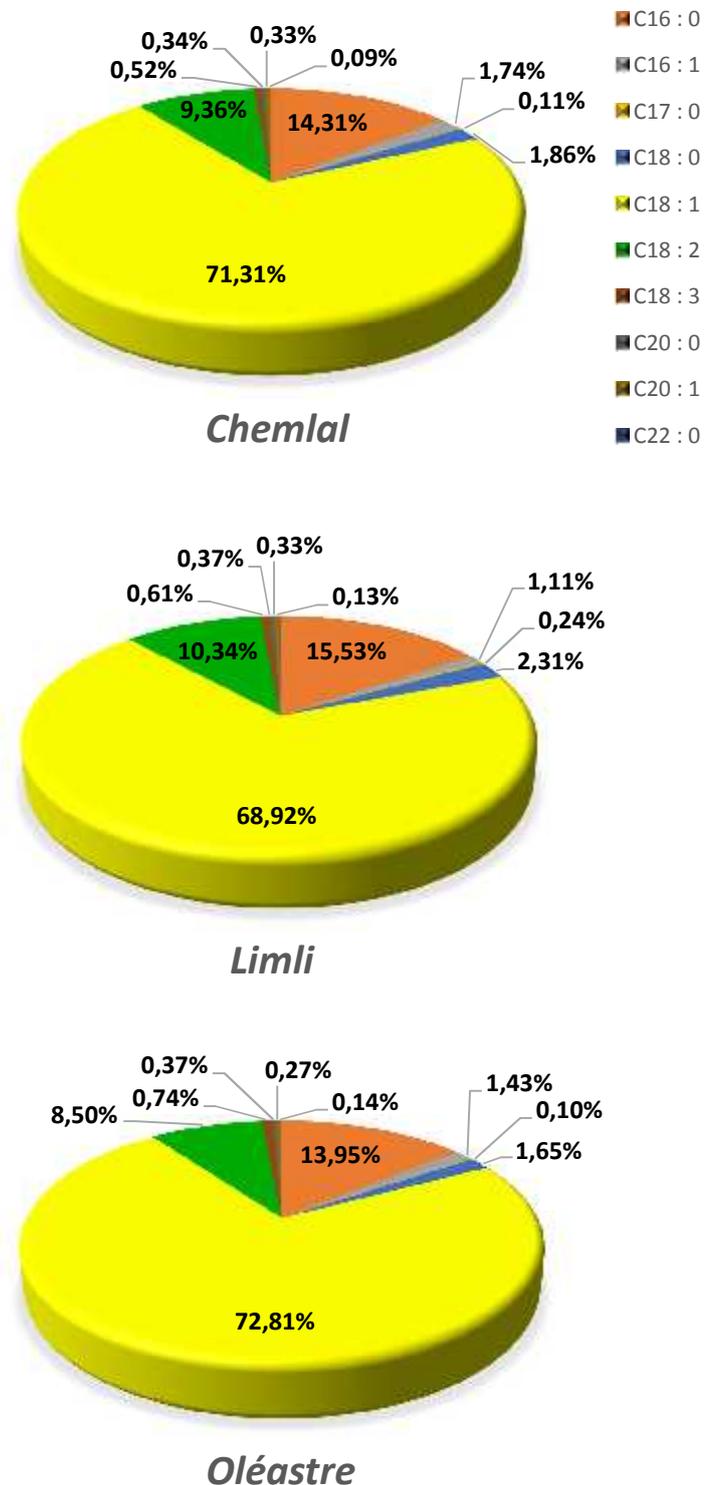


Figure 41 : Composition en acide gras des différentes variétés.

C16:0, palmitique ; C18:0, stéarique ; C16:1, palmitoléique ; C17:0, margarique ; C18:1, oléique ; C18:2, linoléique ; C18:3, linoléinique ; C20:0, arachidique ; C20:1, gadoléique ; C22:0, béhénique.

En outre, les valeurs du rapport AGMI/AGS ont atteint leur maximum durant les stades de maturation avancés du fruit, étant de 4,90 et 4,05 au cours de H3 dans les huiles issues des cultivars *Chemlal* et *Limli*, et de 5,18 lors de la récolte H4 pour l'*Oléastre*. Ce comportement peut être associé à de faibles niveaux d'acides palmitiques à la fin de la maturation. Pour Beltrán et al. (2004), cette relation est due à l'augmentation de l'activité de l'enzyme β -ketoacyl-ACP synthase II (KAS II), qui induit l'allongement de la chaîne de palmitoyl-ACP en stearoyl-ACP.

2.4. Teneur en pigments

Au cours du processus de maturation des olives, des changements importants se produisent dans la teneur en pigments, qui affectent constamment la couleur, la saveur et la capacité antioxydante de l'huile d'olive extraite (Dabbou et al., 2010). Au début de la récolte des olives, un niveau élevé de chlorophylles et de caroténoïdes a été observé dans tous les échantillons d'huile (figure 42). Ces derniers ont été particulièrement prononcés dans le cultivar *Limli*, avec des quantités de 11,61 et 5,71 mg/kg trouvées dans les deux pigments, respectivement. De nombreuses études ont relié cette variation significative observée entre les variétés à l'influence de la composante variétale sur la production de pigments (Desouky et Haggag, 2009).

Au cours de la maturation des olives, les huiles d'olive ont montré une diminution significative ($P < 0,05$) et linéaire de la teneur en pigments, par une perte de plus de 50% des chlorophylles totales et des caroténoïdes, enregistrée en fin décembre dans les huiles de *Limli* et d'*Oléastre*. Cette diminution est probablement due à la transformation de la chlorophylle (a) et (b) en phéophytine (a) et (b), qui provoque un changement dans la coloration de l'huile d'olive, du vert au jaune. Ce dernier affecte directement les capacités antioxydantes des deux pigments et particulièrement l'activité pro-oxydante des chlorophylles (Baccouri et al., 2008 ; Bengana et al., 2013).

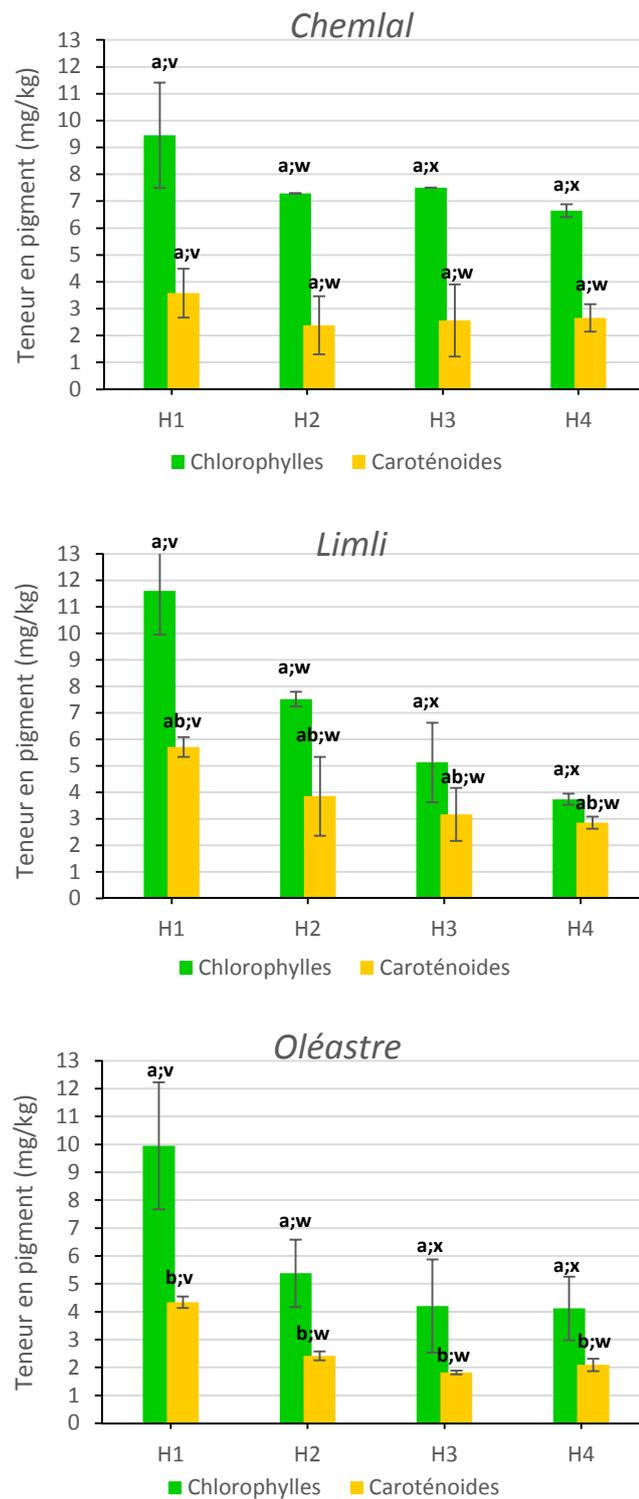


Figure 42: Teneur en pigment au cours la maturation.

Les différences significatives ($p < 0,05$), a-c se réfèrent à l'effet variétal et v-x à l'effet du temps de récolte

2.5. Teneur en phénols totaux

La teneur en phénols totaux (PT) estimée par le réactif de Folin-Ciocalteu est connue comme une technique de routine pour l'évaluation non sélective des principaux composés phénoliques de l'huile d'olive.

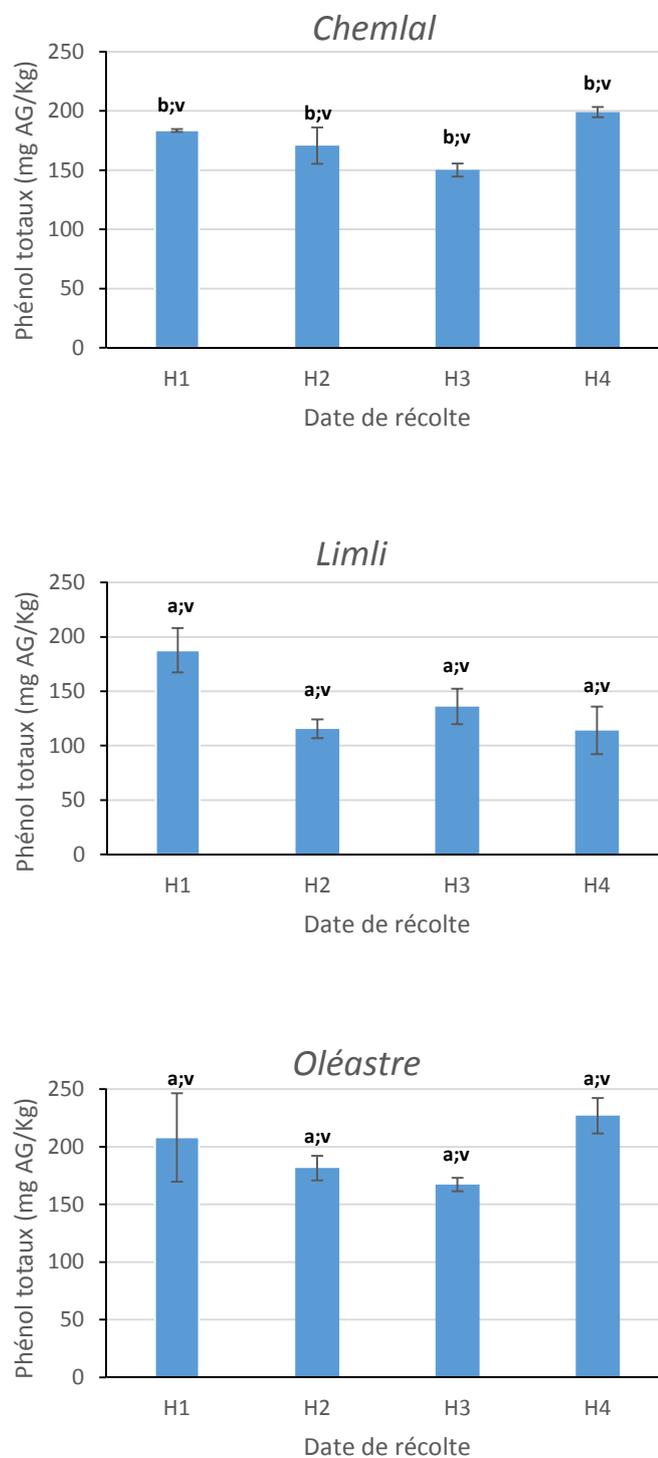


Figure 43: Teneur en phénols totaux.

Les différences significatives ($p < 0,05$), a-c se réfèrent à l'effet variétal et v-x à l'effet du temps de récolte

Les variations de la quantité de phénols totaux (figure 43) ont montré une tendance non claire au cours du processus de maturation ($P > 0,05$). Néanmoins, des diminutions linéaires peuvent être remarquées à travers la progression de maturation de H1 à H3 dans toutes les variétés. Elles ont chuté respectivement de 183,57 à 150,11 mg AG /kg, de 187,70 à 136,00 mg AG /kg et de 208,20 à 167,29 mg AG /kg dans les échantillons d'HOVE de *Chemlal*, *Limli* et *Oléastre*. Cette diminution est en accord avec les observations rapportées dans l'étude de Zaringhalami et al. (2015). Cependant, dans les échantillons d'huile de *Chemlal* et d'*Oléastre*, cette diminution a été suivie par une augmentation importante des composés phénoliques lors de la dernière date de récolte (H4). Cette augmentation des PT peut être le résultat de l'accumulation d'autres phénols tels que les anthocyanes au stade avancé de la maturation (Yorulmaz et al., 2013), qui ont également la capacité d'interagir avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

L'analyse de la variance sur les données des huiles a révélé une influence hautement significative ($P < 0,001$) du facteur variétal sur la teneur en polyphénols de l'huile d'olive. En outre, les moyennes de la teneur en polyphénols ont été trouvées particulièrement élevées dans les huiles d'*Oléastre* (moyenne des PT de H1 à H4 : 196,00 mg AG /kg) par rapport aux variétés cultivées, *Chemlal* et *Limli*. D'autres travaux réalisés sur ces variétés (Bouarroudj et al., 2016) sont en conformité avec nos résultats sur la teneur en phénols totaux. Selon Boucheffa et al. (2018), la richesse en polyphénols des huiles d'oliviers sauvages est associée à une résistance accrue aux conditions de stress hydrique de ses arbres. En effet, le stress hydrique augmente l'activité de l'enzyme phénylalanine-lyase, connue comme responsable de la biosynthèse des phénylpropanoïdes dans la plante (Machado et al., 2013).

2.6. Identification des sécoiridoïdes de l'huile d'olive par UHPLC-HRMS/MS

La technique de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) est fréquemment utilisée dans la caractérisation et la détermination structurale des composés phénoliques de l'HOVE, et notamment le mode d'ionisation négative (ESI) en raison de sa grande sensibilité (Celano et al., 2018). L'analyse UHPLC- DAD et ESI-HRMS des extraits phénoliques d'huile de la variété *Chemlal*, *Limli* et *Oléastre* a détecté 20 composés sécoiridoïdes (Figure 44).

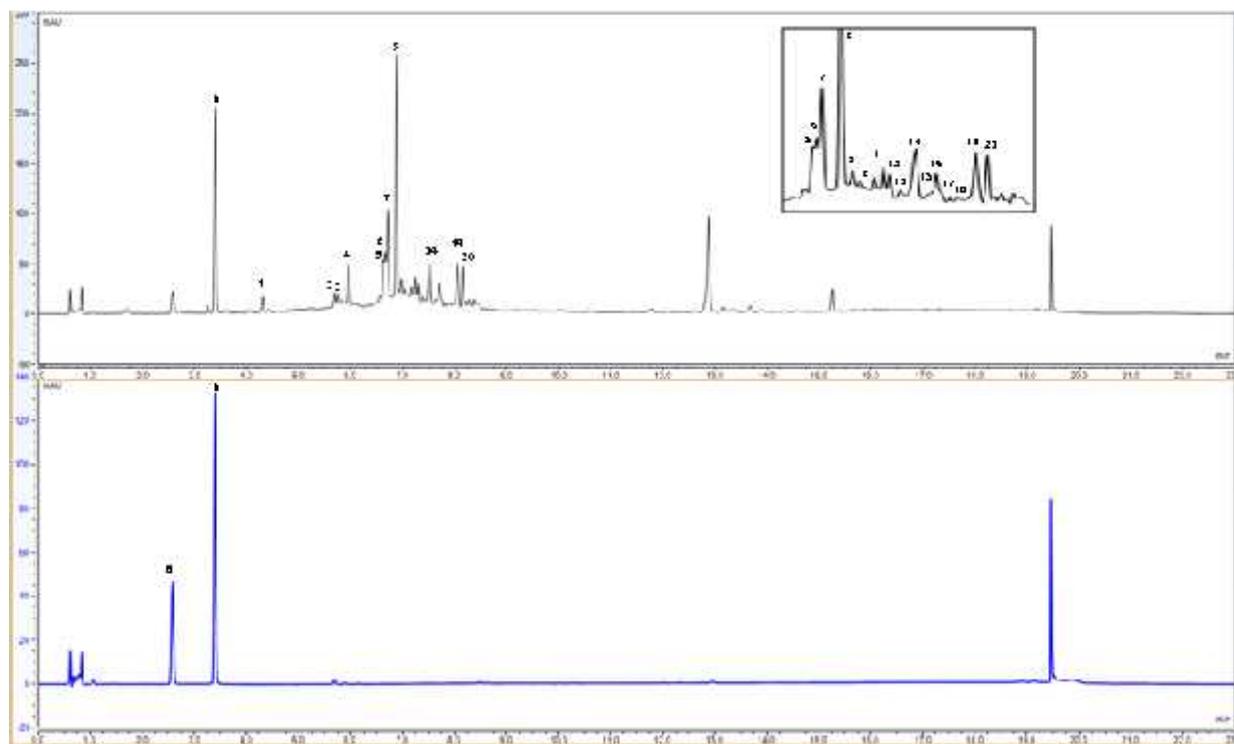


Figure 44: Chromatogrammes UHPLC des polyphénols de l'HOVE et les standards internes utilisés.

Tyrosol (a) et acide Syringique (b) détecté à 280 nm.

La composition en sécoiridoïdes de l'huile d'olive (Tableau 10) a été principalement caractérisée par plusieurs isomères de l'oleuropéine aglycone (3,4-DHPEA-EA), de ligstroside aglycone (p-HPEA-EA), de méthyl oleuropéine aglycone, mais aussi par différents dérivés de l'oléocanthal, de l'oléacein et de l'acide élenolique. En accord avec les résultats obtenus par Dierkes et al. (2012), au moins sept isomères de l'oleuropéine aglycone et six isomères de ligstroside aglycone ont été identifiés. Selon les travaux de Cardoso et al. (2011), plusieurs isomères d'oleuropéine et de ligstroside sont également présents dans les effluents des huileries et ont expliqué cette découverte par différentes positions de glycosylation trouvées entre l'unité de glucose et l'hydroxytyrosol et le tyrosol, respectivement. D'autres études menées sur des extraits phénoliques d'huile d'olive ont révélé la présence de diastéréoisomères/ isomères géométriques et de tautomères énoliques/diénoliques stables qui fournissent une confirmation structurelle indirecte pour certains isomères de l'oleuropéine aglycone (Abbattista et al., 2019, 2020).

Tableau 10: Résultats HRMS-ESI des composés sécoiridoïdes identifiés dans les échantillons d'huile d'olive.

Peak number	Secoiridoïd compounds	RT [min]	Ion Formula	Meas. m/z	m/z	err [ppm]
1	Acide élenolique	4.43	C11H13O6	241.071	241.072	0.7
2	Oleuropein aglycone ₁	5.71	C19H21O8	377.125	377.124	-0.9
3	Oleuropein aglycone ₂	5.77	C19H21O8	377.125	377.124	-0.9
4	Oleuropein aglycone ₃	5.97	C19H21O8	377.125	377.124	-0.9
5	Oléacein	6.57	C17H19O6	319.119	319.119	-0.7
6	Ligstroside aglycone ₁	6.65	C19H21O7	361.130	361.129	-1.1
7	Ligstroside aglycone ₂	6.68	C19H21O7	361.130	361.129	-1.1
8	Ligstroside aglycone ₃	6.91	C19H21O7	361.130	361.129	-1.1
9	Oleuropein aglycone ₄	7.00	C19H21O8	377.124	377.124	-0.5
10	Diméthyl acétal of oléacein	7.12	C19H25O7	365.161	365.161	-0.8
11	Oleuropein aglycone ₅	7.23	C19H21O8	377.124	377.124	-0.1
12	Ligstroside aglycone ₄	7.27	C19H21O7	361.130	361.129	-0.4
13	Méthyl oleuropein aglycone ₁	7.44	C20H23O8	391.140	391.140	-0.8
14	Oleuropein aglycone ₆	7.54	C19H21O8	377.124	377.124	-0.8
15	Oleuropein aglycone ₇	7.68	C19H21O8	377.124	377.124	-0.8
16	Ligstroside aglycone ₅	7.74	C19H21O7	361.130	361.129	-0.6
17	Diméthyl acétal of oléocanthal	7.79	C19H25O6	349.166	349.166	-0.3
18	Méthyl oleuropein aglycone ₂	7.93	C20H23O8	391.140	391.140	-0.4
19	Ligstroside aglycone ₆	8.09	C19H21O7	361.130	361.129	-0.7
20	Méthyl oleuropein aglycone ₃	8.20	C20H23O8	391.140	391.140	-0.9

L'identification des phénols individuels a été effectuée par HPLC-MS. Le temps de rétention relatif est calculé en le comparant au temps de rétention de l'acide syringique.

L'analyse de la fraction sécoiridoïdique (tableau 10) a indiqué la présence de l'oléocanthal et de l'oléacein dans les extraits d'HOVE. Ces dernières sont connues pour leurs hautes activités biologiques et leur intérêt nutritionnel (Lozano-Castellón et al., 2020). Cependant, Les deux composés ont été trouvés également sous forme acétal dans les extraits analysés. La formation d'hémiacétal/acétal et dérivés se produit pendant la phase d'extraction en raison de l'interaction du solvant protique (eau, méthanol) avec les deux sécoiridoïdes, comme mentionné par Celano et al. (2018). Selon De Medina et al. (2017), la séparation LC avec du méthanol acidifié est le promoteur potentiel de la formation d'acétals et d'hémiacétals. Ainsi, ces fractions ont été limitées par l'utilisation de l'acétonitrile comme phase mobile.

2.7. Teneur en sécoiridoïdes

Les sécoiridoïdes constituent la fraction majeure des composés phénoliques de l'HOVE (Hachicha Hbaieb *et al.*, 2016 ; Celano *et al.*, 2018). Leur contribution est liée aux qualités organoleptiques (Dierkes *et al.*, 2012) et à plusieurs propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive (Lozano-Castellón *et al.*, 2020). Les données énumérées dans le tableau 11 ont révélé que la quantité de sécoiridoïdes représente 60 à 90% du total des biophénols individuels des échantillons d'HOVE.

Tableau 11 : Teneur en sécoiridoïdes et biophénols totaux (mg Tyrosol équivalent/kg) des extraits d'HOVE.

Variété	date	Acide élenolique	Oleuropé-ine aglycone et isomères	Ligstrosiode aglycone et isomères	Oléacein et dérivés	Oléocan-thal et dérivés	Méthyl oleuropéi-ne aglycon	Total sécoiridoi-des	Biophénols Totaux HPLC
Chemlal	H1	21.88 ±	31.07 ±	79.41 ±	3.50 ±	1.46 ±	42.87 ±	180.21 ±	199.54 ±
		0.16 ^{b;v}	3.27 ^{b;v}	7.68 ^{b;v}	0.72 ^{a;v}	0.99 ^{b;v}	2.8 ^{b;v}	14.96 ^{b;v}	4.47 ^{b;v}
Chemlal	H2	8.77 ±	30.82 ±	110.20 ±	4.68 ±	4.68 ±	10.03 ±	169.20 ±	188.24 ±
		0.85 ^{b;w}	6.95 ^{b;v}	23.60 ^{b;v}	1.41 ^{a;v}	0.44 ^{b;v}	7.31 ^{b;v}	26.90 ^{b;vw}	23.32 ^{b;v}
Chemlal	H3	4.57 ±	12.18 ±	23.14 ±	0.57 ±	2.33 ±	22.72 ±	65.50 ±	95.91 ±
		0.96 ^{b;w}	1.08 ^{b;v}	5.25 ^{b;v}	0.08 ^{a;w}	0.10 ^{b;v}	2.19 ^{b;v}	8.02 ^{b;wx}	8.49 ^{b;vw}
Chemlal	H4	4.77 ±	11.63 ±	15.13 ±	0.33 ±	2.60 ±	18.94 ±	53.41 ±	68.08 ±
		0.60 ^{b;w}	1.22 ^{b;v}	2.00 ^{b;v}	0.04 ^{a;w}	0.17 ^{b;v}	2.34 ^{b;v}	6.37 ^{b;x}	1.32 ^{b;w}
Limli	H1	37.32 ±	19.92 ±	50.38 ±	1.96 ±	12.15 ±	50.66 ±	172.39 ±	190.17 ±
		1.93 ^{a;v}	1.58 ^{b;v}	4.98 ^{c;v}	0.48 ^{a;v}	1.01 ^{a;v}	4.58 ^{a;v}	14.38 ^{b;v}	10.88 ^{b;v}
Limli	H2	15.25 ±	16.44 ±	19.56 ±	1.80 ±	10.51 ±	58.93 ±	122.49 ±	159.88 ±
		1.63 ^{a;w}	1.18 ^{b;v}	1.85 ^{c;v}	0.11 ^{a;v}	1.04 ^{a;v}	5.79 ^{a;v}	11.37 ^{b;vw}	15.27 ^{b;v}
Limli	H3	16.64 ±	16.45 ±	20.27 ±	1.64 ±	10.96 ±	57.27 ±	123.23 ±	161.83 ±
		0.17 ^{a;w}	0.63 ^{b;v}	0.94 ^{c;v}	0.02 ^{a;w}	0.13 ^{a;v}	0.56 ^{a;v}	1.59 ^{b;wx}	1.55 ^{b;vw}
Limli	H4	6.99 ±	15.67 ±	17.22 ±	1.32 ±	8.93 ±	40.99 ±	91.13 ±	113.09 ±
		0.97 ^{a;w}	1.22 ^{b;v}	1.86 ^{c;v}	0.09 ^{a;w}	0.62 ^{a;v}	3.74 ^{a;v}	8.42 ^{b;x}	4.66 ^{b;w}
Oleaster	H1	8.10 ±	37.52 ±	124.21 ±	3.80 ±	0.33 ±	11.11 ±	185.10 ±	205.23 ±
		0.37 ^{b;v}	8.20 ^{a;v}	10.51 ^{a;v}	0.62 ^{a;v}	0.57 ^{c;v}	0.89 ^{c;v}	19.90 ^{a;v}	15.72 ^{a;v}
Oleaster	H2	12.25 ±	28.88 ±	124.10 ±	2.14 ±	0.00 ±	12.29 ±	179.60 ±	217.90 ±
		3.41 ^{b;w}	4.95 ^{a;v}	22.30 ^{a;v}	0.46 ^{a;v}	0.00 ^{c;v}	1.68 ^{c;v}	31.50 ^{a;vw}	34.00 ^{a;v}
Oleaster	H3	12.17 ±	38.15 ±	120.23 ±	1.50 ±	0.00 ±	13.36 ±	185.41 ±	216.50 ±
		0.49 ^{b;w}	6.34 ^{a;v}	9.82 ^{a;v}	0.48 ^{a;w}	0.00 ^{c;v}	0.51 ^{c;v}	17.29 ^{a;wx}	17.50 ^{a;vw}
Oleaster	H4	8.80 ±	32.95 ±	110.13 ±	1.59 ±	0.00 ±	9.09 ±	162.56 ±	185.48 ±
		0.27 ^{b;w}	1.28 ^{a;v}	4.98 ^{a;v}	0.54 ^{a;w}	0.00 ^{c;v}	0.18 ^{c;v}	6.52 ^{a;x}	5.12 ^{a;w}

Moyenne ± écart-type. Les lettres différentes dans la même ligne indiquent des différences significatives ($p < 0,05$), a-c se réfèrent à l'effet variétal et v-x à l'effet du temps de récolte.

Les formes aglycones du ligstroside et de l'oleuropéine sont les sécoiridoïdes les plus abondants dans les échantillons d'huile. Selon d'autres recherches (Romero-Segura et al., 2012 ; Pérez et al., 2014 ; Abbattista et al., 2020), elles sont générées par la déglycosylation enzymatique du ligstroside et de l'oleuropéine (abondamment présents dans l'olive) pendant les phases de traitement et d'extraction de l'huile. Comme pour les phénols totaux, la concentration des sécoiridoïdes individuels est influencée par différents facteurs environnementaux (Hachicha Hbaieb et al., 2016 ; Djelloul et al., 2020). Ainsi, les huiles d'*Oléastre* étaient caractérisées par une quantité plus élevée de 3,4-DHPEA-EA (28,88-37,52mg/kg), de p-HPEA-EA (110,13-124,21mg/kg), de sécoiridoïdes totaux (162,56-185,41mg/kg) et de biophénols totaux (185,48- 217,9mg/kg) que les huiles de variétés cultivées. Selon Pérez et al. (2014), la composante génétique est l'un des principaux facteurs qui façonnent la composition phénolique de l'huile d'olive monovariétale. Ce résultat est en accord avec d'autres recherches sur les variétés algériennes (Bouarroudj et al., 2016 ; Boucheffa et al., 2018).

Par ailleurs, les huiles extraites des cultivars *Chemlal* et *Limli* ont montré un niveau élevé d'acide élénolique, d'oléocanthal et de méthyl oleuropéine aglycone. Le test ANOVA a confirmé l'influence significative ($P < 0,05$) du facteur génétique sur la composition des sécoiridoïdes de l'HOVE. En ce qui concerne le processus de maturation, la majorité des sécoiridoïdes individuels et totaux ont présenté une diminution significative et similaire ($P < 0,05$), notamment par une faible teneur enregistrée à la dernière date de récolte. Des variations similaires ont été observées dans d'autres recherches (Bouarroudj et al., 2016). Des faibles teneurs en sécoiridoïdes et en biophénols totaux peuvent influencer négativement la stabilité oxydative et la qualité organoleptique de l'huile d'olive vierge (Servili et al., 2004 ; Abbattista et al., 2020)

2.8. Activité anti-radicalaire et capacité antioxydante

La capacité antioxydante dépend de la composition et de la quantité des composés bioactifs (phénoliques et non phénoliques) dans les HOVE, qui sont considérablement influencés par les variations du facteur variétal et la maturation des olives (Laincer et al., 2014 ; Zaringhalami et al., 2015). Ainsi, des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) ont été observées entre les variétés (figure 45). Selon les résultats rapportés par Bouarroudj et al. (2016), les extraits d'*Oléastre* se sont distingués des extraits d'huiles d'olive cultivées par une

forte capacité antioxydante, qui reste plus stable et plus élevée même au cours des stades de maturation avancés. Cela a été confirmée par des taux allant de 89,93% à 74,66%, de 79,84% à 24,17% et de 61,95% à 18,39% dans les échantillons d'huile d'*Oléastre*, *Chemlal* et *Limli*, respectivement.

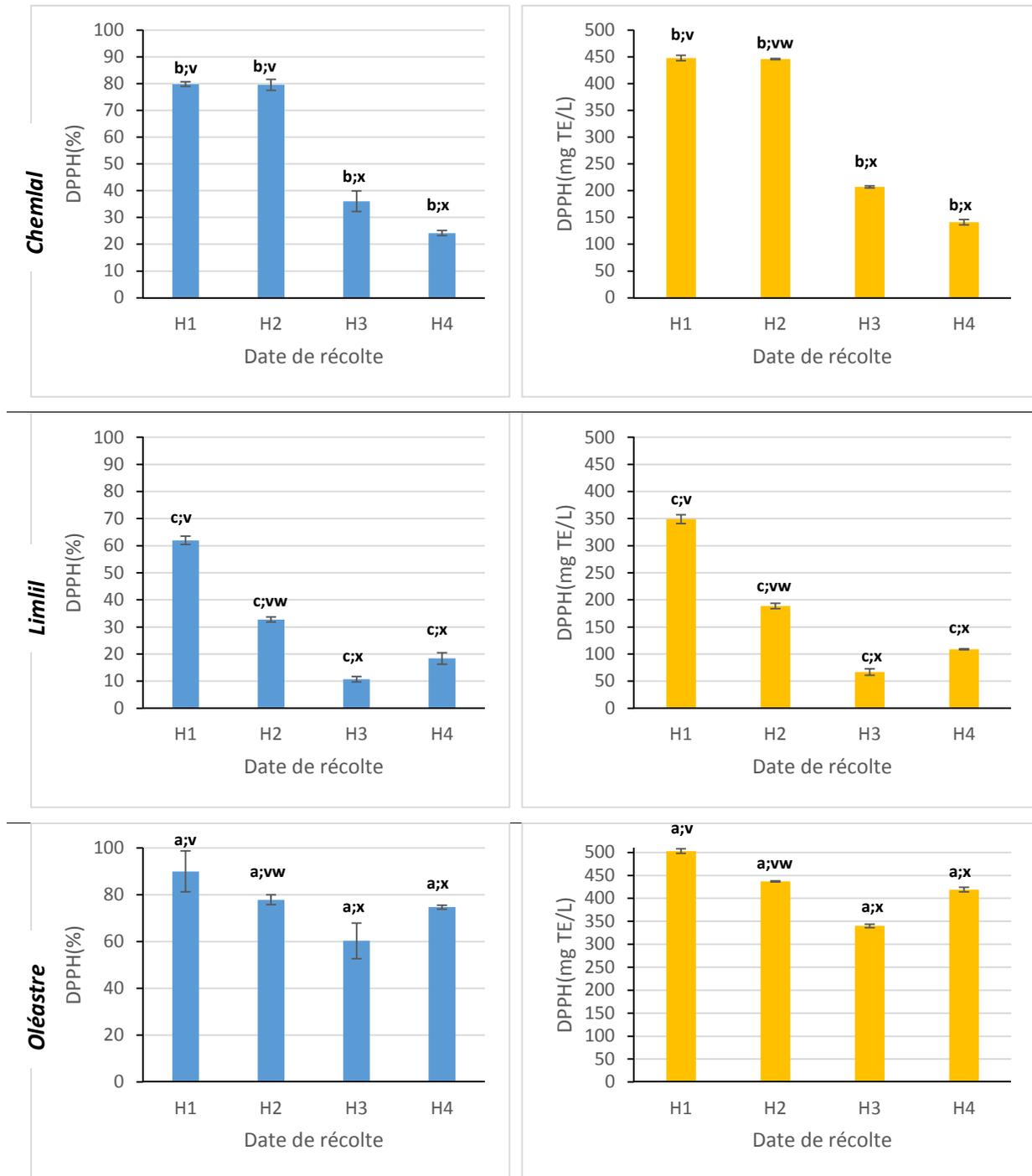


Figure 45 : Histogrammes montrant l'activité antioxydante des extraits d'huile d'olive.

Les différences significatives ($p < 0,05$), a-c se réfèrent à l'effet variétal et v-x à l'effet du temps de récolte

En outre, l'activité antiradicalaire des extraits diminue significativement ($P < 0,001$) tout au long du processus de maturation. Les résultats obtenus ont montré une chute de plus de 30% de la capacité de piégeage des radicaux DPPH dans les extraits d'HOVE de *Chemlal* et *Limli*, et de près de 18% dans les extraits d'*Oléastre*, lors la dernière date de récolte. Tout comme pour d'autres recherches (Rotondi et al., 2004 ; Baccouri et al., 2008 ; Bouarroudj et al., 2016), la teneur en sécoiridoïdes et en biophénols totaux a été corrélée positivement ($r^2 = 0.777, 0.722, p < 0.05$, respectivement) avec les variations de l'activité antioxydante des extraits d'HOVE durant le processus de maturation (Annexe 4). Ceci indique clairement que les extraits d'huile provenant des récoltes les plus précoces ont la meilleure activité contre les radicaux libres et le radical DPPH. La consommation d'HOVE plus riche en antioxydants naturels est davantage recommandée afin de limiter l'incidence des maladies cardiovasculaires (Silenzi et al., 2020).

2.9. Résultats de l'analyse chimiométrique

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les paramètres les plus importants de l'huile afin de définir les interactions possibles entre les différents échantillons d'HOVE et les principales corrélations entre les variables. Les résultats de l'ACP (Figure 46) montrent que 61,5% de la variance totale a été expliquée par la première composante (PC1) et la deuxième composante (PC2), qui représentent respectivement 35,2 et 26,3% de la variance.

Les variables qui contribuent le plus à la première composante sont C18:1, C18:1/C18:2, AGMI/AGS, AGMI/AGPI, TPC, OA, LA (corrélées positivement) ; et K232, C18:2, OLEO, MOA (corrélées négativement). La plupart des variables restantes, C16:0, Ch, Ca, OLEA, EA, TSC, TBP, DPPH% sont corrélées négativement avec la deuxième composante PC2, à l'exception de C18:1 et acidité libre (FFA), qui sont liés positivement. Le graphique des observations (figure 46a) sépare les différents échantillons d'huile, selon PC1, en deux groupes distincts. Le graphe des observations montre que les huiles d'*Oléastre* ont été regroupées dans le quadrant droit du graphe, distinguées par des variables positivement corrélées avec PC1, projetées également dans le côté droit du graphe de variables.

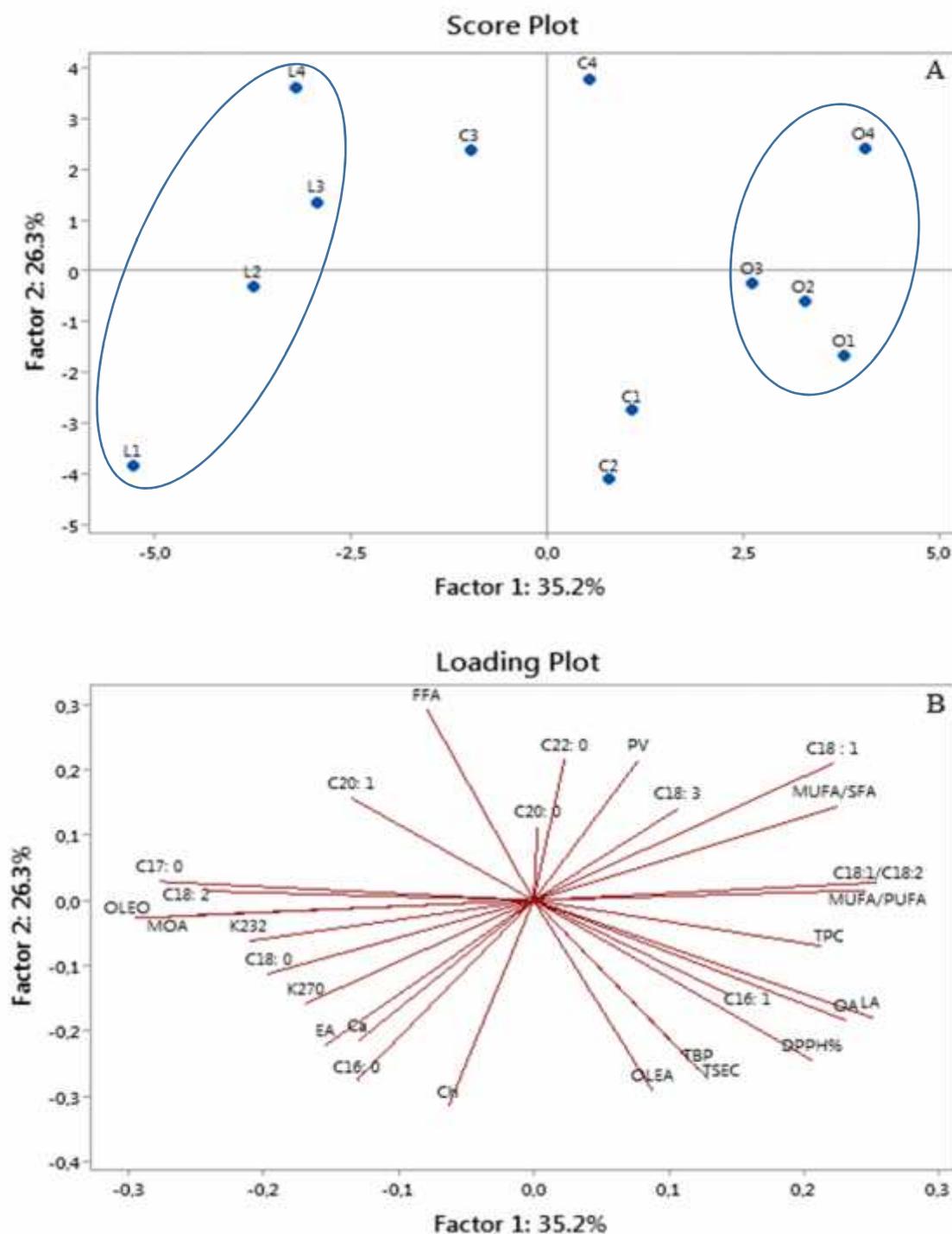


Figure 46 : Analyse PCA sur les paramètres les plus importants de l'huile d'olive.

A : Distribution des échantillons d'huile en fonction des variables adoptées, B : Distribution vectorielle des variables.
 OA : Oleuropéine Aglycone, LA : Ligstroside Aglycone, OLEA : Oleocanthal, OLEA : Oleacein, MOA : Méthyl oleuropein aglycon, EA : Acide Elenolic, TSEC : Total secoiridoïds, TBP : Total Biophenols HPLC, FFA : Acidité, Ch : Chlorophylles
 Ca : Caroténoïdes, TPC : Phénols totaux.

D'autre part, les échantillons de *Limli* sont regroupés dans la moitié gauche du graphe des observations, qui sont superposés avec les variables négatives (K232, C18:2, OLEO, MOA...) du graphe des variables. En outre, la figure 46 a montré une séparation non claire pour les échantillons de *Chemlal*, ces derniers sont distribués entre les groupes de *Limli* et d'*Oléastre*. Ce comportement particulier, fourni par la variation spécifique de la composition d'huile de *Chemlal*, peut-être dû au processus de maturation rapide des fruits de cette variété ; ceci entraîne une importante modification dans plusieurs composés de l'huile. Par conséquent, un écart important a été observé entre les échantillons de récoltes précoces H1 et H2 et ceux des récoltes H3 et H4 pour la variété *Chemlal* en termes de contenu en sécoiridoïdes tels que l'oléacein, l'oleuropéine aglycone et le ligstroside aglycone (Tableau 11).

Un autre point intéressant qui pourrait être soulevé concerne les acides gras monoinsaturés qui semblent être responsables de la localisation des huiles d'*Oléastre* à des valeurs PC1 élevées, alors que les acides gras saturés sont particulièrement présents dans les échantillons de *Limli*. Ces observations sont en accord avec les données sur les acides gras du tableau 9. Encore une fois, les échantillons de *Chemlal* sont clairement différents des autres variétés, les acides gras saturés à longue chaîne étant plus importants lors de la récolte tardive. En résumé, PC1 a permis de répartir les échantillons d'huile en fonction de leurs caractéristiques variétales.

La deuxième plus grande variation de l'ACP (PC2) a permis de distribuer les échantillons d'huile en fonction de leur date de récolte. Ainsi, les points C1, C2, L1, O1 représentant les dates de récolte précoce sont groupés dans le quadrant inférieur de l'ACP, qui se caractérise par un niveau élevé de sécoiridoïdes totaux, de biophénols et une meilleure activité antioxydante. D'autre part, L3, L4, C3, C4 et O4, qui représentent les dernières dates de récolte, sont projetés dans le quadrant supérieur, marqué par des niveaux plus faibles dans les variables précédentes. Les résultats obtenus à partir de l'analyse ACP sont en accord avec les observations précédemment rapportées sur les paramètres étudiés et offrent une vision plus précise de la contribution des facteurs de variété et de maturité à la caractérisation et à la qualité de l'huile d'olive.

2.10. Contribution des facteurs étudiés aux caractéristiques de l'huile d'olive

Grâce à une simple extraction mécanique et sans recours à des solvants, l'huile d'olive vierge est enrichie d'une large gamme de composés naturels et bioactifs. En revanche, cette richesse est particulièrement conditionnée par les caractéristiques du fruit et la méthode d'extraction utilisée. On constate ainsi que la composition de l'huile d'olive est largement influencée par de nombreux facteurs situés en amont et en aval de la chaîne de production (Beltrán et *al.*, 2010 ; Gharbi et *al.*, 2015).

L'analyse statistique des facteurs étudiés (l'effet de la variété et de la maturité des olives), effectuée à travers le test du modèle linéaire général a montré que le facteur variétal et la maturité, ont un impact majeur sur les caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olive analysées ; et ce avec un pourcentage de contribution moyen de 41% et 29%, respectivement. Ces résultats sont très similaires à ceux obtenus dans la première partie (chapitre IV), et confirment que le facteur variétal exerce une plus grande influence sur la composition et la qualité de l'huile d'olive. De même, les facteurs étudiés ont un effet spécifique sur chaque paramètre analysé. Ainsi, le profil en acide gras de l'huile se trouve en général plus influencé par la variété d'olivier (40, 38%), alors que la maturité contribue avec un taux de 18,33%.

Par ailleurs, l'acide palmitique (acide gras saturé) a été plus affecté par la maturité des fruits (41,01%) que par la variété (14,43%). L'effet de la maturité sur certains paramètres a été plus important que celui observé dans la première partie, consacrée au cultivar *Chemlal* et *Azeradj* (tableau 8). Cette différence est due probablement à une maturation 8% plus rapide des olives, en comparant les olives cultivées dans la zone semi-arides de Bouira (Chapitre V) par rapport à celles de la zone humide de Tizi-Ouzou (Chapitre IV). En effet, des températures plus élevées lors de la phase de véraison ont tendance à accélérer le processus de maturation des olives (Vaio et *al.*, 2013). Grâce à l'influence de ces paramètres environnementaux, l'hydrolyse des acides gras dans le fruit a été davantage affectée par le processus de maturation. Ce dernier contribue à environ 50% de la variation de l'acidité dans les huiles extraites. De même, les indices d'oxydation primaire et secondaire de l'huile d'olive ont été influencés de manière considérable par les facteurs étudiés. La variété et la maturité ont eu respectivement un pourcentage de contribution de 55,76% et 32,46% sur l'indice de peroxyde (IP), 48,25% et 28,20% sur le K232 et de 34,34% et 25,65% sur le K270.

Tableau 12 : Pourcentage de contribution des facteurs étudiés et de leur interaction sur les paramètres les plus importants des huiles analysées.

Source de variabilité	A%	IP	K232	K270	C16:0	C18:1	C18:2	Oléique / linoléique
Variété	6,79% ^{ns}	55,76%***	48,25%***	34,34%***	14,43%	37,66%	40,58%	48,25%
Maturité	47,88%***	32,46%***	28,20%***	25,65%***	41,01%	26,04%	10,18%	10,06%
Variété x Maturité	14,83% ^{ns}	7,15%***	17,51%***	37,61%***	44,56%	36,30%	49,24%	41,68%
	AGMI/AGPI	AGMI/AGS	Chlorophylles Caroténoïdes			OA	LA	OLEO
Variété	56,81%	44,53%	2,51% ^{ns}	30,87%***	47,89%***	53,36%***	69,02%***	94,63%***
Maturité	11,99%	10,67%	81,49%***	56,21%***	4,01% ^{ns}	12,45%***	21,17%***	0,91%***
Variété x Maturité	31,19%	44,79%	6,01% ^{ns}	2,37% ^{ns}	35,00%***	23,10%***	14,02%***	3,40%***
	OLEA	MOA	EA	TSec	TBP	I%		
Variété	4,31% ^{ns}	81,53%***	22,46%***	30,76%***	35,06%***	46,47%***		
Maturité	47,64%***	5,40%***	41,89%***	37,49%***	37,16%***	41,25%***		
Variété x Maturité	35,82%***	11,55%***	34,13%***	24,11%***	21,36%***	10,99%***		

Niveaux de significativité: * P 0.05, ** P 0.01, *** P 0.001, ^{ns} non significative.

Les températures un peu plus élevées de cette région ont dû probablement favoriser le phénomène d'hydrolyse et d'oxydation d'acides gras dans l'olive (Mailer et *al.*, 2010 ; Aiachi Mezghani et *al.*, 2019). Ainsi, des valeurs plus élevées de ces paramètres (enregistrées dans la région semi-aride de Bouira) ont certainement contribué à une meilleure estimation de l'effet variétal et du processus de maturation par le test statistique appliqué.

D'autre part, le facteur variétal et le degré de maturité ont contribué de manière distincte aux variations des composés phénoliques et antioxydants de l'huile. La composante variétale a ainsi un pourcentage de contribution considérable sur certains composés, tels que la teneur en oléocanthal (OLEO : 94,63%), en méthyl oleuropéine aglycone (MOA: 81,53%), en ligstroside aglycone (OA : 69,02%), et en oleuropéine aglycone (OA : 53,36%). Par contre, le processus de maturité a influencé de manière plus importante la quantité en pigments (Chlorophylles (81,49%) et caroténoïdes (56,21%), en oléaceine (OLEA :47,64%), en acide élenolique (EA: 41,89%), en sécoiridoïdes totaux (TSec: 37,49%), et en biophénols totaux (TBP :37,16%) des huiles analysées. Les données obtenues montrent que les teneurs globales en pigments, en secoiridoïdes et en biophénols ont été fortement dépendantes du changement de la maturité des olives. En revanche, leur profil (notamment celui des secoiridoïdes) a présenté une sensibilité spécifique et distincte aux deux facteurs étudiés.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Ce travail de recherche sur l'un des principaux apports alimentaires du régime méditerranéen a permis de mieux comprendre l'effet des changements de la source génétique, de l'altitude et de la maturation des fruits sur la qualité de l'huile d'olive vierge. L'influence des facteurs étudiés a été observée dans les différences considérables entre les échantillons d'huile en termes d'indices de qualité (acidité, peroxyde, K232 et K270), de teneur en pigments, de profil en acides gras, de composition en triglycérides, de contenu phénolique et d'activité antioxydante. Par ailleurs, la première partie de notre recherche a montré que le facteur variétal a une plus grande influence sur les caractéristiques de l'huile d'olive, avec un pourcentage de contribution de 29% , suivi de l'altitude et de la maturité à hauteur de 11% et 14%, respectivement.

Les données pomologiques ont révélé une grande variabilité phénotypique dans les olives provenant des cultivars *Chemlal* (1.35- 2.39g) et *Azeradj* (2.31- 4.25g), influencée notamment par l'altitude en exprimant leur plein potentiel génétique à basse altitude. Ce dernier est dû probablement à une meilleure alimentation des arbres cultivés dans les plaines. En outre, le suivi du poids sec des fruits au cours de la maturation a montré que les olives continuent leur développement durant cette période, avec une augmentation moyenne de près de 7% durant la période de fin-novembre à fin-décembre (un mois).

En terme de qualité de l'huile d'olive, toutes les huiles extraites présentaient des indices de qualité conformes aux normes établies pour la catégorie d'huile d'olive vierge extra. Ceci montre clairement que la trituration (dans de bonnes conditions) d'olives fraîches et saines permet d'obtenir une huile d'olive vierge extra, dont les paramètres d'acidité et d'oxydation ne dépassent pas les fourchettes établies (A% 0.8%, K232 2.50 et K270 0.22).

La quantité de pigments et de tocophérols, considérés comme des antioxydants naturels de l'huile d'olive, a montré une corrélation significative avec l'altitude de la zone de culture et particulièrement avec le processus de maturation. Une diminution remarquable a été observée durant les stades avancés de la maturité des olives, distinguée par une perte d'environ 43% des pigments et 30% des tocophérols. En outre, les faibles teneurs en tocophérols ont influencé négativement la stabilité oxydative de l'huile d'olive. La courte durée de vie des échantillons, récoltés à un stade de maturation avancé et à basse altitude, est due à leurs faibles teneurs en acides gras mono-insaturés, en pigments et particulièrement en tocophérols.

Les données obtenues sur la composition en acides gras et en triacylglycérols ont révélé que chaque cultivar est caractérisé par un profil lipidique distinct, et que cette composition particulière a une sensibilité différente aux facteurs étudiés. En effet, l'acide oléique et son triglycéride respectif (trioléine) ont été les composés les plus dominants dans l'huile d'olive, avec des teneurs allant de 61,14% à 74,07% et de 24% à 42%, respectivement. Ces derniers sont les composés qui ont le plus réagi avec le facteur variétal. Alors que certains paramètres, tels que les ratios AGMI/AGPI et oléique/linoléique ont montré une sensibilité plus importante aux changements de l'altitude des oliveraies. Par ailleurs, l'effet du processus de maturation a été plus observé dans les variations de la composition en acide linoléique et en triglycérides OLL et SLO+ POO.

Concernant la variation de la teneur en sécoiridoïdes et des caractéristiques chimiques de l'huile d'olive des variétés cultivées et sauvages, les résultats obtenus ont montré que les extraits d'huiles d'olive sauvages étaient caractérisés par des niveaux plus élevés en composés bioactifs. Ainsi, les extraits phénoliques des huiles issues de cette variété ont une forte capacité de piégeage des radicaux libres, qui peut atteindre 89,93%. Ces qualités sont probablement dues à l'adaptation exceptionnelle de l'*Oléastre* aux conditions environnementales arides. Par ailleurs, les dates de récolte tardives ont montré un effet négatif sur la qualité de l'huile d'olive, reflété par une diminution significative dans la teneur en pigments, en phénols totaux, en sécoiridoïdes et de l'activité antioxydante.

La variation de la capacité antioxydante des extraits d'huile d'olive a été fortement corrélée avec leur contenu en composés phénoliques, en particulier la fraction sécoiridoïdique qui représente environ 60-90% des biophénols totaux d'huile d'olive. La composition de cette fraction a été dominée par un profil riche en plusieurs isomères d'oleuropéine aglycone et de ligstroside aglycone. Ces derniers sont détectés par une méthode rapide et efficace qui repose sur l'UHPLC-DAD, le mode d'ionisation négative par électrospray (ESI) et du spectromètre de masse UHR-Q-TOF. La forme aglycone de l'oleuropéine et le ligstroside représentent plus de 60% du total des sécoiridoïdes dans les variétés cultivées et sauvages.

L'approche chimiométrique, par une analyse en composante principale (ACP), a permis une meilleure visualisation de la variation des différents composés de l'huile d'olive, en fonction des facteurs étudiés. Selon cette analyse, les sécoiridoïdes, la composition en acides gras et le profil en triglycérides ont été les composantes les plus contributives à la discrimination entre

les échantillons d'huile. Cette analyse a également montré que le facteur variétal est le facteur le plus influant sur la composition de l'huile d'olive vierge.

Les résultats obtenus dans notre étude confirment que le facteur génétique et le moment de la récolte des olives sont des facteurs majeurs dans la détermination de la qualité des HOVE. Avec la progression de la maturité des olives, on observe une succession de changements significatifs dans le contenu de la fraction mineure (polyphénols, tocophérols, pigments, etc.), plus que dans la fraction majeure de l'huile d'olive (acides gras et triglycérides). Cette fraction dépend davantage du facteur génétique, qui contribue à 51% de sa variation. Ces changements affectent directement la stabilité oxydative et la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive extraite. Par ailleurs, les changements de l'altitude du verger ont un effet non négligeable sur la composition de l'huile d'olive. En effet, sa contribution a été de 19% sur les indices de qualité, de 22% sur les pigments et de 14% sur la teneur en tocophérols de l'huile d'olive.

En outre, on constate que la composition, lipidique et non-lipidique, de l'huile d'olive est étroitement dépendante de l'interaction de l'olivier avec le facteur géographique et les conditions climatiques. Ainsi, le choix de la variété d'olivier, soit dans l'installation des nouveaux vergers ou dans la labélisation des huiles produites au niveau de la région de Kabylie et dans d'autres localités, doit s'appuyer sur la réponse des différents cultivars aux conditions climatiques et géographiques, spécifiques à chaque région. Par conséquent, les huiles d'olive produites dans les différentes régions du pays nécessiteront une étude en termes de richesse en antioxydants naturels et de qualité nutritionnelle.

Les recherches futures devraient également se pencher sur l'étude des huiles des d'autres cultivars algériens et leur interaction avec les différentes conditions climatiques du pays. Une enquête pourrait se faire ainsi sur les nouvelles plantations d'oliviers, réalisées dans les différentes régions d'Algérie. En particulier, les nouvelles oliveraies du Sud, qui sont caractérisés par le cultivar *Chemlal*, en observant notamment le comportement de ces derniers dans le climat très particulier de cette zone.

Enfin, il est intéressant de poursuivre d'autres analyses sur les variétés étudiées, en caractérisant davantage la composition de l'huile d'olive, particulièrement son profil en composés terpéniques, phytostérols et volatils. Il est également intéressant de comprendre l'impact des différents composés sur la qualité nutritionnelle et thérapeutique des HOVE, notamment par des analyses complémentaires sur leurs activités biologiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbattista R, Losito I, Castellaneta A, De Ceglie C, Calvano CD, Cataldi TRI (2020). Insight into the Storage-Related Oxidative/Hydrolytic Degradation of Olive Oil Secoiridoids by Liquid Chromatography and High-Resolution Fourier Transform Mass Spectrometry. *J Agric Food Chem*, 68: 12310–12325.
- Abbattista R, Losito I, De Ceglie C, Castellaneta A, Calvano CD, Palmisano F, et al (2019). A comprehensive study of oleuropein aglycone isomers in olive oil by enzymatic/chemical processes and liquid chromatography-Fourier transform mass spectrometry integrated by H/D exchange. *Talanta*, 205: 107-120.
- Abdallah, M., Vergara-Barberán, M., Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., Zarrouk, M., Guerfel, M., Simó-Alfonso, E. F. (2016). Use of triacylglycerol profiles established by HPLC–UV and ELSD to predict cultivar and maturity of Tunisian olive oils. *European Food Research and Technology*, 242: 1607-1619.
- Aïachi Mezghani, M., Mguidiche, A., Allouche Khebour, F., Zouari, I., Attia, F., Provenzano, G., (2019). Water status and yield response to deficit irrigation and fertilization of three olive oil cultivars under the semi-arid conditions of Tunisia. *Sustainability*, 11: 4812.
- Al-Maaitah, M., Al-absi, K., Al-Rawashdeh, A. (2009) Oil quality of three olive cultivars as influenced by harvesting date in the middle and southern parts of Jordan. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 266-272.
- Alzand, K.I., Mohamed, M.A., (2012). Flavonoids: Chemistry, biochemistry and antioxidant activity. *J. Pharm*, 5: 37.
- Amarowicz, R., 2009. Squalene: a natural antioxidant?. *European journal of lipid science and technology*, 111(5): 411-412.
- Amiot, M.-J., Fleuriet, A., Macheix, J.-J., (1989). Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry*, 28: 67–69.
- Aranda, F., Gómez-Alonso, S., Rivera del Álamo, R.M., Salvador, M.D., Fregapane, G., (2004). Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars. *Food Chemistry*, 86: 485–492.
- Baali-Cherif, D., Besnard, G. (2005). High genetic diversity and clonal growth in relict populations of *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae) from Hoggar, Algeria. *Annals of Botany*, 96(5): 823-830.

- Baali-Cherif, D., Bouguedoura, N., Besnard, G., Bouhired, L., (2007). Etude des populations de l'olivier de Laperrine (*Olea europaea* sub sp. *Laperrinei* Batt. Trab.) du Sahara central algérien (Hoggar et Tassili).
- Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerretani L, Bendini A, Lercker G, et al (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, 109: 743–754.
- Bakhouche, A., Lozano-Sánchez, J., Beltrán-Debón, R., Joven, J., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., (2013). Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. *Food Research International*, 50: 401–408.
- Baldoni, L., Tosti, N., Ricciolini, C., Belaj, A., Arcioni, S., Pannelli, G., Germana, M.A., Mulas, M., Porceddu, A., (2006). Genetic structure of wild and cultivated olives in the central Mediterranean basin. *Annals of Botany*, 98: 935–942.
- Beltrán G, del Rio C, Sánchez S, Martínez L (2004). Influence of Harvest Date and Crop Yield on the Fatty Acid Composition of Virgin Olive Oils from Cv. Picual. *J Agric Food Chem*, 52: 3434–3440.
- Beltrán, G., Jiménez, A., Del Rio, C., Sánchez, S., Martínez, L., Uceda, M., Aguilera, M.P. (2010). Variability of Vit E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. *Journal of Food Composition Analysis*, 23: 633-639.
- Ben-Ayed, R., Kamoun-Grati, N., Rebai, A., (2013). An Overview of the Authentication of Olive Tree and Oil. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12: 218–227.
- Bengana, M., Bakhouche, A., Lozano-Sánchez, J., Amir, Y., Youyou, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., (2013). Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*, 54: 1868–1875.
- Benito, M., Lasa, J.M., Gracia, P., Oria, R., Abenoza, M., Varona, L., Sánchez-Gimeno, A.C., (2013). Olive oil quality and ripening in super-high-density Arbequina orchard. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 2207–2220.
- Besnard, G., Green, P.S., Bervillé, A., (2002). The genus *Olea* : molecular approaches of its structure and relationships to other Oleaceae. *Acta Botanica Gallica*, 149: 49–66.
- Besnard, G., Khadari, B., Navascués, M., Fernández-Mazuecos, M., El Bakkali, A., Arrigo, N., Baali-Cherif, D., Brunini-Bronzini de Caraffa, V., Santoni, S., Vargas, P., (2013). The

- complex history of the olive tree: from Late Quaternary diversification of Mediterranean lineages to primary domestication in the northern Levant. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280: 20122833.
- Besnard., Guillaume., Rafael Rubio de Casas., (2016). "Single vs multiple independent olive domestications: the jury is (still) out". *New Phytologist*, 209(2): 466-470.
- Bevilacqua, A., de Stefano, F., Augello, S., Pignatiello, S., Sinigaglia, M., Corbo, M.R., (2015). Biotechnological innovations for table olives. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66: 127–131.
- Boskou, D., (2006). *Olive oil: chemistry and technology*. AOCS Publishing.
- Boskou, D., Blekas, G., Tsimidou, M., (2006). Olive oil composition, in: *Olive Oil*. Elsevier: 41–72.
- Bouarroudj K., Tamendjari A., Larbat R., (2016) Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and Products*, 83: 484–491.
- Boucheffa S., Miazzi MM., di Rienzo V., Mangini G., Fanelli V, Tamendjari A., et al (2017). The coexistence of oleaster and traditional varieties affects genetic diversity and population structure in Algerian olive (*Olea europaea*) germplasm. *Genet Resour Crop Evol*, 64: 379–390.
- Boucheffa, S., Tamendjari, A., Pasqualone, A., Zammit-Mangion, M., Miazzi, M. M. (2018). Genetic flow among olive populations within the Mediterranean basin. *Peer Journal*, 6: e5260.
- Breton, C., (2006). *Reconstruction de l’histoire de l’olivier (Olea europaea subsp. europaea) et de son processus de domestication en région méditerranéenne, étudiés sur des bases moléculaires (PhD Thesis)*. Aix-Marseille 3, France.
- Breton, C., Guerin, J., Ducatillion, C., Médail, F., Kull, C.A., Bervillé, A., (2008). Taming the wild and ‘wilding’ the tame: Tree breeding and dispersal in Australia and the Mediterranean. *Plant Science*, 175: 197–205.
- Cardoso SM, Falcão SI, Peres AM, Domingues MRM., (2011). Oleuropein/ligstroside isomers and their derivatives in Portuguese olive mill wastewaters. *Food Chemistry*, 129: 291–296.
- Casas R, Estruch R, Sacanella E., (2018). The protective effects of extra virgin olive oil on immune-mediated inflammatory responses. *Endocrine, Metabolic Immune Disorders-*

- Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine Metabolic Disorders), 18: 23–35.
- Cayuela, J.A., García, J.F., (2018). Nondestructive measurement of squalene in olive oil by near infrared spectroscopy. *LWT*, 88 : 103–108.
- Cecchi, L., Migliorini, M., Zanoni, B., Breschi, C., Mulinacci, N. (2018). An effective HPLC-based approach for the evaluation of the content of total phenolic compounds transferred from olives to virgin olive oil during the olive milling process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(10): 3636-3643
- Celano, R., Piccinelli, A.L., Pugliese, A., Carabetta, S., di Sanzo, R., Rastrelli, L., Russo, M., (2018). Insights into the Analysis of Phenolic Secoiridoids in Extra Virgin Olive Oil. *J. Agric. Food Chem*, 66: 6053–6063.
- Chiappetta, A., Muzzalupo, I., (2012). Botanical description. Olive Germplasm—The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy.
- Ciafardini, G., Zullo, B. A. (2018). Virgin olive oil yeasts: A review. *Food microbiology*, 70: 245-253.
- Cicerale S, Conlan X. A., Sinclair A. J., Keast R. S. J. (2009) Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 218–236.
- Codex alimentarius (2017). Standard for olive oils and olive pomace oils. CODEX STAN 33-1981.
- Conde C, Delrot S, Gerós H., (2008). Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1545–1562..
- COI (1997). Methodology for Primary Characterisation of Olive Varieties. Project RESGEN-CT (67/97) EU/IOC.
- COI (1998). *L'Olivier, l'huile, l'olive*. Madrid, Espagne.
- COI (2006). *Techniques de production en oléiculture*. Madrid, Espagne.
- COI (2009). Conseil Oléicole International. www.internationaloliveoil.org
- COI (2011). Document COI/OH/Doc. No 1. Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile. International Olive Oil Council, Madrid.
- COI (2015). Document COI/T.20/Doc. No 19/Rev. 3. spectrophotometer investigation in the ultraviolet. International Olive Oil Council, Madrid.
- COI (2016). Document COI/T.20/Doc. No. Determination of peroxide value. International Olive Oil Council, Madrid.

- COI (2017). Document COI/T.20/Doc No 29/Rev1. Determination of biophenols in olive oils by HPLC. International Olive Oil Council, Madrid.
- COI (2019). Document COI/T.15/NC No 3/Rev. 14. Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils. International Olive Oil Council, Madrid.
- COI (2020a). <https://www.internationaloliveoil.org>.
- COI (2020b). Key-figures on the world market for olive oils. Data adopted at the 110th session of the IOOC: 25-29.
- Covas, M. I., Konstantinidou, V., Fito, M. (2009). Olive oil and cardiovascular health, *Journal Cardiovascular Pharmacology*, 54: 477-482.
- Dabbou, S., Issaoui, M., Esposto, S., Sifi, S., Taticchi, A., Servili, M., Montedoro, G. F., Hammami, M. (2009). Cultivar and growing area effects on minor compounds of olive oil from autochthonous and European introduced cultivars in Tunisia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89:1314-1325.
- Dag, A., Ben-David, E., Kerem, Z., Ben-Gal, A., Erel, R., Basheer, L., Yermiyahu, U., (2009). Olive oil composition as a function of nitrogen, phosphorus and potassium plant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 1871–1878.
- Dag, A., Kerem, Z., Yogevev, N., Zipori, I., Lavee, S., Ben-David, E., (2011). Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 127: 358–366.
- De Medina VS, Miho H, Melliou E, Magiatis P, Priego-Capote F, de Castro MDL., (2017). Quantitative method for determination of oleocanthal and oleacein in virgin olive oils by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta*. 162: 24–31.
- De Mendoza, M.F., Gordillo, C.D.M., Expósito, J.M., Casas, J.S., Cano, M.M., Vertedor, D.M., Baltasar, M.N.F., (2013). Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *Food chemistry*, 141: 2575–2581.
- De Torres, A., Espínola, F., Moya, M., Castro, E., (2016). Composition of secoiridoid derivatives from Picual virgin olive oil using response surface methodology with regard to malaxation conditions, fruit ripening, and irrigation management. *European Food Research and Technology*, 242: 1709–1718.
- Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., Michaud, P., (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process biochemistry*, 48(10): 1532-1552.

- Desouky, I. M., Haggag, L. F., Abd El-Migeed, M. M. M., El-Hady, E. S., (2009). Changes in Some Physical and Chemical Properties of Fruit and Oil in Some Olive Oil Cultivars During Harvesting Stage. *World Journal of Agricultural Sciences*: 760-765.
- Di fonzo, G., Troilo, M., Squeo, G., Pasqualone, A., Caponio, F. (2021). Functional compounds from olive pomace to obtain high-added value foods—a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1): 15-26.
- Di Giacomo, G., Romano, P. (2022). Evolution of the Olive Oil Industry along the Entire Production Chain and Related Waste Management. *Energies*, 15(2): 465.
- Di Giovacchino, L., 2013. Technological aspects, in: *Handbook of Olive Oil*. Springer:.. 57–96.
- Di Rienzo, V., Sion, S., Taranto, F., D’Agostino, N., Montemurro, C., Fanelli, V., et Miazzi, M. M. (2018). Genetic flow among olive populations within the Mediterranean basin. *PeerJ*, 6: e5260.
- Di Vaio, C., Nocerino, S., Paduano, A., Sacchi, R., (2013). Influence of some environmental factors on drupe maturation and olive oil composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 1134–1139.
- Dierkes G, Krieger S, Dück R, Bongartz A, Schmitz OJ, Hayen H., (2012). High-Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Profiling of Phenolic Compounds for Evaluation of Olive Oil Bitterness and Pungency. *J Agric Food Chem*, 60: 7597–7606.
- Djelloul, M.C.B., Amrani, S.M., Rovellini, P., Chenoune, R., (2020). Phenolic compounds and fatty acids content of some West Algerian olive oils. *Com. Sci*, 11 : e3247–e3247.
- Doufene, (2007). *La petite paysannerie et le développement des territoires ruraux : cas de la région montagneuse de Grande-Kabylie en Algérie*. Ummto. Tizi-Ouzou.
- Douzane, M., Nouani, A., Dako, E., Bellal, M., (2012). Influence of the variety, the crop year and the growing on the fatty acid and tocopherols composition of some Algerian virgin olive oils. *AJAR*, 7 : 4738–4750.
- Dupin, J., Raimondeau, P., Hong-Wa, C., Manzi, S., Gaudeul, M., Besnard, G., (2020). Resolving the phylogeny of the olive family (Oleaceae): confronting information from organellar and nuclear genomes. *Genes*, 11: 1508.
- Erel, R., Kerem, Z., Ben-Gal, A., Dag, A., Schwartz, A., Zipori, I., Basheer, L., Yermiyahu, U., (2013). Olive (*Olea europaea* L.) tree nitrogen status is a key factor for olive oil quality. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61: 11261–11272.
- ENPARD, (2018). *Assistance technique d’appui: rapport final de mission* : 3.

- European Commission (1991). The characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. Commission regulation (EEC) N° 2568/91. Official Journal of the European Union: 248:01-83.
- European Commission, (2012). List of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. Commission regulation (EEC) No. 432/2012. Official Journal of the European Union.
- Fadda, C., Del Caro, A., Sanguinetti, A. M., Urgghe, P. P., Vacca, V., Arca, P. P., Piga, A. (2012). Changes during storage of quality parameters and in vitro antioxidant activity of extra virgin monovarietal oils obtained with two extraction technologies. *Food Chemistry*, 134:1542-1548.
- Foscolou, A., Critselis, E., Panagiotakos, D., (2018). Olive oil consumption and human health: A narrative review. *Maturitas*, 118: 60–66.
- Freihat, N. M., Al-Shannag, A. K., El Assi, N., (2008). Qualitative Responses of “Nabali” Olive Oil to Harvesting Time and Altitudes at Sub-Humid Mediterranean, *International Journal of Food Properties*, 11(3):561-570.
- Ganino, T., Bartolini, G., Fabbri, A., (2006). The classification of olive germplasm. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81: 319–334.
- Garcés, R., Sarmiento, C., Mancha, M., (1992). Temperature regulation of oleate desaturase in sunflower seeds. *Planta*, 186: 461–465.
- Gharbi, I., Issaoui, M., Mehri, S., Cheraief, I., Sifi, S., Hammami, M., (2015). Agronomic and technological factors affecting Tunisian olive oil quality. *Agricultural Sciences*, 6: 513.
- Giuliani, A., Cerretani, L., Cichelli, A., (2011). Chlorophylls in olive and in olive oil: chemistry and occurrences. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51: 678–690.
- Guasch-Ferré M, Zong G, Willett WC, Zock PL, Wanders AJ, Hu FB, et al., (2019). Associations of monounsaturated fatty acids from plant and animal sources with total and cause-specific mortality in two US prospective cohort studies. *Circulation research*, 124: 1266–1275.
- Guerrini L, Masella P, Angeloni G, Zanoni B, Breschi C, Calamai L, et al. (2019). The effect of an increase in paste temperature between malaxation and centrifugation on olive oil quality and yield: Preliminary results. *Italian Journal of Food Science*, 31: 451–458.
- Gutiérrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A., Albi, M. A., (1999). Effect of olive ripeness on the oxidative of virgin olive oil extracted from the cultivars “picual” and “Hojiblanca”, and

- on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:121-127.
- Hachicha Hbaieb R, Kotti F, Gargouri M, Msallem M, Vichi S., (2016). Ripening and storage conditions of Chétoui and Arbequina olives: Part I. Effect on olive oils volatiles profile. *Food Chemistry*, 203: 548–558.
- Hammouda, I. B., Márquez-Ruiz, G., Holgado, F., Sonda, A., Skalicka-Wozniak, K., Bouaziz, M., (2020). RP-UHPLC–DAD-QTOF-MS As a Powerful Tool of Oleuropein and Ligstroside Characterization in Olive-Leaf Extract and Their Contribution to the Improved Performance of Refined Olive-Pomace Oil during Heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(43): 12039-12047.
- Harwood, J., Aparicio, R., (2000). *Handbook of olive oil: Analysis and properties*. Springer.
- Hashim, Y.Z., Eng, M., Gill, C.I., McGlynn, H., Rowland, I.R., (2005). Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. *Nutrition reviews*, 63: 374–386.
- Huang, S., Wang, Q., Wang, Y., Ying, R., Fan, G., Huang, M., Agyemang, M., (2020). Physicochemical characterization and antioxidant activities of Chongqing virgin olive oil: effects of variety and ripening stage. *Food Measure*, 14: 2010–2020.
- International Organization for Standardization. (2007). *Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxide value - Iodometric (visual) endpoint determination*. ISO, Standard No. 3960, Geneva.
- International Organization for Standardization. (2009). *Animal and vegetable fats and oil - determination of acid value and acidity*. ISO, Standard No. 660, Geneva.
- International Organization for Standardization. (2011). *Animal and vegetable fats and oil - determination of ultraviolet absorbance expressed as specific UV extinction*. ISO, Standard No. 3656, Geneva.
- Mínguez-Mosquera, I.M., Rejano-Navarro, L., Gandul-Rojas, B., Sánchez-Gómez, A.H., Garrido-Fernández, J., (1991). Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68: 332–336.
- ITAF (2012). *La culture de l'olivier*. Institute technique d'arboricultures fruitières.
- Jiménez, B., Sánchez-Ortiz, A., Rivas, A., (2014). Influence of the malaxation time and olive ripening stage on oil quality and phenolic compounds of virgin olive oils. *International Journal of Food Science Technology*, 49: 2521–2527.

- Kalua, C.M., Allen, M.S., Bedgood Jr, D.R., Bishop, A.G., Prenzler, P.D., Robards, K., (2007). Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food chemistry*, 100: 273–286.
- Kapellakis, I.E., Tsagarakis, K.P., Crowther, J.C., (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 7: 1–26.
- Klen TJ and Vodopivec BM (2012). The fate of olive fruit phenols during commercial olive oil processing: traditional press versus continuous two- and three-phase centrifuge. *Food Sci Technol*, 49: 267–274.
- Keys, A., Mienotti, A., Karvonen, M.J., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Djordjevic, B.S., Dontas, A.S., Fidanza, F., Keys, M.H., (1986). The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *American journal of epidemiology*, 124: 903–915.
- Kiokias, S., Proestos, C., Varzakas, T., (2016). A Review of the Structure, Biosynthesis, Absorption of Carotenoids-Analysis and Properties of their Common Natural Extracts. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 4: 25–37.
- Koh, M. Y.; Ghazi, T. I. M. (2011) A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil. *Renew. Sustain. Energy Rev*, 15 (5): 2240–2251.
- Köseo lu, O., Sevim, D., Kadiro lu, P. (2016) Quality characteristics and antioxidant properties of Turkish monovarietal olive oils regarding stages of olive ripening. *Food Chemistry*, 212: 628–634.
- Kuczynska, P., Jemiola-Rzeminska, M., Strzalka, K., (2015). Photosynthetic pigments in diatoms. *Marine drugs*, 13: 5847–5881.
- Kumar, S., Kahlon, T., Chaudhary, S., (2011). A rapid screening for adulterants in olive oil using DNA barcodes. *Food Chemistry*, 127: 1335–1341.
- Laincer F, Laribi R, Tamendjari A, Arrar L, Rovellini P, Venturini S., (2014). Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y aceites*. 65: e001–e001.
- Lama-Muñoz, A., Álvarez-Mateos, P., Rodríguez-Gutiérrez, G., Durán-Barrantes, M. M., Fernández-Bolaños, J. (2014). Biodiesel production from olive–pomace oil of steam-treated alperujo. *biomass and bioenergy*, 67: 443-450.
- López-Yerena, A., Ninot, A., Jiménez-Ruiz, N., Lozano-Castellón, J., Pérez, M., Escribano-Ferrer, E., Romero-Aroca, A., Lamuela-Raventós, R.M., Vallverdú-Queralt, A., (2021). Influence of the Ripening Stage and Extraction Conditions on the Phenolic Fingerprint of ‘Corbella’ Extra-Virgin Olive Oil. *Antioxidants*, 10: 877.

- Loussert et Brousse (1978). *L'olivier, Techniques culturales et productions méditerranéennes*, Edit, C.P, Maisonneuve et Larousse, Paris : 437.
- Lozano-Castellón, J., López-Yerena, A., Alvarenga, J.F.R. de, Castillo-Alba, J.R. del, Vallverdú-Queralt, A., Escribano-Ferrer, E., Lamuela-Raventós, R.M., (2020). Health-promoting properties of oleocanthal and oleacein: Two secoiridoids from extra-virgin olive oil. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60: 2532–2548.
- Machado M, Felizardo C, Fernandes-Silva AA, Nunes FM, Barros A., (2013). Polyphenolic compounds, antioxidant activity and l-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. “Cobrançosa” under different irrigation regimes. *Food Research International*, 51: 412–421.
- Mafrica R, Piscopo A, De Bruno A, Poiana M., (2021). Effects of Climate on Fruit Growth and Development on Olive Oil Quality in Cultivar Carolea. *Agriculture*, 11: 147.
- Mailer, R. J., Ayton, J., Conlan, D., (2007). Influence of harvest timing on olive (*Olea europaea*) oil accumulation and fruit characteristics under Australian conditions. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5: 68-63.
- Mailer, R.J., Ayton, J., Graham, K., (2010). The influence of growing region, cultivar and harvest timing on the diversity of Australian olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87: 877–884.
- Mannina, L., Sobolev, A.P., (2011). High resolution NMR characterization of olive oils in terms of quality, authenticity and geographical origin. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 49: S3–S11.
- Martinez Suarez, J. M., (1973). Recientes estudios de la almazara experimental del instituto de la grasa. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 50: 325–330.
- Martin, H. H., (1939). The Kabyles of North Africa—: A Study in Mountain Adjustment. *Yearbook of the Association of Pacific Coast Geographers*, 5(1): 3-10.
- Martínez-Vidal, J.L., Garrido-Frenich, A., Escobar-García, M.A., Romero-González, R., (2007). LC–MS Determination of Sterols in Olive Oil. *Chroma*, 65: 695–699.
- Masella, P., Parenti, A., Spugnoli, P., Calamai, L. (2009). Influence of vertical centrifugation on extra virgin olive oil quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(11): 1137.
- Mateos, R., Domínguez, M.M., Espartero, J.L., Cert, A., (2003). Antioxidant effect of phenolic compounds, α -tocopherol, and other minor components in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7170–7175.

- Maymone, B., Battaglini, A., & Tiberio, M. (1961). Recherche sur la valeur nutritive du grignon d'olive. *Informations oléicoles internationales. Nouvelle Serie*, 17 : 65-98.
- Mele, M.A., Islam, M.Z., Kang, H.-M., Giuffrè, A.M., (2018). Pre-and post-harvest factors and their impact on oil composition and quality of olive fruit. *Emirates Journal of Food and Agriculture*: 592–603.
- Mendil M (2009) L'oléiculture : Expériences algériennes. *Filaha Innove.eds Magvet*, 4 :6-7.
- Mendil M, Sebri A (2006) L'olivier en Algérie. ITAF, Alger, Algérie : 99.
- Mínguez-Mosquera MI, Rejano-Navarro L, Gandul-Rojas B, Sanchez-Gomez AH, Garrido-Fernandez J., (1991). Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68: 332–336.
- Mínguez-Mosquera, M.I., Gandul-Rojas, B., Garrido-Fernandez, J., Gallardo-Guerrero, L., (1990). Pigments present in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67: 192–196.
- Mínguez-Mosquera, M.I., Hornero-Méndez, D., Pérez-Gálvez, A., (2008). Carotenoids and provitamin A in functional foods, in: *Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals*. CRC Press, Boca Raton, FL: 277–336.
- Miró-Casas, E., Covas, M.-I., Fitó, M., Farré-Albadalejo, M., Marrugat, J., de la Torre, R., (2003). Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. *Eur J Clin Nutr*, 57 : 186–190.
- Montedoro et al., (1989). Factors shaping the quality characteristics of olive oil. *Industrie Alimentari*, 25: 549-555.
- Moral, P. S., Méndez, M. V. R. (2006). Production of pomace olive oil. *Grasas y aceites*, 57(1): 47-55.
- Nigam, P., Bhatt, S., Misra, A., Chadha, D.S., Vaidya, M., Dasgupta, J., Pasha, Q.M., 2014. Effect of a 6-month intervention with cooking oils containing a high concentration of monounsaturated fatty acids (olive and canola oils) compared with control oil in male Asian Indians with nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes technology therapeutics*, 16: 255–261.
- Obied HK, Bedgood DR, Prenzler PD, Robards K., (2007). Chemical screening of olive biophenol extracts by hyphenated liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 603: 176–189.

- Ocakoglu, D., Tokatli, F., Ozen, B., Korel, F., (2009). Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*, 113: 401–410.
- Oliveras-López, M.J., Innocenti, M., Giaccherini, C., Ieri, F., Romani, A., Mulinacci, N., (2007). Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Talanta*, 73: 726–732.
- Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J. P., Guerere M., (2006). Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*, 97:382.
- Ouni, Y., Taamalli, A., Guerfel, M., Abdelly, C., Zarrouk, M., Flamini, G., (2012). The phenolic compounds and compositional quality of Chétoui virgin olive oil: Effect of altitude. *African Journal of Biotechnology*, 11:11842–11850.
- Owen, R. W, Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38: 647–659.
- Papadopoulos, G., Boskou, D., (1991). Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68: 669–671.
- Paraskeva, P., Diamadopoulos, E. (2006). Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology Biotechnology: International Research in Process, Environmental Clean Technology*, 81(9): 1475-1485.
- Pehrsson, P.R., Haytowitz, D.B., (2016). Food composition databases. Reference Module in Food Science. *Encyclopedia of Food and Health*:16–21.
- Pérez AG, León L, Pascual M, Romero-Segura C, Sánchez-Ortiz A, Rosa R de la, et al. (2014). Variability of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds in a Segregating Progeny from a Single Cross in *Olea europaea* L. and Sensory and Nutritional Quality Implications. *PLOS ONE*, 9: e92898.
- Pérez-Cano, F.J., Castell, M., (2016). Flavonoids, Inflammation and Immune System. *Nutrients*, 8 : 659.
- Piroddi, M., Albin, A., Fabiani, R., Giovannelli, L., Luceri, C., Natella, F., Rosignoli, P., Rossi, T., Taticchi, A., Servili, M., (2017). Nutrigenomics of extra-virgin olive oil: A review. *Biofactors*, 43: 17–41.

- Polari, J.J., Wang, S.C., (2019). Hammer mill sieve design impacts olive oil minor component composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121: 1900168.
- Polari, J.J., Wang, S.C., (2020). Comparative Effect of Hammer Mill Screen Size and Cell Wall-Degrading Enzymes During Olive Oil Extraction. *ACS Omega* 5, 6074–6081. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/985>.
- Rienzo, V. di, Sion, S., Taranto, F., D'Agostino, N., Montemurro, C., Fanelli, V., Sabetta, W., Roca, M. Mínguez, M. I. (2001). Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78 (2):133–138.
- Rodrigues, N., Casal, S., Peres, A.M., Baptista, P., Bento, A., Martín, H., Manzanera, M.C.A.-S., Pereira, J.A., (2018). Effect of olive trees density on the quality and composition of olive oil from cv. Arbequina. *Scientia Horticulturae*, 238: 222–233.
- Romero-Segura C, García-Rodríguez R, Sánchez-Ortiz A, Sanz C, Pérez AG., (2012). The role of olive α -glucosidase in shaping the phenolic profile of virgin olive oil. *Food Research International*, 45: 191–196.
- Rondanini D, Castro D, Searles P, Rousseaux M., (2014). Contrasting patterns of fatty acid composition and oil accumulation during fruit growth in several olive varieties and locations in a non-Mediterranean region. *European Journal of Agronomy*, 52: 237–246.
- Rotondi A, Bendini A, Cerretani L, Mari M, Lercker G, Toschi TG., (2004). Effect of Olive Ripening Degree on the Oxidative Stability and Organoleptic Properties of Cv. Nostrana di Brisighella Extra Virgin Olive Oil. *J Agric Food Chem*, 52: 3649–3654.
- Ryan, D., Robards, K., (1998). Critical Review. Phenolic compounds in olives. *Analyst*, 123: 31R-44R.
- Sacchi, R., Addeo, F., Paolillo, L., Giudicianni, I., (1991). Rapid $^1\text{H-NMR}$ determination of 1, 2 and 1, 3 diglycerides in virgin olive oils. *Italian Journal of Food Science (Italy)*.
- Salvador MD, Aranda F, Fregapane G. Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*. 2001, 73: 45–53.
- Schwingshackl, L., Hoffmann, G., (2014). Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids Health Dis*, 13: 154.
- Segura-Carretero, A., Menéndez-Menéndez, J., Fernández-Gutiérrez, A., (2010). Polyphenols in olive oil: the importance of phenolic compounds in the chemical composition of olive oil, in: *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Elsevier:167–175.

- Servili, M., 2014. The phenolic compounds: a commercial argument in the economic war to come on the quality of olive oil?. *OCL*, 21: D509.
- Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G., Morozzi, G., (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A, Food Science*, 1054: 113–127.
- Sevim, D., Koseo lu, O., Ozdemir, D. (2017). Determination of triacylglycerol composition of Ayvalık and Memecik olive oils during storage by chemometric methods. *Sakarya Üniversitesi fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21:1497-1504.
- Silenzi A, Giovannini C, Scazzocchio B, Varì R, D'Archivio M, Santangelo C, et al. (2020). Extra virgin olive oil polyphenols: Biological properties and antioxidant activity. *Pathology. Academic Press*: 225-233.
- Simopoulos, A.P., (2004). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food reviews international*, 20: 77–90.
- Singleton VL, Rossi JA., (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic*, 16: 144–158.
- Souilem, S., El-Abbassi, A., Kiai, H., Hafidi, A., Sayadi, S., Galanakis, C.M., (2017). Olive oil production sector: Environmental effects and sustainability challenges, in: *Olive Mill Waste*. Elsevier: 1–28.
- Spyros, A., Dais, P., (2000). Application of ³¹P NMR spectroscopy in food analysis. 1. Quantitative determination of the mono-and diglyceride composition of olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48: 802–805.
- Stefanouadaki, E., Kotsifaki, F., Koutsaftakis, A., (1999). Classification of virgin olive oils of the two major Cretan cultivars based on their fatty acid composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76: 623–626.
- Summerhill V, Karagodin V, Grechko A, Myasoedova V, Orekhov A., (2018). Vasculoprotective Role of Olive Oil Compounds via Modulation of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5: 188.
- Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M., (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90: 333–340.
- Terral, J. F., Alonso, N., Capdevila, R. B. I, Chatti, N., Fabre, L., Fiorentino, G., Marinval, P., Jordá, G. P., Pradat, B., Rovira, N., Alibert, P., (2004). Historical biogeography of olive

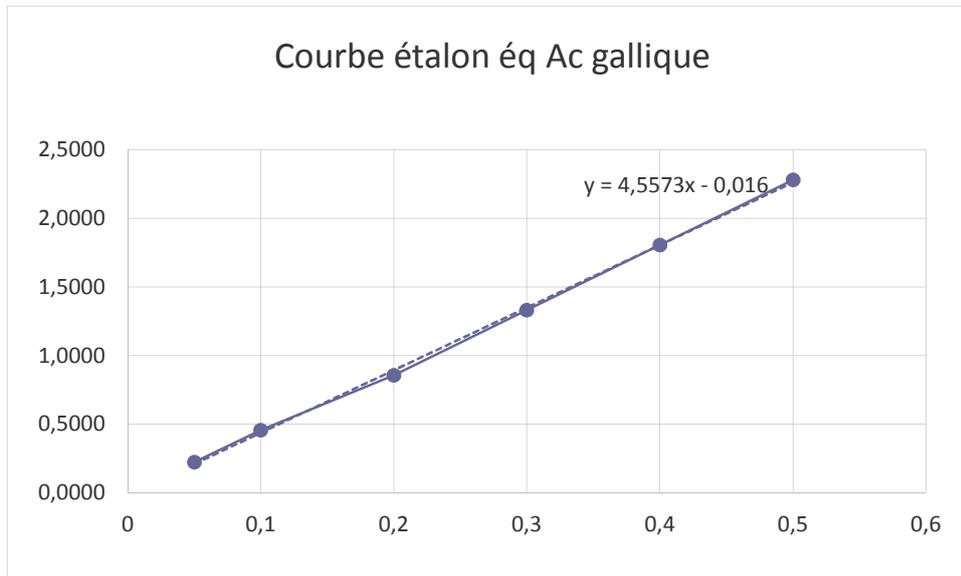
- domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *Journal of Biogeography*, 31: 63-77.
- Terral, J.-F., Durand, A., Newton, C., Ivorra, S., (2009). Archéo-biologie de la domestication de l'olivier en Méditerranée occidentale: de la remise en cause d'une histoire dogmatique à la révélation de son irrigation médiévale. *Études héraultaises*, 233 : 13–25.
- Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., La Guardia, M., (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews*, 18: 98–112.
- Tsagaraki, E., Lazarides, H. N., Petrotos, K. B. (2007). Olive mill waste water treatment. In utilization of by-products and treatment of waste in the food industry. Springer: 133-157.
- Tura D, Gigliotti C, Pedò S, Failla O, Bassi D, Serraiocco A., (2007) Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea* L.) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*, 112: 108–119.
- Uceda, M., Beltrán, G., & Jiménez, A. (2006). Olive oil extraction and quality. *Grasas y aceites*, 57(1): 25-31.
- Uceda, M., Frias, M. L., (1992). Ruano, M.T. Diferenciacion de variedades de aceituna por la composición acidica de su aceite, Book of abstracts; International Symposium on Olive Growing, ISHS. *Acta Horticulturae*, 286: 35–38.
- Valenzuela R, Videla LA., (2020). Impact of the co-administration of N-3 fatty acids and olive oil components in preclinical nonalcoholic fatty liver disease models: a mechanistic view. *Nutrients*, 12: 499.
- Van de Paer, C., Bouchez, O., Besnard, G., (2018). Prospects on the evolutionary mitogenomics of plants: A case study on the olive family (Oleaceae). *Molecular Ecology Resources*, 18: 407–423.
- Veneziani, G., Esposito, S., Taticchi, A., Urbani, S., Selvaggini, R., Sordini, B., Servili, M., (2018). Characterization of phenolic and volatile composition of extra virgin olive oil extracted from six Italian cultivars using a cooling treatment of olive paste. *LWT*, 87: 523–528.
- Visioli, F., Poli, A., Gall, C., (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal research reviews*, 22: 65–75.

- Wahrburg, U., Kratz, M., Cullen, P., (2002). Mediterranean diet, olive oil and health. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 698–705.
- Wallander, E., Albert, V.A., (2000). Phylogeny and classification of Oleaceae based on rps16 and trnL-F sequence data. *American Journal of Botany*, 87: 1827–1841.
- Li, X., & Wang, S. C. (2018). Shelf life of extra virgin olive oil and its prediction models. *Journal of Food Quality*, 2018.
- Yorulmaz, A., Erinc, H., Tekin, A., (2013). Changes in Olive and Olive Oil Characteristics During Maturation. *J Am Oil Chem Soc* 90: 647–658.
- Yorulmaz, A., Yavuz, H., Tekin, A., (2014). Characterization of Turkish olive oils by triacylglycerol structures and sterol profiles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91: 2077–2090.
- Youssef, N.B., Zarrouk, W., Carrasco-Pancorbo, A., Ouni, Y., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., Daoud, D., Zarrouk, M., (2010). Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chétoui virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 199–204.
- Zaringhalami S., Ebrahimi M., Piravi Vanak Z., Ganjloo, A. (2015) Effects of cultivar and ripening stage of Iranian olive fruit on bioactive compounds and antioxidant activity of its virgin oil. *International Food research Journal*, 22 (5):1961-1967.
- Zhou, L.L., Li, C., Weng, X.C., Fang, X.M., Gu, Z.H., (2015). ¹⁹F NMR method for the determination of quality of virgin olive oil. *Grasas y Aceites*, 66 : e106–e106.

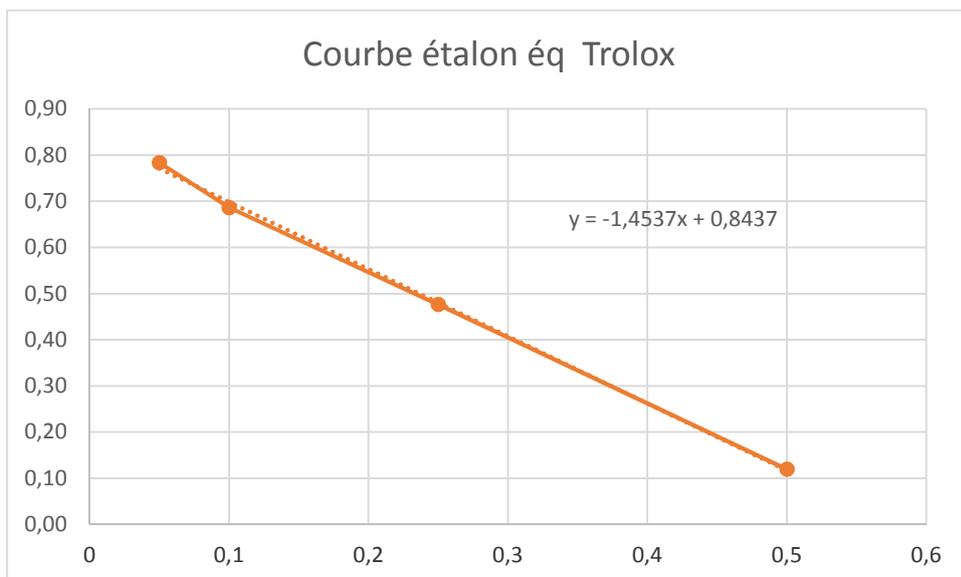
Annexes

Annexes

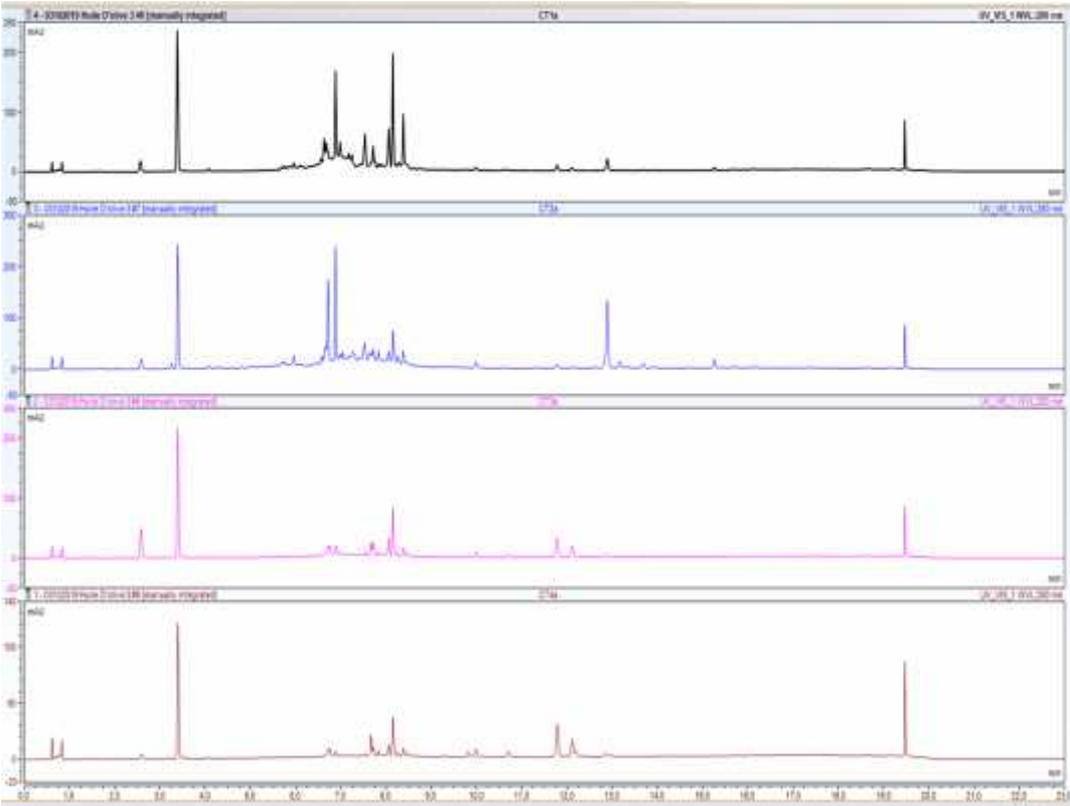
Annexe 1 : Courbe étalon d'acide gallique des phénols totaux.



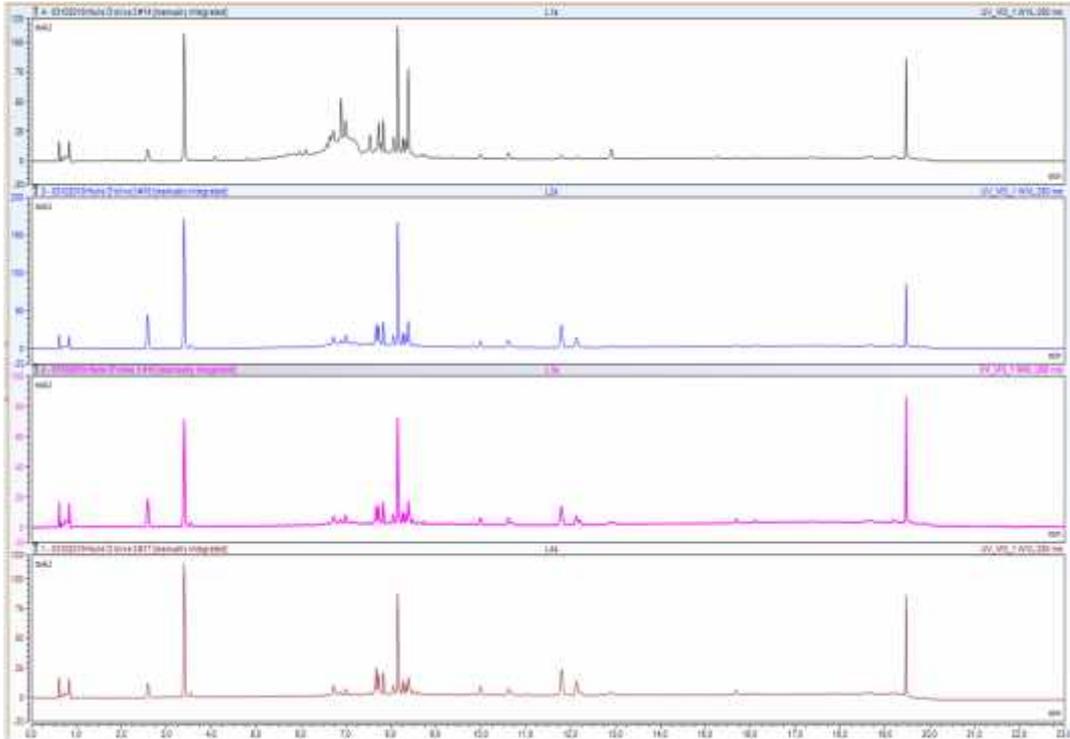
Annexe 2 : courbe étalon du Trolox pour l'activité antiradicalaire DPPH.



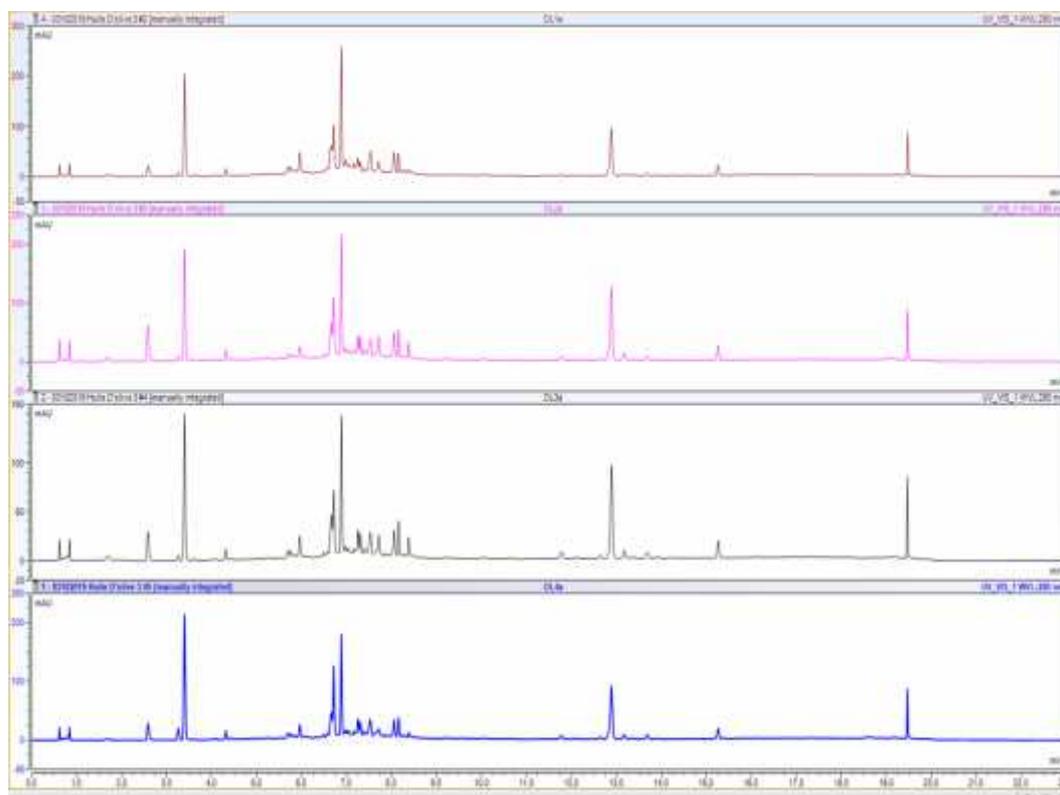
Annexe 3 : Chromatogrammes UHPLC pour les extraits phénoliques d'huile d'olive vierge du cultivar *Chemlal*.



Annexe 4 : Chromatogrammes UHPLC pour les extraits phénoliques d'huile d'olive vierge du cultivar *Limli*.



Annexe 5 : Chromatogrammes UHPLC pour les extraits phénoliques d'huile d'olive vierge de la variété *Oléastre*.



Annexe 6 : Matrice de corrélation de Pearson des composés sécoiridoïdes et pourcentage d'inhibition (DPPH%).

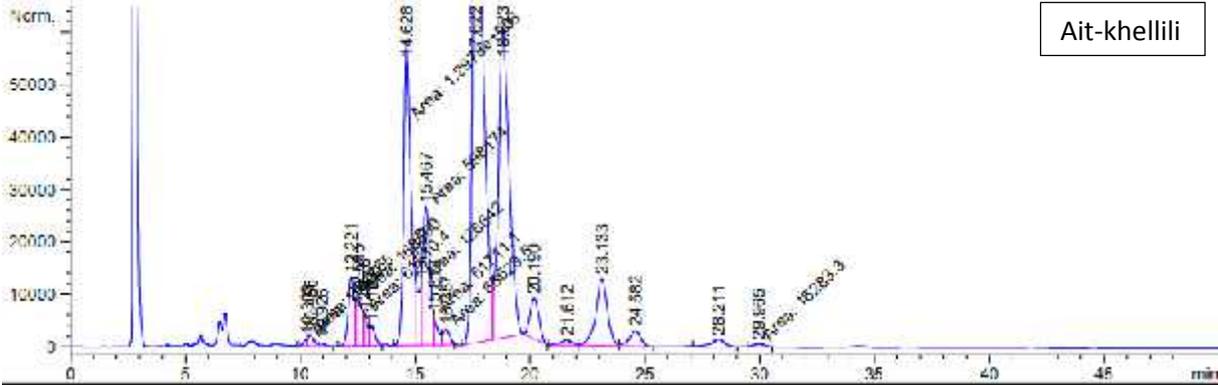
	DPPH%	OA	LA	OLEO	OLEA	MOA	EA	TSEC
OA	0,793							
LA	0,869	0,933						
OLEO	-0,583	-0,557	-0,655					
OLEA	0,653	0,656	0,612	-0,099				
MOA	-0,549	-0,506	-0,673	0,86	-0,126			
EA	0,150	0,035	-0,031	0,516	0,175	0,586		
TSEC	0,777	0,877	0,840	-0,227	0,714	-0,176	0,445	
TBP	0,722	0,838	0,814	-0,206	0,650	-0,136	0,429	0,981

Le test de corrélation a été effectué avec un niveau de confiance de 95%. OA : Oleuropéine Aglycone, LA : Ligstroside Aglycone, OLEA : Oleocanthal, OLEA : Oleacein, MOA : Méthyl oleuropein aglycon, EA : Acide Elenolic, TSEC : Total secoiridoïdes, TBP : Total Biophenols HPLC.

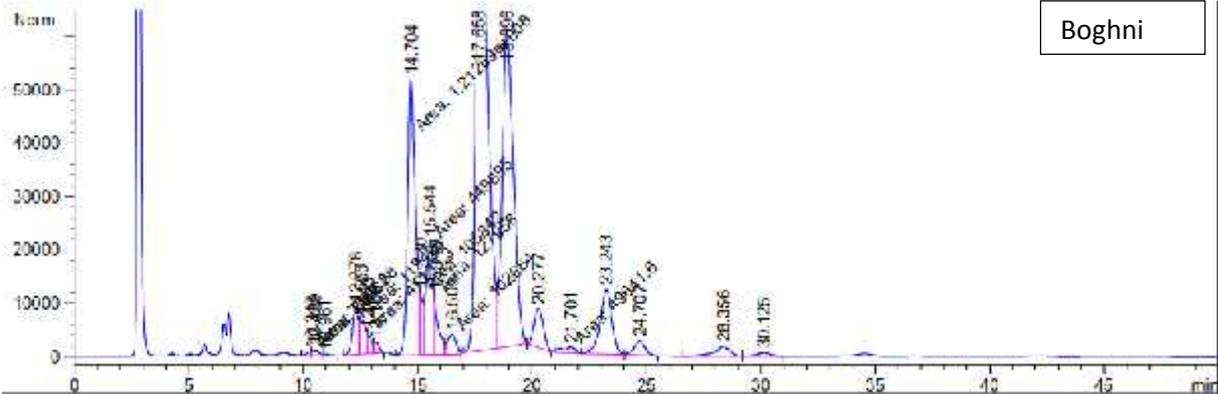
Annexe 7: X-loadings des différentes variables de l'huile d'olive selon les composantes principales 1 et 2.

	Variable	PC1	PC2
1	Acidité	-0,079	0,292
2	Indice de Peroxyde	0,078	0,215
3	K232	-0,211	-0,063
4	K270	-0,169	-0,158
5	Chlorophylles	-0,063	-0,316
6	Caroténoïdes	-0,129	-0,215
7	phénols Totaux	0,212	-0,07
8	Oleuropein aglycone	0,232	-0,185
9	Ligstroside aglycone	0,251	-0,18
10	Oléocanthal	-0,295	-0,028
11	Oléacein	0,088	-0,291
12	Méthyl oleuropein aglycon	-0,271	-0,025
13	acide élenolique	-0,154	-0,222
14	sécoiridoïdes Totaux	0,13	-0,275
15	Biophenols HPLC	0,122	-0,26
16	DPPH%	0,206	-0,245
17	C16 : 0	-0,132	-0,278
18	C16 : 1	0,144	-0,144
19	C17 : 0	-0,277	0,029
20	C18 : 0	-0,197	-0,113
21	C18 : 1	0,223	0,211
22	C18 : 2	-0,24	0,014
23	C18 : 3	0,107	0,141
24	C20 : 0	0,003	0,113
25	C20 : 1	-0,134	0,156
26	C22 : 0	0,023	0,216
27	C18:1/C18:2	0,254	0,027
28	MUFA/SFA	0,224	0,144
29	MUFA/PUFA	0,246	0,015

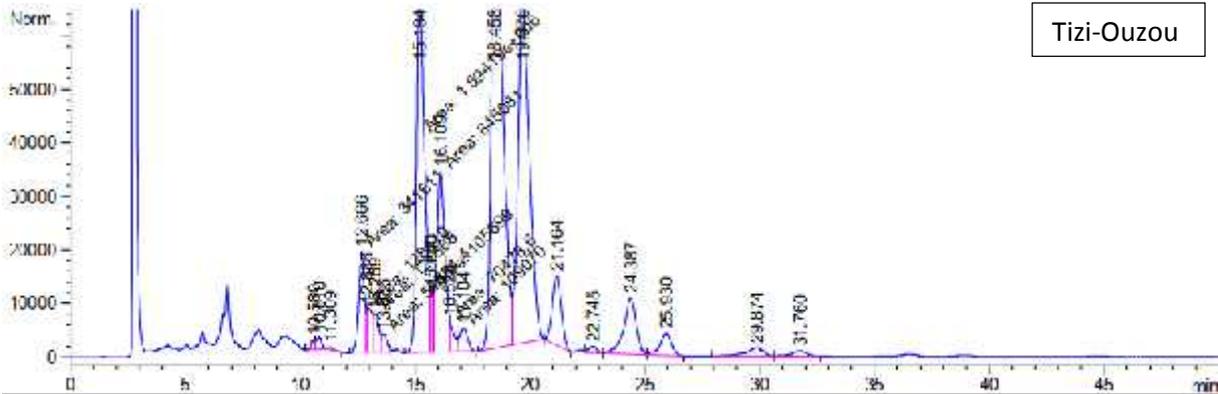
Annexe 8: Chromatographes de la composition en triglycérides des huiles d'Azeradj issues des différentes localités.



Ait-khellili

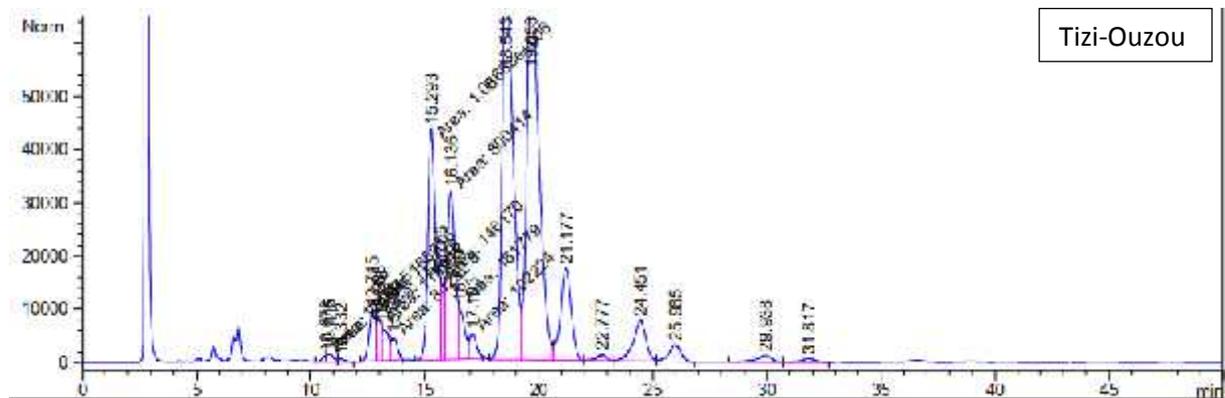
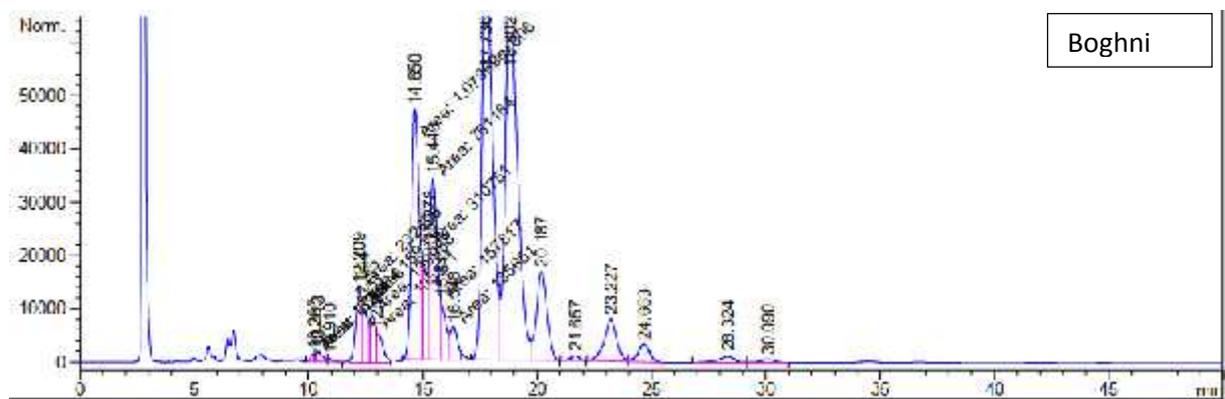
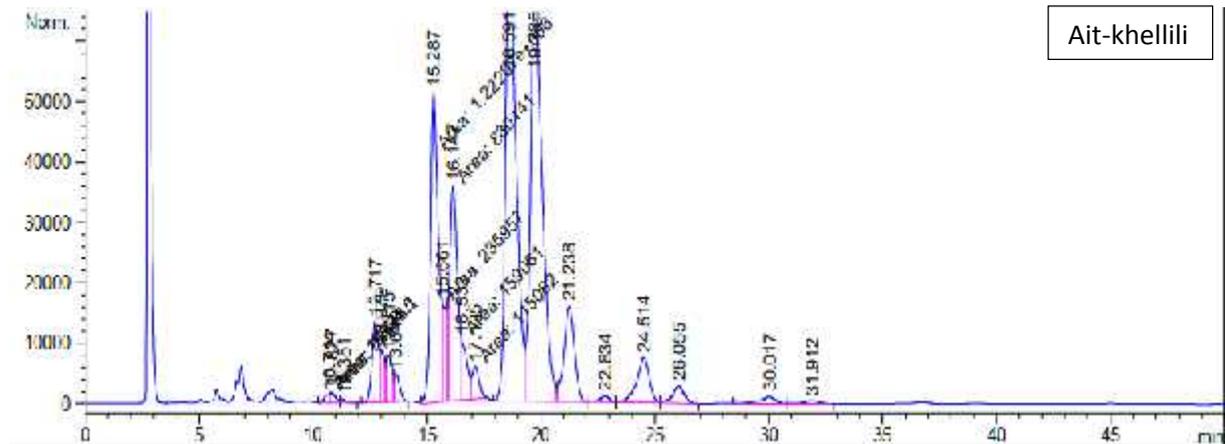


Boghni

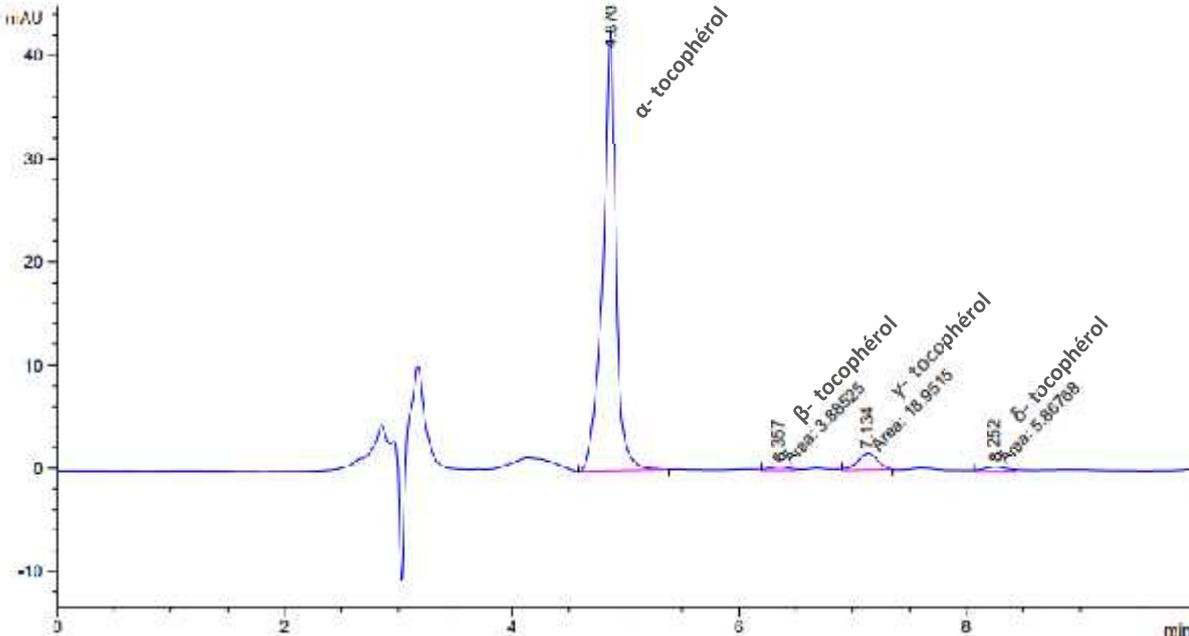


Tizi-Ouzou

Annexe 9: Chromatographes de la composition en triglycérides des huiles de *Chemlal* issues des différentes localités.



Annexe 10: Chromatographe HPLC des tocophérols individuels de l'huile d'olive.



Locations Effects on the Quality of *Chemlal* and *Azeradj* Olives Grown in Algeria

Massinissa Faci¹ · Mariam Hedjal¹ · Malika Douzane² · Didar Sevim³ · Oya Köseoğlu³ · Abderezak Tamendjari⁴ 

Received: 18 January 2021 / Revised: 9 March 2021 / Accepted: 24 March 2021
© 2021 AOCS

Abstract This work aimed to investigate the combined effect of harvest time and crop altitude on the fruit and oil quality of two autochthonous Algerian olive cultivars, *Chemlal* and *Azeradj*. Fruit morphological characteristics, oil quality parameters, fatty acids and triacylglycerols composition, pigments, tocopherols and oxidative stability were determined. Olives were harvested at four different ripening stages in orchards located at 110, 320 and 490 m altitude, in the olive-growing region of Kabylia, northern Algeria. Results showed a good discrimination between varieties, which were characterized by specific triacylglycerols and fatty acids profile. Different chemometric analyses carried out on the oil data highlighted the strong influence of variety in relation to the factors studied. Moreover, Principal Component Analysis performed on both fatty acids and triacylglycerols profile allowed correlating the distinct composition with the different varietal sensitivities to changes in crop attitude and ripening stage. Tocopherols showed a remarkable decrease with the ripening progress. Oxidative stability was positively correlated with variations in tocopherols and monounsaturated fatty acids during maturation and altitude changes.

Keywords Algerian cultivars · Altitude · Harvest time · Fatty acids · Tocopherols · Triacylglycerols

J Am Oil Chem Soc (2021).

Introduction

The olive oil obtained from the fruits of *Olea europaea* L. is known as one of the main ingredients of the traditional Mediterranean diet and is considered as being responsible for the well-being of local populations (Cicerale et al., 2009). In addition to a high-energy value in food intake, it provides an abundant resource of monounsaturated fatty acids, which confers a multitude of benefits to human health (Covas et al., 2009). The main biological effect of olive oil has been attributed to the diversity of its minor fraction (Beltrán et al., 2010), which involves a mixture of different amounts of vitamins, phytosterols, and polyphenols, characterized as bioactive compounds responsible for the sensory quality and oxidative stability of olive oil (Cicerale et al., 2009). However, the composition and concentration of these different components of olive oil appear to be particularly sensitive to the variations of agronomic, technological, and climatic factors (Dabbou et al., 2009; Desouky et al., 2009).

Olive production in the world is mainly located in the traditional olive-growing area of the Mediterranean basin, which in numerous regions is characterized by mountainous and irregular relief (Terral et al., 2004). These particular conditions make it difficult to determine the optimum harvest date and olive oil quality in those localities. As far as Algeria is concerned, the largest part of olive oil production is concentrated in the mountainous regions of Kabylia

✉ Abderezak Tamendjari
abderezakt@yahoo.fr

¹ Department of Biological Sciences, Mouloud Mammeri University of Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, 15000, Algeria

² Agri-Food Technologies Research Division, National Institute of Agronomic Research of Algeria, El Harrach, Algiers, 16004, Algeria

³ Food Technology Department, Olive Research Institute, Bornova, Izmir, 35100, Turkey

⁴ Laboratory of Applied Biochemistry, Faculty of Natural and Life Sciences, University of Bejaia, Bejaia, 06000, Algeria

(Tizi-Ouzou, Béjaïa, Bouira), which represents more than 50% of the national olive-growing surface (di Rienzo et al., 2018). This region is known for its traditional olive production and crop based on historical heritage and characterized by endemic olive varieties such as the *Chemlal* and *Azeradj* cultivars (Boucheffa et al., 2019). The two varieties represent respectively about 40% and 10% of the olive cultivation area in this country. Besides, these two cultivars are generally grown together in Kabylia in order to pollinate the male-sterile trees of the *Chemlal* variety (Terral et al., 2004).

Based on what has been said so far, the main objective of the present study is to determine the effect of the harvest time and crop altitude on the variation of olives pomology, antioxidant proprieties, and the quality of olive oil obtained from two endemic Algerian varieties: *Chemlal* and *Azeradj*. This work is conducted using the chromatography technique in the determination of the tocopherols, fatty acids, and triacylglycerols composition of the varieties under scrutiny, a technique commonly used in the molecular characterization of olive oil.

Materials and Methods

Fruit Harvest

The research was conducted during the crop season of 2017. The samples were harvested from two endemic cultivars (*Chemlal* and *Azeradj*), known as predominant varieties grown in Algeria. Following the method of the International Olive Council (IOC) (2011) for olive sampling, about 10 kg of fruits, from randomly chosen olive trees with high fruit load for each cultivar, were hand-picked every 10 days from November 25 to December 25, in commercial orchards where the same cultural practices were applied. The orchards are located at different altitudes (110, 320 and 490 m) in the olive-growing area: Tizi-Ouzou (T); Boghni (B); Ait-khellili (A). The 24 samples were coded as follows: The first letter label the varieties (*Chemlal* (C), *Azeradj* (A)), the second the orchard locations (Tizi-Ouzou (T); Boghni (B); Ait-khellili (A)), the numbers label the harvest dates 25/11/2017 (1); 05/12/2017 (2); 15/12/2017 (3); 25/12/2017(4)). The main characteristics of the samples and their geographic origin are displayed in Table 1.

Oil Extraction

The oil was extracted during the first 24 hours following the harvest day by using a mini oil mill (S.I.O.L. 20,240 GHISONACCIA, France) equipped with a hammer

Table 1. Sampling information and labeling^a

Cultivars	Harvest date	Locations	Geographic and climatic information				Annual total rainfall	Annual mean temperature
			Altitude	Latitude	Exposure	Crop system		
<i>Chemlal</i> (C)	25/11/2017 (1)	Tizi-Ouzou (T)	110 m	36°42' N	South	Traditional rain-fed regime	689.0 mm	19.7 °C
	05/12/2017 (2)	Boghni (B)	320 m	36°40' N	South			
<i>Azeradj</i> (A)	15/12/2017 (3)	Ait-Khellili (A)	490 m	36°32' N	South-East			
	25/12/2017 (4)							

^aThe 24 samples were coded by 02 letters and a number as follows: The first letter designates the varieties (*Chemlal* (C), *Azeradj* (A)), the second the locations of the orchards (Tizi-Ouzou (T); Boghni (B); Ait-khellili (A)), the numbers indicate the harvest date (11.25.2017 (1); 05.12.2017 (2); 15.12.2017 (3); 25/12 / 2017 (4)).

crusher, a malaxer, and a two-phase centrifugation system. The oil was extracted without adding any water, and the paste was mixed for 30 min at room temperature. Once filtered, the extracted oil was stored in dark glass bottles at 4 °C until its analysis.

Maturity Index

After each harvest campaign, the maturity of the olive fruits was determined following the method suggested by the IOC (International Olive Council, 2011). The method was based on the coloring of the epicarp and the mesocarp of the olive fruit during the maturity process.

Olive Parameters

The morphological characterization of the drupe for each cultivar was evaluated with the use of 40 fresh fruits and their stones. Based on the method developed by the International Olive Council (1997), four characters, including fruit weight (FW), stone weight (SW), Pulp/stone (P/S), and Pulp percentage (P%) were determined. The water content of the fruit was determined following the method suggested by IOC (2011). More precisely, 70 g of fresh olives was crushed using a mortar and pestle, and the paste was dried in an oven at 103 ± 2 °C. The samples were checked regularly until a constant weight was obtained.

Oil Quality Indices

The peroxide value, free fatty acids (FFA), and the specific extinction K232 (conjugated dienes) and K270 (conjugated trienes) values were determined according to the International Organization for standardization procedures (ISO) (ISO, 2007, 2009, 2011), respectively.

Fatty Acids Composition

The fatty acid (FA) composition was established using the method of analysis described in Regulation 2568/91 of the European Union Commission. (1991). Analyses of fatty acid methyl esters were carried out using a Chrompack CP 9002 gas chromatograph, equipped with a flame ionization detector (FID). About 0.8 μ L was injected with a split GC mode through Cp-Sil 88 CB (5%Phenyl+95%dimethylpolysiloxane) capillary column characterized by 0.32 mm internal diameter and 0.25 μ m film thickness. Oven, injector, and FID temperatures were set at 200, 250, and 280 °C, respectively.

Triacylglycerols Determination

The chromatographic analysis was performed following the method displayed in regulation EEC/2568/91 (European

Commission, 1991). In this respect, 0.5 g of olive oil was diluted in 10 mL acetone(w/v), and 0.5 μ L of the solution was injected into a high-performance liquid chromatography (HPLC) system (Agilent 1200) equipped with an RP-18 column (Merck, Germany; 250×4 mm i.d. \times 4 μ m). The mobile phase used was an isocratic gradient of Acetone/Acetonitrile (63.6: 36.4, v/v) with a 1.2 mL min⁻¹ flow rate submitted to a 2-bar pressure and a temperature of 35 °C.

Pigment Content

The chlorophyll and carotenoid contents were measured following the method developed by Minguéz et al. (1991). The oil dissolved in cyclohexane was analyzed with a spectrophotometer apparatus at 670 and 470 nm in order to determine the concentration of chlorophylls and carotenoids, respectively.

Tocopherols Analysis

The tocopherol composition was determined by means of the HPLC technique put forward by Köseoğlu et al. (2016). The analysis was performed using an analytical HPLC system (Agilent 1100) equipped with a μ -porasil column (250×4.6 mm i.d. \times 5 μ m). The injection volume of 20 μ L was eluted in hexane/2-propanol mobile phase (99:1, v/v) and 25 °C temperature, with a flow rate of 1 mL min⁻¹. The UV detector was set to 292 nm wavelength, and the results were expressed in mg of tocopherol per kilogram of oil.

Oxidative Stability

The oxidative stability analyses were measured using Rancimat 743 (Metrohm Ltd., Herisau, Sweden) according to the method described by Tura et al. (2007). Oil sample, 4 g, was subjected continuously to the airflow of 20 L hour⁻¹ and temperature of 120 °C. The results were expressed as induction time in hours (h).

Statistical Analysis

Chemical data were analyzed with MINITAB 19 statistical software, using ANOVA in order to evaluate the effect of harvest time, altitude, and cultivars. The significance of differences (<0.05) between means was determined by one-way ANOVA, using the LSD test. Principal component analysis (PCA) was carried out on the oil sample, taking both fatty acids and triacylglycerols composition as discriminate variables. In order to understand and estimate the mean effects of each factor and the possible interactions between them, the data analysis was reinforced by a general

Table 2 Morphological and fruit characteristics of Chemlal and Azeradj cultivars^a

Altitude	Samples	Maturity index	Fruit weight (g)	Pulp/stone ratio	Pulp (%)	Dry weight (%)	Dry weight (g)
110 m	CT1	2.71 ± 0.04a;v	1.72 ± 0.25a;v	3.66 ± 0.48a;v	78.31 ± 2.20a;v	43.89 ± 0.38b;v	0.75 ± 0.12a;v
	CT2	3.26 ± 0.01a;vw	2.04 ± 0.46a;v	4.28 ± 0.51a;v	80.86 ± 1.98a;v	38.78 ± 1.85b;vw	0.79 ± 0.18a;w
	CT3	3.69 ± 0.16a;x	2.08 ± 0.49a;v	4.10 ± 0.56a;v	80.12 ± 2.52a;v	43.32 ± 1.51b;x	0.9 ± 0.21a;w
	CT4	4.05 ± 0.12a;x	1.99 ± 0.36a;vw	4.43 ± 0.62a;w	81.33 ± 2.28a;w	52.80 ± 0.27b;x	1.04 ± 0.19a;x
	AT1	1.75 ± 0.03a;v	3.83 ± 0.44a;v	6.48 ± 0.83a;v	86.21 ± 4.78a;v	44.85 ± 3.76b;v	1.7 ± 0.36a;v
	AT2	2.39 ± 0.11a;vw	4.25 ± 0.40a;v	6.50 ± 0.40a;v	86.47 ± 2.06a;v	45.41 ± 0.19b;vw	1.95 ± 0.34a;w
	AT3	3.18 ± 0.01a;x	4.21 ± 0.37a;v	7.15 ± 0.60a;v	86.82 ± 2.01a;v	39.29 ± 0.41b;x	1.67 ± 0.43a;w
	AT4	3.92 ± 0.29a;x	4.18 ± 0.55a;w	6.45 ± 0.48a;w	86.44 ± 1.86a;v	52.25 ± 1.73b;x	2.19 ± 0.43a;x
320 m	CB1	3.41 ± 0.03a;v	1.57 ± 0.40b;v	2.88 ± 0.63b;v	73.58 ± 4.42b;v	50.90 ± 3.03a;v	0.79 ± 0.2a;v
	CB2	3.68 ± 0.14a;vw	1.67 ± 0.45b;v	2.93 ± 1.02b;v	72.61 ± 8.06b;v	57.91 ± 0.61a;vw	0.95 ± 0.26a;w
	CB3	3.80 ± 0.03a;x	2.07 ± 0.35b;v	3.16 ± 0.87b;v	74.66 ± 6.68b;v	48.08 ± 0.80a;x	1.01 ± 0.17a;w
	CB4	4.01 ± 0.01a;x	2.39 ± 0.42b;w	3.63 ± 0.56b;w	78.06 ± 3.10b;w	56.54 ± 3.21a;x	1.35 ± 0.24a;x
	AB1	1.73 ± 0.01a;v	2.77 ± 0.82b;v	3.22 ± 1.34b;v	75.42 ± 2.47b;v	50.24 ± 0.28a;v	1.4 ± 0.22a;v
	AB2	2.34 ± 0.08a;vw	3.02 ± 0.74b;v	3.53 ± 0.89b;v	77.75 ± 1.77b;v	59.49 ± 0.36a;vw	1.8 ± 0.23a;w
	AB3	2.56 ± 0.06a;x	3.08 ± 1.09b;v	4.20 ± 3.26b;v	80.56 ± 2.89b;v	51.65 ± 1.09a;x	1.6 ± 0.19a;w
	AB4	2.93 ± 0.01a;x	3.43 ± 0.83b;w	4.01 ± 0.78b;w	79.87 ± 1.42b;w	66.63 ± 1.13a;x	2.3 ± 0.36a;x
490 m	CA1	3.08 ± 0.06a;v	1.35 ± 0.22c;v	3.07 ± 0.45c;v	75.15 ± 2.63c;v	48.39 ± 0.50b;v	0.65 ± 0.11b;v
	CA2	3.35 ± 0.03a;vw	1.52 ± 0.33c;v	3.79 ± 0.95c;v	78.62 ± 2.87c;v	52.31 ± 1.52b;vw	0.8 ± 0.17b;w
	CA3	4.49 ± 0.03a;x	1.54 ± 0.30c;v	3.26 ± 0.91c;v	75.88 ± 3.27c;v	50.68 ± 0.46a;x	0.78 ± 0.15b;w
	CA4	5.32 ± 0.30a;x	1.45 ± 0.37c;w	3.32 ± 0.57c;w	76.43 ± 3.25c;w	51.40 ± 1.61a;x	0.75 ± 0.2b;x
	AA1	2.35 ± 0.00a;v	2.31 ± 0.53c;v	4.89 ± 0.86c;v	82.63 ± 2.71c;v	44.27 ± 0.22b;v	1.03 ± 0.32b;v
	AA2	2.52 ± 0.02a;vw	2.71 ± 0.65c;v	6.67 ± 1.70c;v	86.32 ± 3.11c;v	43.85 ± 3.88b;vw	1.19 ± 0.29b;w
	AA3	3.05 ± 0.01a;x	2.64 ± 0.59c;v	6.17 ± 1.88c;v	85.31 ± 3.04c;v	45.60 ± 0.45b;x	1.2 ± 0.27b;w
	AA4	3.87 ± 0.06a;x	2.74 ± 0.63c;w	6.92 ± 1.92c;w	86.77 ± 2.69c;w	46.69 ± 0.13b;x	1.28 ± 0.29b;x

^aMeans ± SD.

Different letters (a–c) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Altitude effect.

Different letters (v–x) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Harvest date effect.

linear model test, including a percentage contribution of the factors studied.

Results and Discussion

Maturity Index

The maturation indices were assessed after each harvest campaign, and the results obtained show a linear increase of the maturity index from November 25 to December 25 in both cultivars (Table 2). This visual phenomenon is due to changes in the pigmentation ratios of chlorophylls, carotenoids, and anthocyanins that occur inside the drupe during the maturation phases, generating a succession of olive colors ranging from green, purple to black (Roca and Minguez, 2001). Moreover, the fruits of the cv. *Chemlal* are characterized by superior ripeness degrees, in comparison with the cv. *Azeradj* variety and exceeding maturity index 4 (black stage) at the last harvest date, in the different

locations. A significant difference ($P = 0.00$) noticed among the two cultivars may suggest that the cv. *Chemlal* variety has an earlier maturity; for Baccouri et al. (2008), this dissimilarity confirms how the genetic traits influence the maturation process. Based on the data presented in Table 7, the change in elevation of the growing area appears to have no great impact on the ripening process of the two cultivars (5.43%), thus the influence of the varietal factor (36.64%) and the ripening process (45.18%) is most noticeable.

Olive Parameters

The statistical analysis of the morphological data has shown significant variations ($P \leq 0.05$) in the all fruit parameters, depending on the variety, altitude, and harvest period. The examination of the pomological measurements taken in the different growing areas (Table 2) revealed that olive trees grown at an altitude of 490 m produce olives with the lowest fresh and dry weight. The average weights

of the latter were 0.75 and 1.18 g at Ait-khellili orchard, which are the lowest values (mean of all harvest dates) recorded for *Chemlal* and *Azeradj*, respectively. In contrast, olives harvested at 110 m altitude were characterized by a high percentage of flesh and a pulp/stone ratio of 4.43 and 7.15, observed respectively in the cv. *Chemlal* and cv. *Azeradj*. Similar results were found by Di Vaio et al. (2013) on the endemic cultivars of southern Italy. Besides, the cv. *Azeradj* variety is distinguished by superior pomological characteristics, in comparison with the cv. *Chemlal* variety, especially in terms of fresh-fruit weight. It varies from 2.31 to 4.25 g and from 1.35 to 2.39 g, respectively. Al-Maaitah et al. (2009), observed similar results on the relation between fruit weight and fruit variety.

The data collected on the fruit development of cv. *Chemlal* and cv. *Azeradj* (Table 2) have shown a slight but significant increase in fruit weight and pulp to stone ratio and percentage of the pulp as ripening progressed. Furthermore, the fruit's dry weight increased by over 10% from 25 November to 25 December, accompanied particularly by a slight increase in the percentage of flesh, expanding by almost 5% compared to the initial harvest fruit. These observations are in agreement with the results found by Desouky et al. (2009) on the Turkish cultivars. However, the fruits in an advanced stage of ripening (CT4, AT4, CA4) tend to lose their fresh weights, and that is probably due to the loss of olive moisture and/or the fall of heavy fruits occurring in the final ripening phase (Mailer et al., 2007). On the other hand, the water percentage deduced from the results obtained from the fruit's dry matter has presented a high level $\geq 50\%$ in the early harvest date and tends to decrease in the fruits during the maturation period, as Yorulmaz et al. (2013) observed on the Edremit cultivar. Therefore, the increase in fruit fresh weight confirms that the olive continues to develop during the ripening process.

Oil Quality Parameters

The results obtained on the basic quality parameters, displayed in Table 3, on FFA, PV, and specific extinction (K232 and K270) are largely below the limits established by IOC (2015). Such positive values make it possible to classify all the samples in the category of extra virgin olive oil (EVOO). Moreover, the low values of these quality parameters can be very decisive in the determination of the olive oil's shelf life during storage (Fadda et al., 2012).

Our exploration of the data collected on the different altitudes and cultivars has revealed that the percentage of FFA is very low and close to 0.10% at the earliest harvest date and tends to accumulate slightly but continuously during the maturation process to reach the maximum level of

0.13–0.20% at the last harvest on November 25. The rise in FFA is probably linked to the exponential enzyme activity of lipases during the olive maturation process (Martinez Suarez, 1973). The variations of FFA have been revealed to be significant, and agree with the results of other authors (Bengana et al., 2013; Desouky et al., 2009). Besides, the oil obtained from the high hills of Ait-Khellili (CA and AA samples) has shown a high level of FFA, particularly in cv. *Azeradj* oil, with 0.20% free oleic acid. The altitude seems to enhance significantly ($P = 0.005$) lipid hydrolysis in both cultivars. On the contrary, Ouni et al. (2012) have revealed the inverse effect of altitude.

The values of K232 and K270 reflecting respectively the contents of primary oxidation products (conjugated diene) and secondary oxidation products (aldehydes, ketones) have shown a slight decrease during olive ripening in both cultivars, and their behavior is similar to the pattern observed by Baccouri et al. (2008) when they reach minimum values during the last harvest dates. However, those changes in the oxidative parameters are found insignificant in the olive oils we have analyzed. The ANOVA test has revealed a considerable ($P = 0.049$ and $P = 0.046$) effect of the altitude on the variation of both primary and secondary oxidation products, respectively. Indeed, the maximum values of the extinction coefficient K232 and K270 are recorded in the oils harvested from an orchard located in Ait-Khellili at about 490 m of altitude. Their values range between 1.50 and 0.21 nm for cv. *Chemlal*, and 1.49 and 0.16 nm for cv. *Azeradj*.

According to the results listed in Table 3, the PV increased significantly during the ripening period in both varieties. Dag et al. (2011) obtained similar results and affected this trend to the influence of the varietal trait. As observed on K₂₃₂ and K₂₇₀ parameters, the highest PV are recorded in the Ait-khellili orchard with levels ranging from 10.19 to 12.69 meq O₂/kg in *Chemlal* oils and from 7.91 to 13.33 meq O₂/kg in *Azeradj* oils, which are significantly ($P = 0.001$) higher than the values observed in oils produced at low altitude (110 m). Several studies (Freihat et al., 2008; Uceda et al., 1992) have linked the different trends observed in the PV indices to the modification of lipoxygenase activity occurring during the maturity process and the change in crop altitude.

Fatty Acids Composition

The main FA identified in the two varieties were myristic (14:0), palmitic (16:0), palmitoleic (16:1), margaric (17:0), stearic (18:0), oleic (18:1), linoleic (18:2), linolenic (18:3), arachidic (20:0), gadoleic (20:1), and behenic acids (22:0) (Table 4). In all EVOO samples, the FA profile was dominated by oleic acid with a percentage exceeding 61% of the total fatty acids. Moreover, oleic acid contents vary from

Table 3 Olive oil basic parameters^a

Altitude	Samples	FFA (%)	PV (meq O ₂ /Kg)	K232 (nm)	K270 (nm)
110 m	CT1	0.10 ± 0.02b;v	6.8 ± 0.06b;w	1.29 ± 0.69b;v	0.19 ± 0.09b;v
	CT2	0.11 ± 0.00b;w	7.88 ± 0.07b;vw	0.69 ± 0.37b;vw	0.11 ± 0.03b;vw
	CT3	0.11 ± 0.00b;wx	8.75 ± 0.11b;v	0.69 ± 0.21b;vw	0.12 ± 0.02b;w
	CT4	0.13 ± 0.02b;x	11.16 ± 0.83b;v	0.91 ± 0.47b;w	0.10 ± 0.02b;w
	AT1	0.10 ± 0.02b;v	7.5 ± 0.22b;w	1.16 ± 0.10b;v	0.11 ± 0.02b;v
	AT2	0.11 ± 0.00b;w	8.03 ± 0.16b;vw	0.79 ± 0.16b;vw	0.11 ± 0.01b;vw
	AT3	0.11 ± 0.00b;wx	8.39 ± 0.01b;v	0.77 ± 0.27b;vw	0.11 ± 0.03b;w
	AT4	0.13 ± 0.02b;x	9.43 ± 0.18b;v	0.79 ± 0.13b;w	0.10 ± 0.02b;w
320 m	CB1	0.10 ± 0.02a;v	9.92 ± 0.76b;w	1.11 ± 0.08ab;v	0.19 ± 0.03a;v
	CB2	0.11 ± 0.00a;w	11.87 ± 0.66b;vw	1.17 ± 0.15ab;vw	0.18 ± 0.02a;vw
	CB3	0.17 ± 0.00a;wx	12.37 ± 0.04b;v	1.18 ± 0.09ab;vw	0.15 ± 0.02a;w
	CB4	0.23 ± 0.01a;x	12.31 ± 0.16b;v	0.94 ± 0.00ab;w	0.13 ± 0.01a;w
	AB1	0.11 ± 0.00a;v	5.24 ± 0.36b;w	0.77 ± 0.05ab;v	0.14 ± 0.01a;v
	AB2	0.11 ± 0.00a;w	6.36 ± 0.08b;vw	1.00 ± 0.36ab;vw	0.15 ± 0.00a;vw
	AB3	0.15 ± 0.02a;wx	6.37 ± 0.08b;v	1.00 ± 0.33ab;vw	0.10 ± 0.04a;w
	AB4	0.17 ± 0.00a;x	8.48 ± 0.01b;v	0.78 ± 0.24ab;w	0.14 ± 0.00a;v
490 m	CA1	0.11 ± 0.00a;v	10.19 ± 0.21a;w	1.50 ± 0.52a;v	0.21 ± 0.05a;v
	CA2	0.14 ± 0.04a;w	11.22 ± 0.67a;vw	0.97 ± 0.00a;vw	0.15 ± 0.02a;vw
	CA3	0.14 ± 0.04a;wx	11.88 ± 0.15a;v	0.80 ± 0.16a;vw	0.14 ± 0.02a;w
	CA4	0.18 ± 0.06a;x	12.69 ± 0.92a;v	0.89 ± 0.29a;w	0.13 ± 0.03a;w
	AA1	0.11 ± 0.00a;v	7.91 ± 0.07a;w	1.33 ± 0.32a;v	0.16 ± 0.03a;v
	AA2	0.15 ± 0.02a;w	12.17 ± 0.59a;vw	1.49 ± 0.21a;vw	0.11 ± 0.07a;vw
	AA3	0.17 ± 0.00a;wx	11.69 ± 0.84a;v	1.40 ± 0.37a;vw	0.17 ± 0.01a;w
	AA4	0.20 ± 0.04a;x	13.33 ± 0.77a;vw	0.91 ± 0.23a;w	0.13 ± 0.06a;w

^aMeans ± SD.Different letters (a–c) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Altitude effect;Different letters (v–x) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Harvest date effect.

69.90% to 74.05% and from 61.14% to 67.67% in the cultivars *Azeradj* and *Chemlal*, respectively. Therefore, the oils of the *Azeradj* variety are richer in oleic acid, as reported by Douzane et al. (2012). During the fruit ripening, the amount of oleic acid behaves differently in the two cultivars. Indeed, its highest level was observed in the early harvest dates (D1, D2) in the cv. *Chemlal* and then it decreases continuously as the olives ripen. In the oil extracted from cv. *Azeradj*, the oleic acid content increases during the ripening process to reach the maximum level at the last harvests, but followed by a slight decrease in some advanced stages of ripening (AT4 and AA4). Similar trends were observed by Zaringhalami et al. (2015). The results listed in Table 4 revealed that the content of linoleic acid, another important FA in olive oil, increased during ripening stage in both cultivars. Thus, an opposite trend was observed in the oleic and linoleic acid content, which was confirmed by the decrease of their ratio during the olive maturation. This behavior was linked to changes in the activity of the enzyme oleate desaturase during olive ripening, which transforms oleic into linoleic acid (Baccouri et al., 2008; Gutiérrez et al., 1999).

The Palmitic acid content showed non-clear variation during the ripening stages, but a slight decrease can be noticed at the last harvest D4, probably due to a dilution factor (Baccouri et al., 2008). In contrast to the distribution of oleic acid in the two varieties, the palmitic and palmitoleic acid amounts were higher in the oils extracted from the cv. *Chemlal* than from cv. *Azeradj*, with variations in palmitic acid ranging from 13.12% to 17.92% and from 8.63% to 14.0%, respectively. Our results are in agreement with the finding of Boucheffa et al. (2019) on the Algerian cultivars. Several studies have indicated a strong influence of the genetic factor on the development of fatty acids (Baccouri et al., 2008; Mailer et al., 2007; Zaringhalami et al., 2015). Regarding the FA data, no clear variation was observed in the trend of oleic and palmitic acids in terms of altitude changes, however, the effect of this factor is definitely more apparent in the variations of the oleic/linoleic, MUFA/PUFA ratios. The two cultivars responded differently to the orchard elevation; thus, lowest values of the oleic/linoleic (varying from 4.99 to 6.69) and MUFA/PUFA (varying from 4.78 to 6.35) ratios were recorded at

Table 4 Fatty acids composition of olive oil sample^a

Altitude	Samples	14: 0	16: 16:0	16: 1	17: 0	18: 18:0	18: 18:1	18: 18:2	18: 3	20: 0	20: 1	22: 0	Oleic/ linoleic	MUFA/ PUFA	UFA/ SFA
110 m	CT1	0.14	17.55	2.19	0.12	2.1	67.05	9.12	0.68	0.46	0.39	0.14	7.35	7.11	3.87
	CT2	0	17.72	2.48	0.06	1.98	65.7	10.58	0.65	0.42	0.36	0.1	6.21	6.10	3.93
	CT3	0	17.92	2.53	0.09	1.93	64.25	11.58	0.7	0.44	0.47	0.11	5.55	5.48	3.88
	CT4	1.06	17.47	2.81	0.08	2.022	63.33	11.58	0.67	0.43	0.37	0.14	5.47	5.43	3.71
	AT1	0	10.51	0.98	0.29	2.46	69.9	13.76	0.87	0.53	0.5	0.15	5.08	4.88	6.17
	AT2	0	11.65	0.95	0.13	2.48	69.96	13	0.83	0.41	0.45	0.1	5.38	5.16	5.77
	AT3	0	11.03	1	0.1	2.41	72.72	10.87	0.81	0.38	0.44	0.19	6.69	6.35	6.08
	AT4	0.02	8.63	0.97	0.22	2.3	71.57	14.35	0.92	0.42	0.44	0.1	4.99	4.78	7.55
320 m	CB1	0.03	17.69	2.36	0.07	2.28	65.43	10.72	0.44	0.6	0.33	0.22	6.10	6.10	3.80
	CB2	0	13.12	2.66	0.09	1.7	67.67	13.4	0.59	0.32	0.32	0.09	5.05	5.05	5.52
	CB3	0	17.23	2.17	0.1	1.86	65.15	11.75	0.7	0.44	0.41	0.14	5.54	5.44	4.06
	CB4	0	17.26	2.68	0.09	2.16	61.14	15.12	0.65	0.42	0.32	0.11	4.04	4.07	3.99
	AB1	0	11.96	1.02	0.38	2.93	73.75	7.88	0.61	0.55	0.44	0.16	9.36	8.86	5.24
	AB2	0	14	0.95	0.07	2.66	73.43	7.76	0.49	0.43	0.33	0	9.46	9.06	4.83
	AB3	0	12.52	1.19	0.34	2.47	73.2	8.3	0.6	0.53	0.42	0.17	8.82	8.41	5.22
	AB4	0	8.76	1.04	0.1	2.52	74.05	11.68	0.9	0.4	0.4	0.1	6.34	6.00	7.41
490 m	CA1	0.14	17.05	3.39	0.08	2.32	66.1	9.72	0.52	0.36	0.29	0.13	6.80	6.81	3.99
	CA2	0	16.9	2.38	0.09	2.09	65.65	11.31	0.55	0.45	0.35	0.18	5.80	5.77	4.07
	CA3	0	17.66	2.57	0.09	1.86	63.7	12.66	0.55	0.36	0.32	0.12	5.03	5.04	3.97
	CA4	0.02	17.14	2.72	0.11	1.91	62.2	14.48	0.56	0.39	0.32	0.12	4.30	4.34	4.08
	AA1	0.01	11.23	1.15	8	2.52	72.77	10.41	0.94	0.39	0.35	0.09	6.99	6.54	3.85
	AA2	0	11.62	1.03	0.1	2.64	72.26	10.34	0.91	0.47	0.4	0.18	6.99	6.55	5.66
	AA3	0	11.93	0.98	0.38	2.93	73.31	8.63	0.64	0.57	0.42	0.17	8.49	8.06	5.26
	AA4	0.4	11.52	1.64	0.11	1.72	71.93	11.52	0.61	0.36	0.43	0.1	6.24	6.10	6.06

^a14:0, myristic; 16:0, palmitic; 16:1, palmitoleic; 17:0, margaric; 18:0, stearic; 18:1, oleic; 18:2, linoleic; 18:3, linolenic; 20:0, arachidic; 20:1, gadoleic; 22:0, behenic acids. MUFA/PUFA, monounsaturated fatty acids/poly-unsaturated fatty acids ratio; UFA/SFA, unsaturated fatty acids/saturated fatty acids ratio.

low altitude for the cv. *Azeradj*, where cv. *Chemlal* presented the highest levels of these ratios. This inverse trend may be linked to the interaction of the genetic factor with the location, which presents the highest percentage of contribution (almost 30%) on these ratios (Table 7). According to other studies (Freihat et al., 2008; Mailer et al., 2007), the FA composition of the monovarietal olive oil is largely influenced by growing conditions. Thanks to the richness of the *Azeradj* variety in oleic acid, the UFA/SFA ratio was found higher in this cultivar and particularly noticeable at the low altitude. The high level of UFA/SFA ratio was probably related to the activity of oleate desaturase that increases by high temperature present at the low altitude (Garce's et al., 1992).

Triacylglycerols Profile

The triacylglycerols (TAG) composition (%) is considered as a suitable marker for the classification of mono-varietal olive oil. As expected (Köseoğlu et al., 2016), triolein

(OOO) dominates the TAG profile in all olive oil samples (Table 5), with rates ranging respectively from 24% to 32% and from 31% to 42% of the total TAG in the *Chemlal* and *Azeradj* varieties. Besides, the highest triolein levels were obtained from olive trees grown at an altitude of 320 m. However, unimportant variations ($P = 0.169$) in triolein were found through the maturation changes, and this is probably caused by close maturity indexes (Sevi'm et al., 2017). Covas et al. (2009) sustain that a diet rich in MUFA is correlated with a low incidence of cardiovascular diseases. In fact, oleic acid has only one double bond, which makes olive oil more resistant to oxidation and contributes to its long shelf life compared to seed oils (Owen et al., 2000).

The second most important triglyceride peak recovered by the HPLC system corresponded to the mixture of SOL + POO triacylglycerols, which varied significantly ($P = 0.00$) in the two varieties, and oscillated from 19.24% to 24.59% and from 23.55% to 29.94%, respectively. As observed in the Spanish variety Cornicabra (Aranda

Table 5 Triacylglycerols profile of olive oil samples^a

110 m	320 m	490 m	LLL ^a	LOLn+ PoLL	PLLn	OLL	OLnO	PLL	POLn	LOO+ PLnP	PoOO
CT1	0.13 ± 0a;v	0.31 ± 0a;v	0.11 ± 0a;v	1.81 ± 0.03a;v	1.28 ± 0.08a;v	1.1 ± 0.21a;v	0.89 ± 0.04a;v	11.65 ± 0.14a;v	2.04 ± 0.65a;v		
CT2	0.21 ± 0.04a;vw	0.43 ± 0.01a;v	0.14 ± 0a;vw	2.8 ± 0.08a;v	1.41 ± 0.04ab;v	1.48 ± 0.03a;v	0.98 ± 0.02a;v	12.57 ± 0.03a;v	3.07 ± 0.62a;v		
CT3	0.29 ± 0.01a;w	0.43 ± 0.01a;v	0.07 ± 0a;vw	3.02 ± 0.22a;v	1.68 ± 0.07ab;v	2.03 ± 0.06a;v	1.1 ± 0.03a;v	12.14 ± 0.71a;v	2.87 ± 0.21a;v		
CT4	0.28 ± 0a;w	0.37 ± 0a;v	0.05 ± 0a;w	3.41 ± 0.35a;v	1.49 ± 0.33ab;v	1.82 ± 0a;v	0.87 ± 0a;v	13.56 ± 0.71a;v	2.75 ± 1a;v		
AT1	0.24 ± 0.01a;v	0.39 ± 0.02a;v	0.06 ± 0a;v	3.7 ± 0.28a;v	1.33 ± 0.01ab;v	1.25 ± 0a;v	0.52 ± 0.06a;v	16.99 ± 0.95a;v	1.21 ± 0.18a;v		
AT2	0.32 ± 0a;vw	0.42 ± 0a;v	0.05 ± 0a;vw	4.41 ± 0.02a;v	1.39 ± 0.07ab;v	1.14 ± 0.1a;v	0.51 ± 0a;v	18.56 ± 0.03a;v	1.29 ± 0.51a;v		
AT3	0.18 ± 0a;vw	0.37 ± 0a;v	0.04 ± 0a;vw	3.24 ± 0a;v	1.61 ± 0.15ab;v	0.73 ± 0.16a;v	0.53 ± 0a;v	16.99 ± 0.12a;v	1.25 ± 0.19a;v		
AT4	0.31 ± 0a;vw	0.42 ± 0a;v	0.05 ± 0a;w	4.16 ± 0.04a;v	1.5 ± 0.12ab;v	1.12 ± 0.03a;v	0.54 ± 0.05a;v	18.41 ± 0.06a;v	1.21 ± 0.5a;v		
CB1	0.18 ± 0.05b;v	0.39 ± 0.03b;v	0.1 ± 0.01a;v	2.53 ± 0.01b;v	1.74 ± 0.01b;v	1.6 ± 0.11a;v	1.03 ± 0.18a;v	12.27 ± 0.77b;v	2.88 ± 0.69a;v		
CB2	0.11 ± 0.03b;vw	0.29 ± 0.03b;v	0.08 ± 0a;vw	1.9 ± 0.01b;v	1.33 ± 0.08b;v	1.01 ± 0.13a;v	0.72 ± 0.17a;v	12.44 ± 0.21b;v	1.73 ± 0.24a;v		
CB3	0.23 ± 0b;vw	0.46 ± 0b;v	0.10 ± 0a;vw	3.18 ± 0.21b;v	1.68 ± 0.02b;v	1.69 ± 0.05a;v	0.9 ± 0.05a;v	14.13 ± 0.06b;v	2.04 ± 0.58a;v		
CB4	0.37 ± 0.01b;w	0.3 ± 0.01b;v	0.02 ± 0a;w	4.1 ± 0b;v	1.65 ± 0.23b;v	1.97 ± 0.07a;v	0.89 ± 0.03a;v	15.1 ± 0.9b;v	1.76 ± 0.15a;v		
AB1	0.15 ± 0.02b;v	0.44 ± 0.02b;v	0.11 ± 0a;v	3.2 ± 0.02b;v	1.28 ± 0.21b;v	0.94 ± 0.18a;v	0.53 ± 0.01a;v	14.75 ± 0.57b;v	2.27 ± 0.82a;v		
AB2	0.09 ± 0.02b;vw	0.22 ± 0.02b;v	0.05 ± 0a;vw	1.73 ± 0b;v	1.16 ± 0.04b;v	0.5 ± 0.03a;v	0.39 ± 0.01a;v	12.7 ± 0.26b;v	1.58 ± 0.01a;v		
AB3	0.09 ± 0.01b;vw	0.23 ± 0.01b;v	0.05 ± 0a;vw	1.52 ± 0.21b;v	1.26 ± 0.13b;v	0.59 ± 0.11a;v	0.4 ± 0.01a;v	12.94 ± 0.1b;v	1.46 ± 0.36a;v		
AB4	0.09 ± 0b;w	0.24 ± 0.01b;v	0.05 ± 0a;v	1.86 ± 0.01b;v	1.31 ± 0.04b;v	0.59 ± 0.18a;v	0.43 ± 0.05a;v	12.9 ± 0.89b;v	1.87 ± 0.97a;v		
CA1	0.2 ± 0.01ab;v	0.37 ± 0.03a;v	0.12 ± 0.01a;v	2.91 ± 0.02ab;v	1.22 ± 0.04a;v	1.57 ± 0.02a;v	0.86 ± 0.01a;v	13.09 ± 0.11ab;v	2.81 ± 0.38a;v		
CA2	0.2 ± 0.01ab;vw	0.35 ± 0a;v	0.04 ± 0.01a;vw	3.21 ± 0.11ab;v	1.62 ± 0.11ab;v	1.93 ± 0.04a;v	0.81 ± 0.03a;v	14.38 ± 0.28ab;v	2.34 ± 0.64a;v		
CA3	0.35 ± 0ab;vw	0.37 ± 0a;v	0.03 ± 0a;vw	4.22 ± 0.08ab;v	1.72 ± 0.01a;v	2.39 ± 0.07a;v	0.79 ± 0.3a;v	14.93 ± 0.13ab;v	2.22 ± 0.56a;v		
CA4	0.44 ± 0.01ab;w	0.36 ± 0.01a;v	0.04 ± 0.01a;w	4.28 ± 0.21ab;v	1.78 ± 0.04a;v	2.15 ± 0.13a;v	1.13 ± 0.1a;v	15.58 ± 0.79ab;v	2.14 ± 0.18a;v		
AA1	0.17 ± 0ab;v	0.43 ± 0a;v	0.13 ± 0a;v	2.7 ± 0ab;v	1.9 ± 0a;v	0.7 ± 0a;v	0.67 ± 0a;v	14.64 ± 0ab;v	1.43 ± 0a;v		
AA2	0.17 ± 0.02ab;vw	0.39 ± 0.01a;v	0.12 ± 0a;vw	2.72 ± 0.06ab;v	1.81 ± 0.24a;v	0.58 ± 0.19a;v	0.62 ± 0.01a;v	14.47 ± 0.06ab;v	1.32 ± 0.33a;v		
AA3	0.1 ± 0.01ab;vw	0.30 ± 0.11a;v	0.08 ± 0.04a;vw	1.9 ± 0.74ab;v	1.4 ± 0.07a;v	0.7 ± 0.06a;v	0.51 ± 0.16a;v	12.9 ± 0.16ab;v	1.84 ± 0.18a;v		
AA4	0.15 ± 0.02ab;w	0.44 ± 0.02a;v	0.11 ± 0a;w	3.2 ± 0.02ab;v	1.28 ± 0.21a;v	0.94 ± 0.18a;v	0.53 ± 0.01a;v	14.75 ± 0.57ab;v	2.27 ± 0.82a;v		
Samples	PLO + SLL	PoOP	PLP	OOO	SLO + POO	POP	PPP	SOO	POS	SLS	
110 m	CT1	8.4 ± 0.36a;v	1.75 ± 0a;v	1.11 ± 0a;v	27.58 ± 0.04a;v	29.94 ± 0.01a;v	6.15 ± 0.01a;v	0.36 ± 0.01a;v	3.22 ± 0.01a;v	1.25 ± 0.01a;v	0.65 ± 0.02b;v
	CT2	9.02 ± 0.21a;v	1.68 ± 0.06a;v	1.21 ± 0a;v	26.57 ± 0.23a;v	27.26 ± 0.66a;v	5.64 ± 0.7a;v	0.34 ± 0.01a;v	3.1 ± 0.08a;v	1.2 ± 0.04a;w	0.64 ± 0.01b;v
	CT3	9.98 ± 0.17a;v	2.29 ± 0.07a;v	1.46 ± 0.06a;v	24.21 ± 0.27a;v	26.9 ± 0.59a;v	6.15 ± 0.72a;v	0.34 ± 0.01a;v	2.91 ± 0.09a;v	1.21 ± 0.03a;w	0.63 ± 0.02b;v
	CT4	9.45 ± 0.46a;v	1.85 ± 0.24a;v	1.09 ± 0.01a;v	26.67 ± 0.06a;v	26.1 ± 0.01a;v	4.82 ± 0.02a;v	0.33 ± 0a;v	3.04 ± 0a;v	1.16 ± 0.01a;w	0.64 ± 0.02b;v
	AT1	8.83 ± 0.25a;v	0.55 ± 0.24a;v	1.13 ± 0.01a;v	31.47 ± 0.55a;v	22.32 ± 0.86a;v	3.38 ± 0.52a;v	0.32 ± 0.01a;v	3.97 ± 0.11a;v	1.37 ± 0.13a;v	0.61 ± 0.29b;v
	AT2	7.67 ± 0.5a;v	0.54 ± 0.13a;v	0.89 ± 0.01a;v	35.35 ± 0.06a;v	19.24 ± 0.02a;v	2.21 ± 0.01a;v	0.36 ± 0.03a;v	3.87 ± 0.01a;v	0.97 ± 0.01a;w	0.57 ± 0.01b;v
	AT3	6.24 ± 0.28a;v	0.63 ± 0a;v	0.67 ± 0.08a;v	39.82 ± 0.06a;v	19.35 ± 0.02a;v	2.09 ± 0.02a;v	0.43 ± 0a;v	4.12 ± 0.01a;v	0.92 ± 0.01a;w	0.57 ± 0.02b;v
	AT4	8.3 ± 0.62a;v	0.47 ± 0.16a;v	0.96 ± 0.06a;v	34.24 ± 0.16a;v	19.79 ± 0.11a;v	2.4 ± 0.01a;v	0.31 ± 0a;v	3.98 ± 0.02a;v	1.14 ± 0.01a;w	0.42 ± 0.3b;v

Table 5 Continued

Samples	PLO + SLL	PoOP	PLP	OOO	SLO + POO	POP	PPP	SOO	POS	SLS	
320 m	CB1	8.75 ± 0.69 _{a,v}	1.85 ± 0.19 _{a,v}	1.43 ± 0.06 _{a,v}	27.36 ± 0.36 _{a,v}	26.81 ± 0.72 _{a,v}	5.38 ± 0.71 _{a,v}	0.29 ± 0.02 _{a,v}	3.3 ± 0.11 _{a,v}	1.3 ± 0.05 _{a,v}	0.6 ± 0.03 _{a,v}
	CB2	7.81 ± 0.47 _{a,v}	1.33 ± 0.53 _{a,v}	0.93 ± 0.05 _{a,v}	31.52 ± 0.01 _{a,v}	28.06 ± 0 _{a,v}	5.03 ± 0 _{a,v}	0.34 ± 0 _{a,v}	3.4 ± 0 _{a,v}	1.1 ± 0 _{a,v}	0.65 ± 0.01 _{a,v}
	CB3	9.69 ± 0.76 _{a,v}	1.91 ± 0.18 _{a,v}	1.18 ± 0.08 _{a,v}	28.25 ± 0.07 _{a,v}	25.49 ± 0.08 _{a,v}	4.08 ± 0.01 _{a,v}	0.31 ± 0 _{a,v}	3.15 ± 0 _{a,v}	0.96 ± 0.01 _{a,w}	0.59 ± 0 _{a,v}
	CB4	9.76 ± 0.03 _{a,v}	2.09 ± 0.26 _{a,v}	1.33 ± 0.08 _{a,v}	27.19 ± 0.06 _{a,v}	24.18 ± 0.09 _{a,v}	3.9 ± 0.02 _{a,v}	0.27 ± 0 _{a,v}	3.23 ± 0.01 _{a,v}	1.11 ± 0 _{a,v}	0.59 ± 0 _{a,v}
490 m	AB1	6.17 ± 0.45 _{a,v}	0.89 ± 0.16 _{a,v}	0.81 ± 0.01 _{a,v}	36.8 ± 0.06 _{a,v}	22.06 ± 0.04 _{a,v}	2.89 ± 0.01 _{a,v}	0.32 ± 0 _{a,v}	4.44 ± 0.01 _{a,v}	1.13 ± 0 _{a,v}	0.59 ± 0.1 _{a,v}
	AB2	5.05 ± 0.32 _{a,v}	0.68 ± 0.1 _{a,v}	0.99 ± 0.11 _{a,v}	41.69 ± 0.14 _{a,v}	22.81 ± 0.08 _{a,v}	2.07 ± 0.02 _{a,v}	0.48 ± 0.06 _{a,v}	5.32 ± 0 _{a,v}	1.16 ± 0.01 _{a,w}	1.01 ± 0 _{a,v}
	AB3	5.63 ± 0.01 _{a,v}	0.82 ± 0.33 _{a,v}	1.05 ± 0.02 _{a,v}	39.42 ± 0.06 _{a,v}	24.53 ± 0.06 _{a,v}	2.59 ± 0.02 _{a,v}	0.37 ± 0.01 _{a,v}	4.71 ± 0.01 _{a,v}	1.13 ± 0 _{a,v}	0.92 ± 0.01 _{a,v}
	AB4	5.01 ± 0.02 _{a,v}	1.34 ± 0.13 _{a,v}	1.07 ± 0.12 _{a,v}	41.2 ± 0.03 _{a,v}	22.18 ± 0.03 _{a,v}	2.19 ± 0.01 _{a,v}	0.51 ± 0.06 _{a,v}	4.86 ± 0 _{a,v}	1.02 ± 0 _{a,w}	1.01 ± 0.01 _{a,v}
	CA1	9.23 ± 0.35 _{a,v}	1.68 ± 0.04 _{a,v}	1.33 ± 0.13 _{a,v}	26.91 ± 0.11 _{a,v}	26.72 ± 0.01 _{a,v}	5.56 ± 0.05 _{a,v}	0.32 ± 0.01 _{a,v}	3.14 ± 0.01 _{a,v}	1.13 ± 0.01 _{a,v}	0.63 ± 0.02 _{b,v}
	CA2	9.73 ± 0.23 _{a,v}	1.95 ± 0.08 _{a,v}	1.72 ± 0.06 _{a,v}	25.59 ± 0.01 _{a,v}	25.67 ± 0 _{a,v}	5.46 ± 0.01 _{a,v}	0.29 ± 0 _{a,v}	2.87 ± 0.01 _{a,v}	1.06 ± 0 _{a,w}	0.57 ± 0.01 _{b,v}
	CA3	11.04 ± 0.3 _{a,v}	2.01 ± 0.11 _{a,v}	1.59 ± 0.09 _{a,v}	24.48 ± 0.01 _{a,v}	24.06 ± 0.01 _{a,v}	5.13 ± 0 _{a,v}	0.26 ± 0 _{a,v}	2.73 ± 0.01 _{a,v}	1 ± 0 _{a,w}	0.51 ± 0.01 _{b,v}
	CA4	10.52 ± 0.59 _{a,v}	1.97 ± 0.13 _{a,v}	1.59 ± 0.16 _{a,v}	25.15 ± 0.45 _{a,v}	23.55 ± 0.89 _{a,v}	4.73 ± 0.78 _{a,v}	0.29 ± 0.01 _{a,v}	2.63 ± 0.08 _{a,v}	0.98 ± 0.01 _{a,w}	0.53 ± 0.01 _{b,v}
AA1	6.75 ± 0 _{a,v}	0.7 ± 0 _{a,v}	0.74 ± 0 _{a,v}	37.37 ± 0 _{a,v}	21.89 ± 0 _{a,v}	2.29 ± 0 _{a,v}	0.34 ± 0 _{a,v}	5.05 ± 0 _{a,v}	1.19 ± 0 _{a,w}	0.74 ± 0 _{b,v}	
AA2	6.76 ± 0.23 _{a,v}	0.74 ± 0.14 _{a,v}	0.73 ± 0 _{a,v}	37.23 ± 0.4 _{a,v}	22.38 ± 0.53 _{a,v}	2.6 ± 0.49 _{a,v}	0.34 ± 0.01 _{a,v}	4.87 ± 0.09 _{a,v}	1.18 ± 0.02 _{a,w}	0.71 ± 0.06 _{b,v}	
AA3	5.99 ± 0.52 _{a,v}	0.8 ± 0.3 _{a,v}	0.82 ± 0.3 _{a,v}	37.73 ± 2.33 _{a,v}	24.59 ± 0.15 _{a,v}	2.96 ± 0.51 _{a,v}	0.34 ± 0.04 _{a,v}	4.76 ± 0.08 _{a,v}	11.19 ± 0.08 _{a,w}	0.8 ± 0.18 _{b,v}	
AA4	6.17 ± 0.45 _{a,v}	0.89 ± 0.16 _{a,v}	0.81 ± 0.01 _{a,v}	36.8 ± 0.06 _{a,v}	22.06 ± 0.04 _{a,v}	2.89 ± 0.01 _{a,v}	0.32 ± 0 _{a,v}	4.44 ± 0.01 _{a,v}	1.13 ± 0 _{a,w}	0.59 ± 0.1 _{b,v}	

Different letters (a–c) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Altitude effect.

Different letters (v–x) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Harvest date effect.

L, Linoleoyl; Ln, linolenoyl; O, oleoyl; P, palmitoyl; Po, palmitoleyl; S, stearoyl.

^aMeans ± SD.

et al., 2004), the content of SOL + POO depends on the ripening phases of the fruit. Accordingly, our study has revealed a significant decrease through the ripening process in the *Chemlal* EVOO. In contrast, the cv. *Azeradj* oils showed an inconclusive variation. Further, TAG were found with a very low rate (< 1%) in the samples, such as LLL, PPP, SLS, PLLn, and the sum of LOLn + PoLL, and varies widely from one factor to another.

Pigment Content

Chlorophyll and carotenoid are involved in the coloration and anti-oxidation activity in olive oil. Yet, chlorophylls tend to turn to pro-oxidant at light contact (Minguez et al., 1991). The highest pigment amounts have been observed at the beginning of the ripening process (Table 6), with a maximum level observed at the second harvest date corresponding to CT2, AT2, CB2, AB2, CA2, and AA2 samples of December 5. Then the photosynthetic activity decreases continuously during maturation, leading to progressive mitigation in chlorophyll and carotenoid concentrations to reach the lowest levels at the last harvest date. They are substituted steadily by anthocyanins at the end of the maturation process (Roca and Minguez, 2001). The statistical analysis has revealed an inconsiderable ($P = 0.797$) effect of the cultivar on the pigment content. However, their quantities are significantly ($P \leq 0.05$) affected by altitude changes; therefore, low levels were observed at 110 m of altitude (Tizi-Ouzou). This elevation is characterized by low chlorophyll (1.69 and 1.63 mg kg⁻¹) and carotenoids (1.22 and 1.35 mg kg⁻¹) amounts, averaged over all *Chemlal* and *Azeradj* oil samples from this locality, respectively. These results are in agreement with those of the study carried out by Ouni et al. (2012). In addition, the statistical data listed in Table 7 revealed that maturity and altitude are the most influential factors on the amount of pigment in olive oil.

Tocopherols Composition

HPLC analysis of the vitamin E composition (Table 6) has identified α -tocopherol as the predominant isomer in olive oil samples, exceeding 85% of total tocopherol, as revealed by other research works (Baccouri et al., 2008; Köseoğlu et al., 2016). The two cultivars have shown different trends in the tocopherol amounts during the ripening process. In fact, high contents were observed at the first harvest date in oils extracted from the cv. *Azeradj* variety, which decreased sharply to reach a lower level at the end of December (AT4, AB4, and AA4). Conversely, the variations in these lipophilic substances in the oils of cv. *Chemlal* were characterized by a linear increase through olive maturation, branded by a considerable decrease at the final harvest date.

What is particularly worth pointing at in the case of the altitudes of 110 and 320 m is the amounts of total tocopherol that fall from 237.98 to 197.18 mg kg⁻¹ and from 228.6 to 199.9 mg kg⁻¹, respectively. Baccouri et al. (2008) and Yorulmaz et al. (2013) registered the same trend as they worked on different cultivars. Moreover, the two cultivars behave differently in response to the altitude effect, as observed on the parameters studied previously. Indeed, the amounts of alpha and total tocopherols increase gradually in the *Azeradj* variety with the rise in orchard elevation, which is represented through their maximum levels of 235.06 and 261.67 mg kg⁻¹ at 110 m, 317.95 and 342.84 mg kg⁻¹ at 320 m, and a peak of 433.54 and 464.21 mg kg⁻¹ at 490 m altitude. Similar results were recorded by Dabbou et al. (2009). In contrast, an opposite effect has been observed with the *Chemlal* variety, especially through low levels in alpha (211.93 mg kg⁻¹) and total tocopherols (221.65 mg kg⁻¹) noticed at the altitude of 490 m. Thus, the effect of the altitude on alpha and total tocopherols was cultivar dependent, and could be seen in the interaction "Cultivar \times Altitude" which showed a significant effect on the amount of alpha and total tocopherols, with a percentage contribution of 17.87% and 16.52%, respectively (Table 7). β -tocopherols were found in trace in all oil samples, except for the oils obtained from the *Azeradj* variety in the orchard located in Tizi-Ouzou. Moreover, a higher concentration of γ - and δ -tocopherols was observed in the oil extracted from the *Azeradj* variety. Beltrán et al. (2010) found similar amounts of tocopherol composition and established a strong relation between tocopherol variation and the genetic factor.

Oxidative Stability

The oxidative stability of olive oil is permanently bound to changes in the quality and quantity of its various natural antioxidants and variations of its lipid fraction (Baccouri et al., 2008; Bengana et al., 2013). The values of oxidative stability listed in Table 6 show a positive correlation ($r = 0.419$ and $r = 0.414$; $P \leq 0.001$) with the change of alpha and total tocopherols content in the EVOO samples, respectively. Thus, the low values of the oxidative stability recorded at the last harvest date (D4) can be explained by the important drop in the tocopherol content observed in the samples harvested during this period for both varieties. Similar results have been mentioned in numerous studies (Baccouri et al., 2008; Bengana et al., 2013; Yorulmaz et al., 2013). According to the result shown in Table 6, the averages of oxidative stability vary positively with orchard elevation, by stability rising from 4.71 to 4.99 hours then to 5.04 hours in the cv. *Chemlal* oils and from 4.07 to 5.64 hours then to 5.82 hours in the cv. *Azeradj* EVOO. Similar findings were revealed by Ouni et al. (2012) and

Table 6 Pigments, tocopherols composition and oxidative stability of olive oil samples^a

Altitude	Samples	Chlorophylls (mg kg ⁻¹)	Carotenoids (mg kg ⁻¹)	α-Tocopherol (mg kg ⁻¹)	β-Tocopherol (mg kg ⁻¹)	γ-Tocopherol (mg kg ⁻¹)	δ-Tocopherol (mg kg ⁻¹)	Total tocopherol	Oxidative stability (hours)	
110 m	CT1	2.70 ± 0.66b;v	0.72 ± 0.08b;v	201.53 ± 3.46ab;v	0.00 ± 0.00a;v	0.00 ± 0.00b;v	7.70 ± 0.23a;v	209.23 ± 3.22ab;v	6.27	
	CT2	2.41 ± 0.29b;w	2.09 ± 0.10b;w	227.87 ± 10.38ab;vw	0.00 ± 0.00a;v	0.00 ± 0.00b;vw	7.63 ± 0.25a;v	235.5 ± 10.63ab;v	4.89	
	CT3	1.26 ± 0.32b;wx	1.13 ± 0.02b;w	228.42 ± 0.27ab;vw	0.00 ± 0.00a;v	1.10 ± 1.28b;vw	8.46 ± 0.18a;v	237.98 ± 1.72ab;v	2.66	
	CT4	0.38 ± 0.06b;x	0.95 ± 0.14b;w	189.27 ± 0.12ab;w	0.00 ± 0.00a;v	0.00 ± 0.00b;w	7.91 ± 0.35a;v	197.18 ± 0.23ab;v	5.03	
	AT1	2.48 ± 0.09b;v	1.23 ± 0.48b;v	235.06 ± 0.86ab;v	5.39 ± 0.44a;v	9.38 ± 0.06b;v	11.85 ± 1.92a;v	261.67 ± 2.28ab;v	3.14	
	AT2	3.12 ± 1.55b;w	2.02 ± 0.59b;w	189.64 ± 2.47ab;vw	3.87 ± 0.13a;v	5.13 ± 1.25b;vw	12.62 ± 1.12a;v	211.26 ± 2.22ab;v	5.03	
	AT3	1.54 ± 0.13b;wx	1.34 ± 0.06b;w	166.57 ± 0.67ab;vw	0.70 ± 0.04a;v	2.44 ± 0.39b;vw	9.34 ± 0.65a;v	179.05 ± 0.40ab;v	4.83	
	AT4	2.33 ± 0.42b;x	1.44 ± 0.08b;w	193.43 ± 0.09ab;w	1.37 ± 0.26a;v	5.99 ± 0.17b;w	9.76 ± 0.20a;v	210.55 ± 0.20ab;v	3.27	
	320 m	CB1	3.87 ± 0.24a;v	1.81 ± 0.10ab;v	184.38 ± 7.76b;v	0.00 ± 0.00b;v	1.25 ± 0.24ab;v	8.33 ± 1.02b;v	193.96 ± 8.54b;v	5.26
		CB2	4.47 ± 0.07a;w	2.10 ± 0.05ab;w	210.44 ± 1.29b;vw	0.00 ± 0.00b;v	5.95 ± 0.09ab;vw	4.84 ± 5.14b;v	221.23 ± 6.53b;v	7.30
		CB3	3.16 ± 0.33a;wx	1.48 ± 0.01ab;w	217.28 ± 7.05b;vw	1.03 ± 1.45b;v	4.90 ± 3.99ab;vw	5.40 ± 5.08b;v	228.60 ± 14.67b;v	2.61
		CB4	3.10 ± 0.53a;x	1.56 ± 0.06ab;w	185.71 ± 1.31b;w	0.00 ± 0.00b;v	6.51 ± 1.14ab;w	7.69 ± 0.10b;v	199.90 ± 0.27b;v	4.80
AB1		2.15 ± 0.29a;v	1.64 ± 0.04ab;v	317.95 ± 12.96b;v	0.00 ± 0.00b;v	15.93 ± 0.52ab;v	8.97 ± 0.46b;v	342.84 ± 13.02b;v	5.86	
AB2		3.83 ± 0.65a;w	1.93 ± 0.17ab;w	124.81 ± 0.91b;vw	0.00 ± 0.00b;v	0.00 ± 0.00ab;vw	8.20 ± 0.13b;v	133.00 ± 1.05b;v	4.43	
AB3		3.49 ± 0.51a;wx	1.29 ± 0.09ab;w	145.99 ± 2.81b;vw	0.00 ± 0.00b;v	0.00 ± 0.00ab;vw	8.24 ± 0.21b;v	154.23 ± 3.03b;v	5.74	
AB4		1.56 ± 0.24a;x	1.22 ± 0.17ab;w	148.28 ± 3.24b;w	0.00 ± 0.00b;v	0.00 ± 0.00ab;w	8.63 ± 0.22b;v	156.41 ± 3.73b;v	6.54	
490 m	CA1	3.69 ± 0.60a;v	2.00 ± 0.05a;v	182.89 ± 0.53a;v	0.00 ± 0.00b;v	1.66 ± 0.48a;v	9.21 ± 0.08a;v	193.76 ± 0.93a;v	2.94	
	CA2	4.71 ± 0.53a;w	2.24 ± 0.13a;w	187.17 ± 4.55a;vw	0.00 ± 0.00b;v	2.35 ± 0.13a;vw	8.95 ± 0.02a;v	198.48 ± 4.40a;v	4.16	
	CA3	2.06 ± 0.61a;wx	1.50 ± 0.23a;w	196.05 ± 6.68a;vw	0.00 ± 0.00b;v	5.25 ± 5.09a;vw	9.16 ± 0.32a;v	210.45 ± 1.91a;v	6.83	
	CA4	1.35 ± 0.22a;x	0.82 ± 0.20a;w	211.93 ± 2.07a;w	0.00 ± 0.00b;v	1.19 ± 0.02a;w	8.54 ± 0.28a;v	221.65 ± 1.78a;v	6.21	
	AA1	3.74 ± 0.01a;v	2.59 ± 0.07a;v	433.54 ± 3.42a;v	0.87 ± 0.82b;v	20.77 ± 1.58a;v	10.03 ± 0.13a;v	465.21 ± 5.69a;v	7.97	
	AA2	4.63 ± 0.28a;w	2.85 ± 0.03a;w	358.25 ± 1.52a;vw	0.00 ± 0.00b;v	16.99 ± 1.05a;vw	9.19 ± 0.08a;v	384.42 ± 0.39a;v	5.33	
	AA3	3.04 ± 0.17a;wx	2.17 ± 0.29a;w	314.31 ± 4.67a;vw	0.00 ± 0.00b;v	13.02 ± 0.18a;vw	10.14 ± 1.44a;v	337.46 ± 3.42a;v	6.52	
	AA4	2.29 ± 0.06a;x	1.69 ± 0.18a;w	124.93 ± 2.40a;w	0.00 ± 0.00b;v	0.59 ± 0.24a;w	8.70 ± 0.17a;v	134.22 ± 2.33a;v	3.74	

^aMeans ± SD.

Different letters (a-c) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Altitude effect.

Different letters (v-x) in the same row indicate significant ($P < 0.05$) differences concerning the Harvest date effect.

Table 7 Percentage of the contribution of the factors and their interaction on the most important parameters of the fruit and olive oil studied^a

Source of variability	Maturity index	Fruit weight	Pulp/stone ratio	Pulp	Dry weight	FFA	PV	E232	E270	16:0
Cultivar	36.64%***	49.45%***	29.16%***	30.08%***	0.09% n.s	0.00% n.s	15.48%***	0.01% n.s	7.84%*	82.63%
Altitude	5.43%***	15.21%***	19.38%***	23.97%***	43.58%***	20.78%***	28.19%***	12.53%*	12.82%*	0.22%
Maturity	45.18%***	2.39%***	2.55%***	3.48%***	23.47%***	43.07%***	25.32%***	13.32%*	15.79%*	2.03%
Cultivar × altitude	3.15%***	5.18%***	7.24%***	3.28%***	8.94%***	2.27% n.s	22.75%***	8.33% n.s	1.83% n.s	3.03%
Cultivar × maturity	0.26% n.s	0.13% n.s	0.46%*	0.33%*	1.05% n.s	1.45% n.s	0.40% n.s	6.34% n.s	8.23% n.s	5.52%
Altitude × maturity	5.65%***	1.08%***	1.21%***	2.07%***	13.79%***	12.07%*	1.68%*	14.23% n.s	7.31% n.s	1.62%
Cultivar × altitude × maturity	2.89%***	0.13% n.s	1.05%***	1.07%***	5.72%***	3.52% n.s	4.27%***	3.73% n.s	7.91% n.s	4.94%
	18:1	18:2	18:3	Oleic / linoleic	MUFA/PUFA	UFA/SFA	LOO+ PLnP	PLO+ SLL	OOO	SLO+ POO
Cultivar	85.05%	7.61%	29.26%	25.09%	19.27%	54.83%	17.36%***	65.66%***	83.11%***	60.82%***
Altitude	1.36%	4.46%	17.87%	7.77%	8.73%	3.58%	13.26%***	9.35%***	6.52%***	1.24%***
Maturity	3.09%	29.26%	2.08%	20.32%	21.17%	10.01%	5.59%***	1.22%*	1.19%***	6.65%***
Cultivar × altitude	2.13%	38.88%	6.58%	30.25%	31.65%	7.20%	45.56%***	8.22%***	1.07%***	16.14%***
Cultivar × maturity	5.65%	9.71%	8.04%	7.47%	8.69%	13.48%	7.98%***	8.42%***	2.76%***	6.02%***
Altitude × maturity	1.04%	3.55%	22.70%	3.14%	3.90%	2.82%	3.63%*	2.35%*	2.35%***	5.81%***
Cultivar × altitude × maturity	1.69%	6.54%	13.46%	5.97%	6.58%	8.07%	3.42%*	2.26%*	2.62%***	2.43%***
	POP	Chlorophylls	Carotenoids	α-Tocopherol	β-Tocopherol	γ-Tocopherol	δ-Tocopherol	Total Tocopherol	Oxidative stability	
Cultivar	82.30%***	0.14% n.s	5.32%***	3.67%***	3.67%	17.43%***	21.44%***	5.14%***	0.96%	
Altitude	2.98%***	22.45%***	21.44%***	12.71%***	12.71%	11.01%***	18.56%*	12.71%***	10.58%	
Maturity	3.73%***	42.22%***	39.33%***	17.11%***	17.11%	11.96%***	3.38% n.s	1.91%***	1.22%	
Cultivar × altitude	2.06%**	8.97%***	11.41%***	17.87%***	17.87%	13.83%***	6.37% n.s	16.52%***	5.17%	
Cultivar × maturity	1.98%**	3.93%*	0.58% n.s	22.16%***	22.16%	22.62%***	3.01% n.s	5.48%***	11.99%	
Altitude × maturity	1.80% n.s	7.97%**	13.88%***	8.54%***	8.54%	9.81%***	7.70% n.s	24.87%***	17.96%	
Cultivar × altitude × maturity	2.25%*	5.62%*	1.42% n.s	17.73%***	17.73%	10.40%***	6.24% n.s	33.10%***	52.12%	

ns, no significant.

^aSignificance levels.* $P \leq 0.05$.** $P \leq 0.01$.*** $P \leq 0.001$.

related the improved stability of the olive oil produced at elevated orchards to an increased level of mono-unsaturated fatty acids (MUFA) in those oils. On the other hand, a slight difference can be noticed between the two cultivars, notably by enhanced resistance to the oxidation of *Azeradj* oils harvested in the 320 and 490 m altitudes. This behavior is caused probably to the higher oleic acid content of the cv. *Azeradj* oils compared to the cv. *Chemlal* oils, which are in line with the findings of Boucheffa et al. (2019).

Principal Component Analysis

The fatty acids and triacylglycerols profiles are known as good markers for the classification and characterization of EVOO (Abdallah et al., 2016; Sevi'm et al., 2017). Accordingly, the best discrimination was obtained with a PCA performed on the combination of both lipidic profiles, as revealed by Ollivier et al. (2006). Results indicate that the two main factors account for 62.6% of the total variance ((F1: 43.1%, F2: 19.5%).

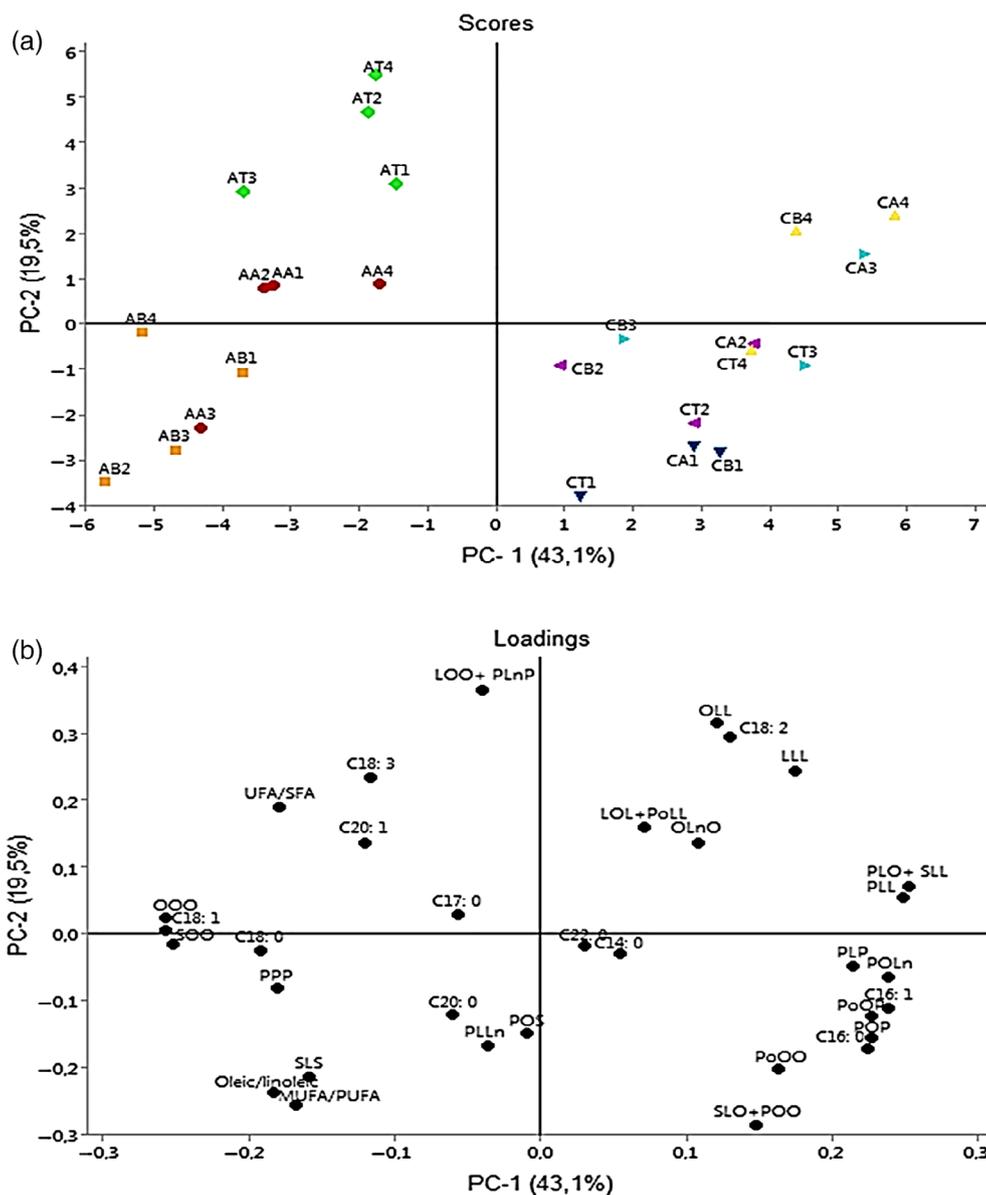


Fig 1 Principal component analysis (PCA) on fatty acids and triacylglycerols composition; (a) Distribution of oil samples with the analyzed compounds; (b) Vector distribution of fatty acids and triacylglycerols. The *Azeradj* oil samples were clustered in three main sub-groups (110 m (◆), 320 (■) and 479 (●)) according to altitude change; The *Chemlal* oil samples were sorted in four main sub-groups (25/11/2017 (▼), 05/12/2017 (◀), 15/12/2017 (▶) and 25/12/2017 (▲) depending on the progress of the harvest date.

The PCA results, displayed in Fig. 1, divide the different EVOO samples into two main clusters according to the first PCA axis (PC-1). The first group brings together the olive oils extracted from cv. *Chemlal*, which are characterized by a greater level of POP, PoOP, POLn, PLL, sum of PLO+SLL, palmitic, and palmitoleic acids. As for the second group, it is composed of *Azeradj* oils sorted out according to their richness in OOO, SOO, oleic, and stearic acids. Thus, it could be noted that each FA has been correlated with its respective triglyceride, and the distribution of the variables confirmed the difference in the lipid composition observed between the two cultivars (Tables 4 and 5).

The score plot (Fig. 1a) showed that the dots representing the two varieties (*Azeradj* on the left and *Chemlal* on the right) are widely spread from the bottom to the top of the PCA graph. The second axis of PCA (PC-2) was positively correlated with the variables 18:2, 18:3, LLL, OLL, LOO+ PLnP, and negatively with SLS, PoOO, SLO + POO triacylglycerols, MUFA/PUFA, and Oleic/Linoleic ratios. It worth pointing that these variables showed a high percentage of contribution of the altitude, maturity factors, and/or their interaction with cultivars (“Cultivar × Altitude” and “Cultivar × Maturity”), as recorded in Table 7. According to the loading plot (Fig. 1b), there is no real relationship between the variables 18:2 and 18:3 in one side and between the triacylglycerols SLO + POO, PoOO, and the ratios MUFA/PUFA and Oleic/Linoleic in other side, due to the perpendicularity of the vectors carrying these variables. By Overlaying the loading and scoring graphs, it can be noticed that samples AT1, AT2, AT3, and AT4 grouped in the upper left quadrant are more concentrated in 18:3, LOO+ PLnP, and opposed to the samples AB1, AB3, AB4, and AA3 in the lower left quadrant, which are distinguished by their high MUFA/PUFA and oleic/linoleic ratios. In the right of the score plot, *Chemlal* samples CB1, CA4, and CA3 rich in 18:2 and OLL opposed CT1, CA1, CB1, and CT2 samples, which are correlated with a high rate of SLO+ POO and PoOO. These results are consistent with the observation carried on the data of Tables 4 and 5 mentioned above.

In sum, PC-2 of the PCA made it possible to distribute the samples into different subgroups, according to the specific behavior of the variables characterizing each variety. In one side, the *Azeradj* samples were divided into three sub-clusters according to their geographical origin, indicating that olive oils harvested at low altitudes are more concentrated in LOO+ PLnP sum and linolenic acid. On another side, the *Chemlal* samples were also divided from bottom to top of the PCA graph into four distinct subgroups, but this time based on the change in their maturation stages. This was made possible due to the high content of the cv. *Chemlal* in some fatty acids and triacylglycerols compound that are sensitive to changes in ripening process,

such as linoleic acid, LLL, OLL, PoOO, and SLO + POO sum. These results showed that the metabolic behaviors of these varieties were different in terms of some compositional parameters through changes in location and maturity.

Conclusion

In the light of the results of the present study, it can be said that the type of variety had a stronger influence on the characteristics of the fruit and the olive oil. The pomological data have revealed a phenotypic variability in the olive fruit of the cv. *Chemlal* and cv. *Azeradj*, influenced by altitude and expressed their full genetic potential at low altitude.

All the tested oils exhibited quality indices within the ranges established for “extra virgin” olive oil category. The amount of pigment and tocopherols, considered as natural antioxidants of olive oil, has shown a significant correlation with the altitude of the cultivation area and particularly with the maturation process by a remarkable decrease during the olive ripening. Consequently, the decrease in the tocopherol and monounsaturated fatty acid content has a negative effect on the oxidative stability of the olive oil due to the weak resistance to oxidation revealed in the samples with low content, harvested at advanced ripening stage and low altitude. Besides, Fatty acids and triacylglycerols composition data revealed that each cultivar has a distinct lipid profile and showed that this particular composition has a different sensitivity to the factor adopted in this study. Indeed, oleic acid and its respective triglyceride (triolein) were highlighted in the oil extracted from the *Azeradj* cultivar, but it was only certain composition, such as MUFA/PUFA and Oleic/Linoleic ratios, that showed a remarkable sensitivity to changes in crop elevation. On the other hand, *Chemlal* oils were marked by a significant amount of palmitic and its respective triacylglycerols (POP), but the ripening process effect was observed in the variations of its composition in linoleic acid, OLL, and SLO+ POO triacylglycerols. Furthermore, PCA analysis carried on both fatty acid and triglyceride profile has confirmed and highlighted the particular role of the genetic and geographical location in the characterization of virgin olive oil.

Acknowledgments The authors wish to thank the Technical Institute of Fruit and Vine Arboriculture of Sidi-Aich, Algeria, for providing the mini oil mill for olive oil samples extraction.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Abdallah, M., Vergara-Barberán, M., Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., Zarrouk, M., Guerfel, M., & Simó-Alfonso, E. F. (2016) Use of triacylglycerol profiles established by HPLC–UV and ELSD to predict cultivar and maturity of Tunisian olive oils. *European Food Research and Technology*, **242**:1607–1619.
- Al-Maaitah, M., Al-absi, K., & Al-Rawashdeh, A. (2009) Oil quality of three olive cultivars as influenced by harvesting date in the middle and southern parts of Jordan. *International Journal of Agriculture and Biology*, **11**:266–272.
- Aranda, F., Gómez-Alonso, S., Rivera Del Álamo, R. M., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2004) Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars. *Food Chemistry*, **86**:485–492.
- Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G., ... Daoud Ben Miled, D. (2008) Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, **109**:743–754.
- Beltrán, G., Jiménez, A., Del Rio, C., Sánchez, S., Martínez, L., Uceda, M., & Aguilera, M. P. (2010) Variability of Vit E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. *Journal of Food Composition Analysis*, **23**:633–639.
- Bengana, M., Bakhouch, A., Lozano-Sánchez, J., Amir, Y., Youyou, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013) Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*, **54**:1868–1875.
- Boucheffa, S., Tamendjari, A., Sanchez-Gimeno, A. C., Rovellini, P., Venturini, S., di Rienzo, V., ... Montemurro, C. (2019) Diversity assessment of Algerian wild and cultivated olives (*Olea europaea* L.) by molecular, morphological and chemical traits. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **121**:180–302.
- Cicerale, S., Conlan, X. A., Sinclair, A. J., & Keast, R. S. J. (2009) Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **49**:218–236.
- Covas, M. I., Konstantinidou, V., & Fito, M. (2009) Olive oil and cardiovascular health. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **54**:477–482.
- Dabbou, S., Issaoui, M., Esposto, S., Sifi, S., Taticchi, A., Servili, M., ... Hammami, M. (2009) Cultivar and growing area effects on minor compounds of olive oil from autochthonous and European introduced cultivars in Tunisia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **89**:1314–1325.
- Dag, A., Kerem, Z., Yogev, N., Zipori, I., Lavee, S., & Ben-David, E. (2011) Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae*, **127**:358–366.
- Desouky, I. M., Haggag, L. F., Abd El-Migeed, M. M. M., & El-Hady, E. S. (2009) Changes in some physical and chemical properties of fruit and oil in some olive oil cultivars during harvesting stage. *World Journal of Agricultural Sciences*, **5**:760–765.
- di Rienzo, V., Sion, S., Taranto, F., D'Agostino, N., Montemurro, C., Fanelli, V., ... Miazzi, M. M. (2018) Genetic flow among olive populations within the Mediterranean basin. *Peer Journal*, **6**:e5260.
- Di Vaio, C., Nocerino, S., Paduano, A., & Sacchi, R. (2013) Influence of some environmental factors on drupe maturation and olive oil composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **93**:1134–1139.
- Douzane, M., Nouani, A., Dako, E., & Bellal, M. (2012) Influence of the variety, the crop year, and the growing on the fatty acid and tocopherols composition of some Algerian virgin olive oils. *African Journal of Agricultural Research*, **7**:4738–4750.
- European Commission. (1991) The characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. Commission regulation n° 2568/91. *Official Journal of the European Union*, **248**:1–83.
- Fadda, C., Del Caro, A., Sanguinetti, A. M., Urgeghe, P. P., Vacca, V., Arca, P. P., & Piga, A. (2012) Changes during storage of quality parameters and in vitro antioxidant activity of extra virgin monovarietal oils obtained with two extraction technologies. *Food Chemistry*, **134**:1542–1548.
- Freihat, N. M., Al-Shannag, A. K., & El Assi, N. (2008) Qualitative responses of “Nabali”olive oil to harvesting time and altitudes at sub-humid Mediterranean. *International Journal of Food Properties*, **11**:561–570.
- Garce's, R., Sarmiento, C., & Mancha, M. (1992) Temperature regulation of oleate desaturase in sunflower seeds. *Planta*, **186**:461–465.
- Gutiérrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A., & Albi, M. A. (1999) Effect of olive ripeness on the oxidative of virgin olive oil extracted from the cultivars “picual” and “Hojiblanca”, and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**:121–127.
- International Olive Council. (1997) *Methodology for primary characterisation of olive varieties*. Project RESGEN-CT (67/97) EU/IOC.
- International Olive Council. (2011) *Guide for the determination of the characteristics of oil-olives*. COI/OH/Doc/T.20/Doc. n° 29, November.
- International Olive Council. (2015) *Commercial standard for olive oils and olive-pomace oils*. IT.15/NC No. 3/Rev, November.
- International Organization for Standardization. (2007) *Animal and vegetable fats and oils—determination of peroxide value—Iodometric (visual) endpoint determination*. ISO, Standard No. 3960, Geneva.
- International Organization for Standardization. (2009) *Animal and vegetable fats and oil—determination of acid value and acidity*. ISO, Standard No. 660, Geneva.
- International Organization for Standardization. (2011) *Animal and vegetable fats and oil—Determination of ultraviolet absorbance expressed as specific UV extinction*. ISO, Standard No. 3656, Geneva.
- Köseoğlu, O., Sevim, D., & Kadiroğlu, P. (2016) Quality characteristics and antioxidant properties of Turkish monovarietal olive oils regarding stages of olive ripening. *Food Chemistry*, **212**:628–634.
- Mailer, R. J., Ayton, J., & Conlan, D. (2007) Influence of harvest timing on olive (*Olea europaea*) oil accumulation and fruit characteristics under Australian conditions. *Journal of Food Agriculture and Environment*, **5**:68–63.
- Martinez Suarez, J. M. (1973) Recientes estudios de la almazara experimental del instituto de la grasa. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, **50**:325–330.
- Minguez, M. I., Rejano, J. L., Gandul, B., Higinio, A., & Garrido, J. (1991) Colour pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **68**:669–671.
- Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J. P., & Guerere, M. (2006) Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*, **97**:382–393.
- Ouni, Y., Taamalli, A., Guerfel, M., Abdely, C., Zarrouk, M., & Flamini, G. (2012) The phenolic compounds and compositional quality of Chétoui virgin olive oil: Effect of altitude. *African Journal of Biotechnology*, **11**:11842–11850.
- Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2000) Phenolic compounds and squalene in olive oils: The concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, **38**:647–659.
- Roca, M., & Minguez, M. I. (2001) Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during

- processing for virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **78**:133–138.
- Sevim, D., Koseoğlu, O., & Ozdemir, D. (2017) Determination of triacylglycerol composition of Ayvalık and Memecik olive oils during storage by chemometric methods. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **21**:1497–1504.
- Terral, J. F., Alonso, N., Capdevila, R. B. I., Chatti, N., Fabre, L., Fiorentino, G., ... Alibert, P. (2004) Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *Journal of Biogeography*, **31**:63–77.
- Tura, D., Gigliotti, C., Pedo, S., Failla, O., Bassi, D., & Serraiocco, A. (2007) Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea* Europea L.) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*, **112**:108–119.
- Uceda, M., Frias, M. L., & Ruano, M. T. (1992) Diferenciación de variedades de Aceituna por la composición acidica de su aceite, book of abstracts; international symposium on olive growing, ISHS. *Acta Horticulturae*, **286**:35–38.
- Yorulmaz, A., Erinc, H., & Tekin, A. (2013) Changes in olive and olive oil characteristics during maturation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **90**:647–658.
- Zaringhalami, S., Ebrahimi, M., Piravi, V. Z., & Ganjloo, A. (2015) Effects of cultivar and ripening stage of Iranian olive fruit on bioactive compounds and antioxidant activity of its virgin oil. *International Food Research Journal*, **22**:1961–1967.

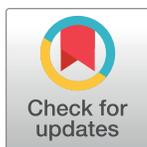
RESEARCH ARTICLE

Changes in secoiridoids content and chemical characteristics of cultivated and wild Algerian olive oil, in term of fruit maturation

Massinissa Faci¹, Malika Douzane², Mariem Hedjal¹, Mohamed Seghir Daas², Laëtitia Fougere³, Eric Lesellier^{3*}

1 Department of Biological sciences, Mouloud Mammeri University of Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algeria, **2** Agri-Food Technologies Research Division, National Institute of Agronomic Research of Algeria, Algiers, Algeria, **3** Institute of Organic and Analytical Chemistry, University of Orleans, National Centre for Scientific Research, Orleans, France

* eric.lesellier@univ-orleans.fr



OPEN ACCESS

Citation: Faci M, Douzane M, Hedjal M, Daas MS, Fougere L, Lesellier E (2021) Changes in secoiridoids content and chemical characteristics of cultivated and wild Algerian olive oil, in term of fruit maturation. PLoS ONE 16(11): e0260182. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182>

Editor: Jen-Tsung Chen, National University of Kaohsiung, TAIWAN

Received: July 18, 2021

Accepted: November 3, 2021

Published: November 16, 2021

Copyright: © 2021 Faci et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its [Supporting information](#) files.

Funding: This study was funded by the EU Olive-Net project to EL and MD (OLIVE NET, H2020-MSCA-RISE-EU/734899).

Competing interests: The authors have declared that no competing interest exist.

Abstract

Wild varieties in nature are known to be better adapted to climate change and more resistant to arid conditions common in some regions of the world. Oil samples of two cultivated varieties, Chemlal and Lemli, and one sylvestris variety were collected at four different harvesting periods in the semi-arid region of Bouira, Algeria. The aim of this study was to determine the influence of the genetic and maturity factors on the quality indices (acidity, peroxides value, and the parameters K232, K270), fatty acids profile, phenolic composition, and antioxidant activity of monovarietal olive oils. The study showed that early harvest dates of the fruits produced oils richer in pigments and phenolic compounds, with high antioxidant activity registered in both wild and cultivated varieties. Moreover, all oil samples showed high values of secoiridoids exceeding 60–90% of total biophenols, with higher values found in oleaster oils, which are correlated with high resistance to oxidation attacks. UHPLC-DAD and UHPLC-HRMS analyses showed that the secoiridoids composition is dominated by a profile rich in several isomers of oleuropein and ligstroside aglycons, which in turn represent more than 60% of the total secoiridoids in olive and Oleaster oils. Furthermore, chemometric analysis on the data allowed a better appreciation of the sensitivity of the virgin olive oil composition to the changes in genetic and ripening factors. According to the principal component analysis, phenolic and fatty acid profiles were the most important components contributing to the discrimination between olive oil samples.

Introduction

Fats occupy an important place in dietary intake, are essential for the development and functioning of the human body. The source and quality of fats in food appear to have a major impact on human health [1]. Thus, the Mediterranean region known for its diet rich in olive oil has the lowest incidence in certain diseases described as "disease of the century" worldwide. The fatty acid composition of olive oil differs from other vegetable oils by its high monounsaturated fatty acid composition at the expense of saturated fatty acids. The importance of a high ratio of monounsaturated/saturated fatty acids of the olive oil in daily uses was correlated with

a low incidence of coronary and cancer diseases [2]. Other studies [3–5] have demonstrated its effectiveness in reducing the occurrence of many chronic diseases, such as atherosclerosis, rheumatoid arthritis, and nonalcoholic fatty liver disease.

Besides, extra virgin olive oil (EVOO) remains a natural fruit juice resulting from a simple physical extraction without using solvents as required for seed oils, according to International Olive Council regulations (IOC) [6]. This extraction process allows the olive oil to be characterized by a high content of natural bioactive compounds, which confers large bioactivity and authentic sensory quality to this oil. These various nutritional and therapeutic qualities are due to its high content of natural compounds such as vitamins, phytosterols, pigments, and especially phenolic compounds, commonly called “polyphenols” [7]. EVOO contains a wide range of phenolic compounds resulting from secondary plant metabolism, including flavonoids (e.g. apigenin and luteolin), phenolic alcohols (e.g. tyrosol and hydroxytyrosol), phenolic acids (e.g. caffeic acid and vanillic acid), and in particular secoiridoids, which are the most abundant fraction [8, 9].

The health-promoting properties of secoiridoids are recently recognized for their high biological activity against inflammatory, cancer and Alzheimer’s disease; in particular, the secoiridoids oleocanthal and oleacein, which are attracting increasing attention because of their beneficial effects on health and their multiple biological activities [10]. Derived mainly from the de-glucosylation of oleuropein and ligstroside present in olives, the aglycone form of oleuropein and ligstroside are the most abundant secoiridoids in olive oil [11]. These two compounds, defined as specific oleosides of Oleaceae, are sensitive to chemical and enzymatic degradation due to the ester functions carried by the aglycone form [12]. According to Laincer et al. [13], the secoiridoids content is closely related to the genetic characteristics of the olive tree. In other studies [14–16] a relation has been found with the climatic changes, the geographical origin, and the technological process.

Thus, thanks to the diversity of the genetic heritage and the widespread of *Olea europaea* L. cultivation in the world, olive oil production has been marked by a large variation in its lipid and non-lipid composition, due notably to the influence of the multiple factors mentioned previously. The aim of this work is to investigate the influence of the genetic factor and the harvest time on the chemical composition and extent of bioactive compounds of olive oil. The research was performed using separation techniques Ultra High-Pressure liquid chromatography (UHPLC), coupled with Photo-Diode Array detection (DAD) and High-resolution mass spectrometry (HRMS) systems, in order to improve the separation time, ensure high resolution and broad identification of EVOO extracts.

Materials and methods

Sample and oil preparation

In order to understand the influence of the genetic resource on the characteristics of virgin olive oils and to give a better assessment of the ripening process contribution to variations of several oil quality parameters; particularly in secoiridoids composition, natural antioxidants content, and fatty acids profile of both wild and cultivated olive varieties. Olive oils were obtained from two endemic Algerian olive cultivars, Chemlal (C) and Limli (L), cultivated in the growing region of Bouira, north-center Algeria. The Oleaster oil was obtained from the wild olive (*Olea europaea* L. subsp. Oleaster (O)) population in the same region. The harvested campaign was carried out during the crop season of 2018, over a period of one month spread through four harvesting dates (H) and spaced out with ten days intervals between them (H1: November 25; H2:December 5; H3:December 15; H4:December 25). The olive samples were manually harvested in random and cleaned carefully by following the sampling method described in the International Olive Council [17].

The olive oil extraction was carried out with a two-phase laboratory oil mill (S.I.O.L. 20240 GHISONACCIA, France). Briefly, the fruits were crushed using a hammer mill equipped with a perforated grid (0.8 mm diameter holes). The homogenous paste was transferred into non-hermetic stainless containers and stirred with rotating pallets for 35 minutes at 25°C; to ensure better coagulation of the oil particles and to limit the oxidation phenomenon. The separation of the phases (oil, wet pomace) was carried out using a vertical centrifuge set at 3000 rpm for 3 min. Finally, the filtered oil samples were stored in opaque glass flasks (protected from light and air oxidation) and 4°C temperature until analysis.

Maturity index

The estimation of maturity degree was based on the visual observation of the olive mesocarp and epicarp colors, the Maturity Index (MI) were determined by the formula described by International Olive Council [17].

Quality indices

The progress of triglyceride hydrolysis in olive oil expressed in percentage of free oleic acid (%) was determined following the International Standard Organization procedure [18]. Following the International Olive Council protocols [19, 20], the oxidation level was evaluated by measuring the peroxide value (PV) (Hydroperoxide) and UV spectrophotometer indices (K232 and K270) for oxidation products.

Fatty acid analysis

The fatty acid profile of the olive oil samples was determined using a Chrompack CP 9002 system equipped with Agilent Cp-Sil 8 CB column (60 m length, 0.25 mm i.d) (5% phenyl+ 95% dimethyl polysiloxane). The fatty acid methyl esters (FAMES) were prepared by cold transesterification method according to the chromatographic procedure defined by EEC Regulation 2568/91 [21]. Then 0.8 µl was injected under a constant injector temperature of 250°C. The oven temperature increased from 150°C to 200°C by 4°C/min. The nitrogen was used as carrier gas with flow rates of 1ml/min. FAMES were detected with a flame ionization detector (FID) set at 250°C, and the identification was carried out by comparing their retention times with those of standard reference compounds.

Pigment determination

The content of chlorophylls and carotenoids was measured following the spectrophotometry method described by Minguez-Mosquera et al. [22]. In brief, 7.5 g of the test sample was dissolved in 25 ml of cyclohexane, and then the mixture was analysed with UV-VIS spectrophotometer set at 670 and 470 nm, which are the maximum absorption for chlorophylls and carotenoids, respectively. The chlorophylls content was calculated as if it were all pheophytin "a", known as the major chlorophylls fraction, using the values of the specific extinction coefficients of this fraction $E_0 = 613$. The carotenoids concentration was calculated also according to its main component, lutein, with its specific extinction coefficient $E_0 = 2000$. The pigment contents were determined using the following formula:

$$\text{Chlorophyll (mg}_{\text{pheophytin 'a'}}/\text{kg)} = (A_{670} \times 10^6) / (E_0 \times 100 \times d)$$

$$\text{Carotenoid (mg}_{\text{lutein}}/\text{kg)} = (A_{470} \times 10^6) / (E_0 \times 100 \times d)$$

The results reported are based on oil weight (mg/kg of olive oil). A is the absorbance and d is the thickness of the spectrophotometer cell (1 cm).

Phenols extraction

The extraction step was carried out according to the International Olive Council method [23], with minor modification. In 20 mL centrifugal tubes, 2 grams of virgin olive oil was mixed with 1ml of syringic acid (used as an internal standard); the latter was prepared in methanol/water mixture (80:20, v/v) with a concentration of 0.015 mg/ml. After 30 seconds of vortex agitation, 5ml of methanol/water (80:20, v/v) were added. Then, the mixture was passed 15 min in ultrasonic bath and 25 min in a centrifuge at 5000 rpm, under 25°C temperature. The supernatant was evaporated with a nitrogen stream until total solvent evaporation, and then the dried polar fraction was reconstituted in 1ml methanol/water (80:20, v/v). The phenolic extracts were filtered through a 0.45µm PVDF filters, and refrigerated until their use.

UHPLC-DAD and UHPLC-HRMS analysis

The phenol compounds were analysed using a Dionex Ultimate 3000 UHPLC system (Thermo Scientific, USA) equipped with a polar C18 Luna Omega column (100 mm × 2.1 mm id; 1,6 µm particles size), in order to decrease the separation time and ensure a high resolution. A binary gradient of pure water (A) and acetonitrile (B), both previously acidified with 0.1% formic acid, formed the mobile phase. The flow rate was set at 0.4 mL/min and the gradient elution was performed in 16 min as follow: 10% of Bin 0 min, 10% to 35% B for 5min, 35% to 60% B for 2 min, isocratic at 60% for 3 min, 60 to 80% B for 4 min, and 80 to 100% B for 2 min. Four minutes were necessary for the column equilibration between each injection. The oven temperature set at 25°C. Then, 3 µL were automatically deducted from each 1ml of the filtered extract, displayed in different vials. The detection was performed with Diode Array Detector (DAD) in the range of 200–600 nm, and the most phenolic compound were observed at 280 nm wavelength. The same chromatographic conditions were used for the UHPLC–HRMS analysis. The identification of the different phenolic compounds was performed on a maXis UHR-Q-TOF mass spectrometer (Bruker, Bremen, Germany) in negative electrospray ionisation (ESI) mode. The capillary voltage was set at 4.0 kV. The flows of nebulising and drying gas (nitrogen) were set at 2.0 bar and 9.8 L/min, respectively, and the drying gas was heated at 200°C. Analyses were recorded at an acquisition frequency of 2 Hz, and the mass range was set from m/z 50 to 1650. Data were processed using DataAnalysis 4.4 (Bruker).

Phenols quantification method

The determination of the phenolic compound concentrations in the olive oil extracts was carried out according to the International olive council procedure (COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1). The syringic acid was added as internal standard during the extraction phase, as explained above. The secoiridoids identified with UHPLC-HRMS were quantified using the sum areas of the corresponding chromatographic peaks recovered by the UHPLC-DAD at 280 nm and the peak area of the internal standard. The secoiridoids amount were presented in mg/kg of tyrosol equivalent, as follow:

$$mg_{Tyrosol\ equivalent}/kg = \frac{\left(\sum A\right) \times 1000 \times RRF_{syr/tyr} \times W_{syr. acid}}{A_{syr. acid} \times W}$$

ΣA : total of the peak areas of the individual phenols detected at 280 nm;

1000: refers to the factor needed to convert the value into mg/kg;

$RRF_{\text{syrr/tyr}}$: the multiplication coefficient ($RRF_{\text{syrr/tyr}} = 4.74$) to express the result in tyrosol equivalent;

$A_{\text{syrr. Acid}}$: the internal standard (Syringic acid) area detected at 280 nm;

$W_{\text{syrr.acid}}$: the weight of the syringic acid (mg) added as internal standard.

W: the weight (g) of the tested olive oil;

Determination of total phenol

The total phenol contents were measured using the modification of the procedure described by Singleton and Rossi [24], based on the reduction of phosphomolybdic-phosphotungstic acid. In a simple 96-well microplate, 20 μl of each phenolic extract were transferred, with 20 μl of Folin ciocalteau reagent. After 5 min waiting, the coloration of the reaction was activated by 30 μl of the 20% aqueous sodium carbonate solution. Finally, the mixture was diluted with 140 μl of distilled water. Therefore, the same steps were carried out to prepare the Gallic acid calibration curve, including concentrations range of 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 mg/ml. all the preparations were read under a microplate spectrophotometer (Thermo scientific multiskan, USA) at 760 nm, after 25°C incubation for 2 hours in the dark. Using the Gallic acid calibration curve, the total phenol content was quantified in mg Gallic acid/kg oil.

DPPH antiradical reaction

The DPPH antiradical capacity was estimated using the method reported by Tepe et al. [25]. 10 μl of each olive oil extract and calibration solution of Trolox (1, 0.8, 0.5, 0.25, 0.1 and 0.05 mg/ml) were complemented with 190 μl of a DPPH solution (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) concentrated at 0.15%, in methanol. After 30 seconds stirring, the mixtures were incubated for 30 min at 25°C. During this step, a change from dark violet to pale yellow color was observed, due to the reduction of free radicals present in DPPH form by the antioxidant power of the phenolic compounds. The absorbance was read with a microplate spectrophotometer at 516 nm. The values of scavenging activities were expressed as mg trolox equivalents/ml (mg TE/ml).

$$\%Inhibition = \left\{ 1 - \left(A_{\text{sample}} / A_{\text{control}} \right) \right\} \times 100$$

A_{control} is control test that was measured as the absorbance of DPPH without sample addition.

Statistical and chemometric analysis

The statistical analyses were performed with Minitab 19 (Minitab software, USA). One-way variance analysis test (ANOVA) was carried out on the oil data, followed by Tukey post-hoc test, with significance set at $P < 0.05$. For improved discrimination and better visualization of data variation, principal component analysis (PCA) was achieved on the most important oil parameters.

Results and discussions

Maturity index

During the ripening process, photosynthetic activity decreases progressively in the olive fruit [26], and expressed by different range of color going from green, purple to black, which allows the ripening process to be evaluated through the maturity index [27, 28]. At the first harvest

date (H1) of November 25, the olives were found with low maturity indices of 2.30, 2.48 and 1.33 in the cv. Chemlal, cv. Limli and Oleaster, respectively (Table 1).

Therefore, wild olives were characterized by the lowest maturity values ranging from 1.33 to 3.65 through harvest periods H1 to H4. This difference was probably due to the late entry of wild fruits in maturation compared to the cultivated varieties (Fig 1).

On another side, a fast ripening process was observed in the olives of the cv. Chemlal, which attained the advanced ripening level of 5.33 (Black) at the last harvest (H4). Furthermore, data analysis showed significant differences ($P \leq 0.05$) between the varieties and confirm the influence of the genetic factor on the olive maturity process, as Baccouri et al. [8] reported in their study.

Quality parameters

The majority of olive oil collected from different sampling conditions (olive Variety and Maturation) were found under the limit established by the IOC (IOC/T.15/NC No. 3/Rev 8), for free acidity ($\leq 0.8\%$), peroxide value ($\leq 20 \text{ meqO}_2/\text{kga}$), K232 (≤ 2.50) and K270 (≤ 0.22) (Table 1). Thus, all oil samples were categorized as EVOO.

ANOVA analysis showed significant ($P \leq 0.05$) influences of varietal component on the oxidative parameters of the olive oil. Indeed, the Oleaster oil presented low values of UV spectrophotometric, that ranging from 0.86 to 0.95 for primary oxidation (K232) and from 0.12 to 0.19 for secondary oxidation product (K270), and which found higher in Chemlal and Limli cultivars. Bouarroudj et al. [29] reported comparable results on Oleaster oils. The data listed in Table 1 showed no significant variation ($P \geq 0.05$) in the changes in K232 and K270 values during the progression of maturity. Free acidity (FFA) percentage showed a slight but significant increase ($P = 0.00$) during the ripening process, especially in Chemlal and Limli cultivars, but remains below the limit of 0.8% (for EVOO) even in the advanced stages of maturity. The rise of FFA content was related to the increase activity of lipolytic enzyme during the olive-ripening phase [8].

Fatty acids composition

The fatty acids (FA) constitute the major fraction of olive oil and its composition is considered as a marker for the classification and the determination of the varietal and geographical origin

Table 1. Physico-chemical proprieties of EVOO samples.

Varieties	Harvest date	Maturity index	Acidity (%)	Peroxide value (MeqO ₂ /Kg)	K232 (nm)	K270 (nm)
Chemlal	H1	2.30 ± 0.20 ^{a;x}	0.34 ± 0.06 ^{a;wx}	10.43 ± 1.04 ^{b;w}	1.18 ± 0.01 ^{b;v}	0.24 ± 0.00 ^{ab;v}
Chemlal	H2	3.48 ± 0.27 ^{a;w}	0.24 ± 0.02 ^{a;x}	11.36 ± 0.99 ^{b;vw}	0.86 ± 0.05 ^{b;v}	0.19 ± 0.01 ^{ab;v}
Chemlal	H3	4.74 ± 0.48 ^{a;v}	0.40 ± 0.13 ^{a;vw}	12.19 ± 0.30 ^{b;vw}	0.78 ± 0.02 ^{b;v}	0.15 ± 0.01 ^{ab;v}
Chemlal	H4	5.33 ± 0.33 ^{a;v}	0.53 ± 0.14 ^{a;v}	9.29 ± 0.96 ^{b;v}	1.00 ± 0.06 ^{b;v}	0.15 ± 0.00 ^{ab;v}
Limli	H1	2.44 ± 0.16 ^{b;x}	0.36 ± 0.07 ^{a;wx}	7.79 ± 0.83 ^{a;w}	1.54 ± 0.08 ^{a;v}	0.23 ± 0.00 ^{a;v}
Limli	H2	2.87 ± 0.13 ^{b;w}	0.36 ± 0.03 ^{a;x}	10.54 ± 0.40 ^{a;vw}	1.04 ± 0.04 ^{a;v}	0.17 ± 0.00 ^{a;v}
Limli	H3	3.87 ± 0.38 ^{b;v}	0.45 ± 0.00 ^{a;vw}	13.58 ± 0.07 ^{a;vw}	1.11 ± 0.14 ^{a;v}	0.19 ± 0.00 ^{a;v}
Limli	H4	4.35 ± 0.39 ^{b;v}	0.57 ± 0.00 ^{a;v}	15.75 ± 1.44 ^{a;v}	1.37 ± 0.00 ^{a;v}	0.22 ± 0.00 ^{a;v}
Oleaster	H1	1.33 ± 0.09 ^{ab;x}	0.40 ± 0.00 ^{a;wx}	13.50 ± 0.71 ^{a;w}	0.94 ± 0.16 ^{b;v}	0.15 ± 0.01 ^{b;v}
Oleaster	H2	2.36 ± 0.22 ^{ab;w}	0.33 ± 0.11 ^{a;x}	15.00 ± 2.12 ^{a;vw}	0.95 ± 0.06 ^{b;v}	0.19 ± 0.02 ^{b;v}
Oleaster	H3	2.90 ± 0.26 ^{ab;v}	0.40 ± 0.07 ^{a;vw}	13.50 ± 0.71 ^{a;vw}	0.91 ± 0.10 ^{b;v}	0.14 ± 0.01 ^{b;v}
Oleaster	H4	3.65 ± 0.41 ^{ab;v}	0.38 ± 0.04 ^{a;v}	15.50 ± 0.00 ^{a;v}	0.86 ± 0.05 ^{b;v}	0.12 ± 0.00 ^{b;v}

Mean ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$),

^{a-c} refers the varietal effect and

^{v-x} to the Harvest time effect.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.t001>

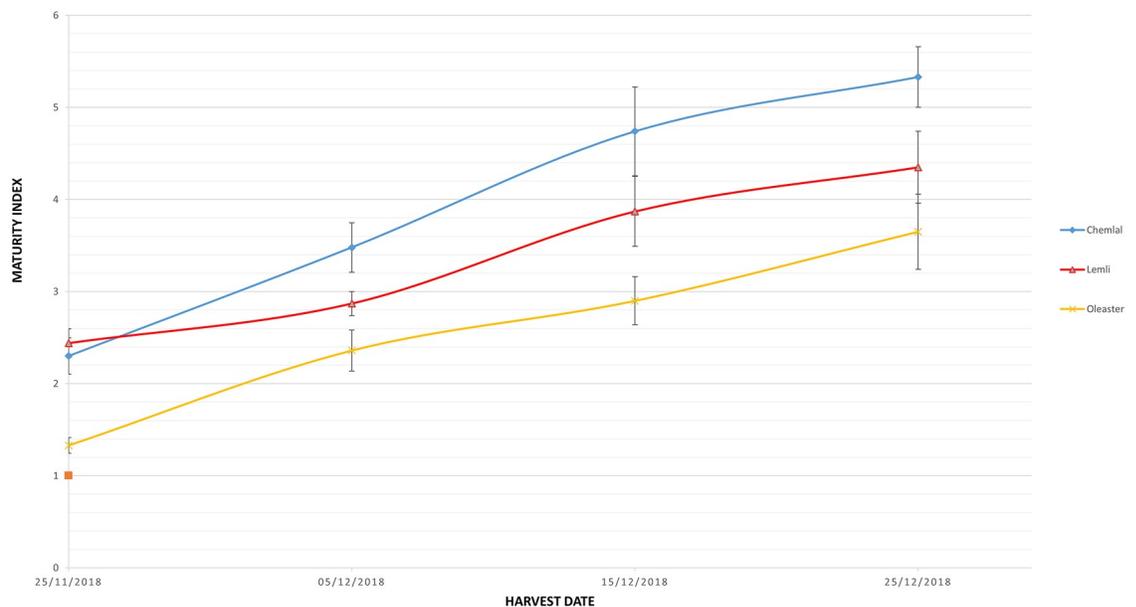


Fig 1. Changes in maturity index during the different harvest dates.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.g001>

of olive oil [14, 30]. The most abundant FA found in all EVOO samples was oleic acid, as observed in other researches [8, 14] (Table 2).

During the olive maturation, its percentage fluctuates between 72.55 and 72.94% in the cv. Chemlal, between 64.71 and 72.45% in the cv. Limli and from 72.57 to 74.18% in the Oleaster oil; the changes in oleic content were found with significant differences among the studied varieties ($P = 0.007$) and no significant in terms of maturity progression ($P \geq 0.05$). Those results are quite similar to other data carried on the Algerian varieties [29, 31]. However, in

Table 2. Fatty acids composition of olive oil samples (%).

Varieties	Harvest date	C16: 0	C16: 1	C17: 0	C18: 0	C18: 1	C18: 2	C18: 3	C20: 0	C20: 1	C22: 0	C18:1/ C18:2	MUFA/ SFA	MUFA/ PUFA
Chemlal	H1	14.08 ^{a;v}	1.66 ^{a;v}	0.12 ^{b;v}	1.90 ^{ab;v}	72.55 ^{ab;v}	8.23 ^{ab;v}	0.60 ^{b;vw}	0.34 ^{a;vw}	0.31 ^{a;w}	0.12 ^{a;vw}	8.82 ^{ab;v}	4.50 ^{a;v}	8.43 ^{ab;v}
Chemlal	H2	17.19 ^{a;v}	2.06 ^{a;v}	0.09 ^{b;v}	1.76 ^{ab;v}	68.31 ^{ab;v}	9.35 ^{ab;v}	0.33 ^{b;w}	0.33 ^{a;w}	0.34 ^{a;vw}	0.00 ^{a;w}	7.31 ^{ab;v}	3.65 ^{a;v}	7.30 ^{ab;v}
Chemlal	H3	12.50 ^{a;vw}	1.55 ^{a;v}	0.10 ^{b;v}	1.92 ^{ab;v}	71.43 ^{ab;v}	11.51 ^{ab;v}	0.55 ^{b;vw}	0.33 ^{a;w}	0.30 ^{a;vw}	0.12 ^{a;vw}	6.21 ^{ab;v}	4.90 ^{a;v}	6.07 ^{ab;v}
Chemlal	H4	13.47 ^{a;w}	1.69 ^{a;v}	0.12 ^{b;v}	1.85 ^{ab;v}	72.94 ^{ab;v}	8.34 ^{ab;v}	0.60 ^{b;v}	0.35 ^{a;v}	0.36 ^{a;v}	0.13 ^{a;v}	8.75 ^{ab;v}	4.71 ^{a;v}	8.38 ^{ab;v}
Limli	H1	18.30 ^{a;v}	1.20 ^{c;v}	0.25 ^{a;v}	2.61 ^{a;v}	64.71 ^{b;v}	11.48 ^{a;v}	0.62 ^{ab;vw}	0.38 ^{a;vw}	0.28 ^{a;w}	0.12 ^{a;vw}	5.64 ^{b;v}	3.06 ^{b;v}	5.47 ^{b;v}
Limli	H2	16.60 ^{a;v}	1.10 ^{c;v}	0.23 ^{a;v}	2.23 ^{a;v}	68.11 ^{b;v}	10.21 ^{a;v}	0.36 ^{ab;v}	0.36 ^{a;w}	0.32 ^{a;vw}	0.12 ^{a;w}	6.67 ^{b;v}	3.56 ^{b;v}	6.57 ^{b;v}
Limli	H3	14.76 ^{a;vw}	1.14 ^{c;v}	0.25 ^{a;v}	2.27 ^{a;v}	70.39 ^{b;v}	9.67 ^{a;v}	0.69 ^{ab;vw}	0.34 ^{a;w}	0.32 ^{a;vw}	0.12 ^{a;vw}	7.28 ^{b;v}	4.05 ^{b;v}	6.93 ^{b;v}
Limli	H4	12.47 ^{a;w}	0.99 ^{c;v}	0.23 ^{a;v}	2.14 ^{a;v}	72.45 ^{b;v}	10.00 ^{a;v}	0.76 ^{ab;v}	0.39 ^{a;v}	0.38 ^{a;v}	0.14 ^{a;v}	7.25 ^{b;v}	3.25 ^{b;v}	6.86 ^{b;v}
Oleaster	H1	14.40 ^{a;v}	1.56 ^{b;v}	0.09 ^{b;v}	2.06 ^{b;v}	72.57 ^{a;v}	7.79 ^{b;v}	0.76 ^{a;vw}	0.35 ^{a;vw}	0.26 ^{b;w}	0.12 ^{a;vw}	9.32 ^{a;v}	4.28 ^{a;v}	8.53 ^{a;v}
Oleaster	H2	13.55 ^{a;v}	1.35 ^{b;v}	0.10 ^{b;v}	2.08 ^{b;v}	73.30 ^{a;v}	8.20 ^{b;v}	0.72 ^{a;w}	0.33 ^{a;w}	0.23 ^{b;vw}	0.10 ^{a;w}	8.94 ^{a;v}	4.56 ^{a;v}	8.26 ^{a;v}
Oleaster	H3	14.69 ^{a;vw}	1.66 ^{b;v}	0.09 ^{b;v}	1.98 ^{b;v}	71.18 ^{a;v}	8.96 ^{b;v}	0.69 ^{a;vw}	0.34 ^{a;w}	0.26 ^{b;vw}	0.11 ^{a;vw}	7.94 ^{a;v}	4.16 ^{a;v}	7.41 ^{a;v}
Oleaster	H4	13.16 ^{a;w}	1.15 ^{b;v}	0.11 ^{b;v}	0.47 ^{b;v}	74.18 ^{a;v}	9.05 ^{b;v}	0.77 ^{a;v}	0.45 ^{a;v}	0.31 ^{b;v}	0.21 ^{a;v}	8.20 ^{a;v}	5.18 ^{a;v}	7.60 ^{a;v}

The amount of the different fatty acids were determined in percentage. C16:0, Palmitic; C18:0, Stearic; C16:1, Palmitoleic; C17:0, margaric; C18:1, Oleic; C18:2, Linoleic; C18:3, Linolenic; C20:0, arachidic; C20:1, gadoleic; C22:0, behenic acids. MUFA/PUFA, Monounsaturated fatty acids/ Poly-unsaturated fatty acids ratio; UFA/SFA; Unsaturated fatty acids/ Saturated fatty acids ratio. Different letters in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$),

^{a-c} refers the varietal effect and

^{v-x} to the Harvest time effect.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.t002>

the course of fruit ripening, the maximum values of oleic acid were observed at the last harvest date (H4) in all olive varieties; This behavior may indicate that the oleic acid synthesis continues even at the late stages of the ripening process, as observed by others researchers [32, 33].

As reported by Dessouky et al. [34] and Rondanini et al. [1], the percentage of the main saturated fatty acid -palmitic acid in the EVOO samples, showed different behavior between varieties during fruit maturation. In fact, a high level of palmitic acid content was observed at H2 in cv. Chemlal and H1 in cv. Limli; and was followed by an important decrease at advanced ripening stages. In comparison, the Oleaster oils presented no clear variation ($P \geq 0.05$) in this fatty acid during fruit maturation. Numerous studies [8, 28], were related the drop in palmitic acid ratio during the advanced ripening stages to the dilution effect, caused by stability in palmitic acid percent and the increased level of other fatty acids.

The ratio of oleic/linoleic, MUFA/SFA (mono-unsaturated fatty acid/saturated fatty acid) and MUFA/PUFA (poly-unsaturated fatty acid) were related with both nutritional aspect and oxidative stability of olive oil [32]. During harvest dates H1, H2 and H3, the Oleaster oil showed a highest oleic/linoleic ratio of 9.32, 8.99 and 7.94 compare to the composition Chemlal and Limli oil at the same periods, therefore, the MUFA/PUFA parameter showed a same and significant difference ($P \leq 0.05$) between the varieties. Those characteristics, can procure Oleaster oil more stability and longer shelf life during the storage [32, 35]. Despite the fact that no significant differences ($P \geq 0.05$) showed in term of olive ripens, in general, a slight decrease can be noticed in both C18:1/C18:2 and MUFA/PUFA parameters at the last harvest date, compare to the first harvest (H1) in Chemlal and Oleaster oils; and third harvest (H3) in Limli oil. For Yorulmaz et al. [33], this decrease was possibly due to the transformation oleic into linoleic acid caused by the activity of oleate desaturase enzyme. In addition, the values of MUFA/SFA ratio reached their maximum at advanced maturation stages, with levels of 4.90 and 4.05 at H3 in oils provided from Chemlal and Limli cultivars, and 5.18 at H4 in Oleaster oil. This behavior can be associated to low levels of palmitic acids at the end of maturation. For Beltrán et al., [32], this relationship is due to the increasing activity of β -ketoacyl-ACP synthase II (KAS II) enzyme, which induces the chain elongation of palmitoyl-ACP to stearoyl-ACP.

Pigment content

During the olive ripening process, important changes occur in the pigment content, which constantly affect the color, flavor and antioxidant capacity of the extracted olive oil [36]. In the early olive piking, a high level of chlorophylls and carotenoids content was observed in all oil samples (Table 3), and was particularly pronounced in the cv. Limli, with amounts of 11.61 and 5.71 mg/kg found in both pigments, respectively.

Numerous studies have related this small variation to influences of the varietal component on pigment production [34]. During the olive maturation, olive oils showed a significant ($P \leq 0.05$) and linear decrease in pigment content, by a loss of more than 50% of total chlorophylls and carotenoids, registered at the end of December in Limli and Oleaster oils. This decrease was possibly due to the transformation of chlorophyll (a) and (b) to pheophytin (a) and (b), which provokes a change in olive oil coloration from green to yellow; and affects directly the antioxidant capacities of both pigments and particularly the pro-oxidant activity of the chlorophylls [7, 8].

Colorimetric total phenol

Total phenol content (TPC) estimated by the Folin-Ciocalteu reagent is known as a routine technique for assessing the main and non-specified phenolic compounds of the olive oil. The amount of total phenol listed in the Table 3, showed a non-clear trend during the ripening

Table 3. Pigment, total phenol and antioxidant proprieties of EVOO samples.

Varieties	Harvest date	Chlorophylls (mg/kg)	Carotenoids (mg/kg)	Total phenol (mg CAE/kg)	DPPH (%)	DPPH (mg TE/ml)
Chemlal	H1	9.45 ± 1.96 ^{a:v}	3.58 ± 0.91 ^{a:v}	183.57 ± 1.20 ^{b:v}	79.84 ± 0.84 ^{b:v}	0.448 ± 0.005 ^{b:v}
Chemlal	H2	7.29 ± 0.00 ^{a:w}	2.38 ± 1.08 ^{a:w}	170.78 ± 15.32 ^{b:v}	79.56 ± 2.07 ^{b:vw}	0.446 ± 0.001 ^{b:vw}
Chemlal	H3	7.50 ± 0.00 ^{a:x}	2.56 ± 1.34 ^{a:w}	150.11 ± 5.54 ^{b:v}	36.06 ± 3.86 ^{b:x}	0.207 ± 0.002 ^{b:x}
Chemlal	H4	6.65 ± 0.24 ^{a:x}	2.66 ± 0.51 ^{a:w}	199.02 ± 4.21 ^{b:v}	24.17 ± 0.96 ^{b:x}	0.141 ± 0.005 ^{b:x}
Limli	H1	11.61 ± 1.65 ^{a:v}	5.71 ± 0.37 ^{ab:v}	187.70 ± 20.4 ^{a:v}	61.95 ± 1.53 ^{c:v}	0.349 ± 0.008 ^{c:v}
Limli	H2	7.52 ± 0.28 ^{a:w}	3.85 ± 1.49 ^{ab:w}	115.44 ± 8.61 ^{a:v}	32.78 ± 0.94 ^{c:vw}	0.189 ± 0.005 ^{c:vw}
Limli	H3	5.13 ± 1.50 ^{a:x}	3.17 ± 1.00 ^{ab:w}	136.00 ± 16.29 ^{a:v}	10.72 ± 1.02 ^{c:x}	0.067 ± 0.006 ^{c:x}
Limli	H4	3.74 ± 0.21 ^{a:x}	2.85 ± 0.23 ^{ab:w}	114.00 ± 21.80 ^{a:v}	18.39 ± 2.11 ^{c:x}	0.109 ± 0.001 ^{c:x}
Oleaster	H1	9.95 ± 2.28 ^{a:v}	4.34 ± 0.21 ^{b:v}	208.20 ± 38.40 ^{a:v}	89.93 ± 8.73 ^{a:v}	0.503 ± 0.005 ^{a:v}
Oleaster	H2	5.38 ± 1.21 ^{a:w}	2.42 ± 0.16 ^{b:w}	181.55 ± 10.58 ^{a:v}	77.85 ± 2.08 ^{a:vw}	0.437 ± 0.001 ^{a:vw}
Oleaster	H3	4.20 ± 1.67 ^{a:x}	1.82 ± 0.07 ^{b:w}	167.29 ± 5.76 ^{a:v}	60.32 ± 7.59 ^{a:x}	0.340 ± 0.004 ^{a:x}
Oleaster	H4	4.12 ± 1.14 ^{a:x}	2.09 ± 0.22 ^{b:w}	226.98 ± 15.29 ^{a:v}	74.66 ± 0.86 ^{a:x}	0.419 ± 0.005 ^{a:x}

Mean ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$),

^{a-c} refers the varietal effect and

^{v-x} to the Harvest time effect.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.t003>

process ($P \geq 0.05$). Nevertheless, linear decreases can be noticed through the maturation periods H1 to H3 in all varieties; which fell respectively from 183.57 to 150.11 mg CAE/kg; 187.70 to 136.00 mg CAE/kg and from 208.20 to 167.29 in the Chemlal, Limli and Oleaster EVOO samples. This behavior is in agreement with the finding reported in study of Zaringhalami et al. [35]. However, in Chemlal and Oleaster oil samples; this decrease was followed by an important rise of the phenol content at last harvest date (H4). This augmentation in TPC can be the result of accumulation of other phenols such anthocyanins at the advanced ripening stage [33], which also have capacity to interact with Folin-Ciocalteu reagent.

Variance analysis on the oils data revealed a high significant ($P \leq 0.001$) influence of varietal trait on the polyphenol content. Besides, the averages of polyphenol content was found particularly high in the Oleaster oils (mean of TPC from H1 to H4: 196.00 mg CAE/kg) compare to the cultivated varieties, Chemlal and Limli. Other works done on these varieties [29] are in conformity with our results on the total phenol content. According to Boucheffa et al. [37], the richness of wild olive oils in the phenols content is associated with increased resistance to hydric stress condition of its trees. Indeed, water stress enhance the activity Phenylalanine-Lyase enzyme, known as responsible for the phenylpropanoids biosynthesis in the plant [38].

UHPLC-HRMS/MS determination of secoiridoids

Liquid chromatography-mass spectrometry technique is largely used in characterization and structural determination of the EVOO phenolic compounds, and especially the negative ionization mode (ESI) due to its high sensitivity [9]. UHPLC- DAD (Fig 2) and ESI-HRMS investigation into the phenolic profile of oils extracted from Chemlal, Limli and Oleaster varieties have detected 20 secoiridoids compounds (Table 4).

The secoiridoids composition was characterized mainly by several isomers from oleuropein aglycone (3,4-DHPEA-EA), ligstroside aglycone (p-HPEA-EA), methyl oleuropein aglycone, but also by different derivatives of oleocanthal, oleacein, and elenolic acid. In line with the results obtained by Dierkes et al. [39], at least seven isomers of oleuropein aglycone and six isomers of ligstroside aglycone have been identified. According to the work of Cardoso et al. [40], several isomers of oleuropein and ligstroside are also present in oil mill wastewater and have

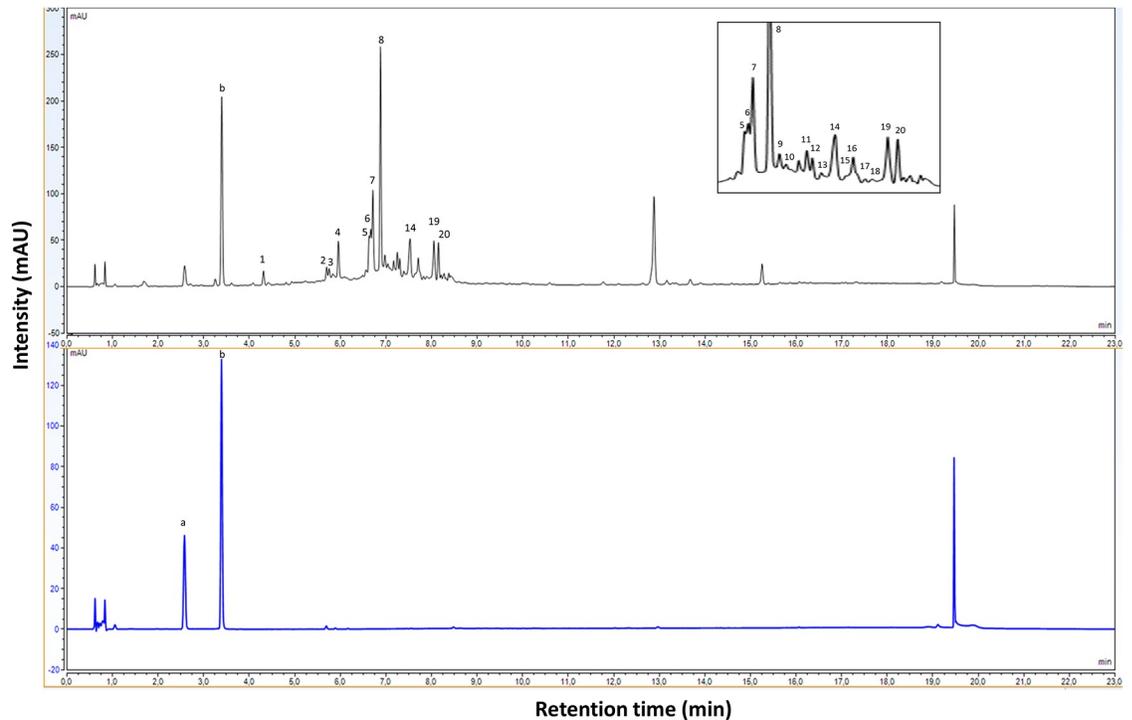


Fig 2. UHPLC chromatographs of olive oil phenolic extract and phenol standard peaks (a: Tyrosol, b: Syringic acid) detected at 280 nm.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.g002>

Table 4. HRMS-ESI data of the identified secoiridoids compounds in the EVOO samples.

Peak number	Secoiridoid compounds	RT [min]	Ion Formula	Meas. m/z	m/z	err [ppm]
1	Elenolic acid	4.43	C ₁₁ H ₁₃ O ₆	241.071	241.072	0.7
2	Oleuropein aglycon ₁	5.71	C ₁₉ H ₂₁ O ₈	377.125	377.124	-0.9
3	Oleuropein aglycon ₂	5.77	C ₁₉ H ₂₁ O ₈	377.125	377.124	-0.9
4	Oleuropein aglycon ₃	5.97	C ₁₉ H ₂₁ O ₈	377.125	377.124	-0.9
5	Oleacein	6.57	C ₁₇ H ₁₉ O ₆	319.119	319.119	-0.7
6	Ligstroside aglycon ₁	6.65	C ₁₉ H ₂₁ O ₇	361.130	361.129	-1.1
7	Ligstroside aglycon ₂	6.68	C ₁₉ H ₂₁ O ₇	361.130	361.129	-1.1
8	Ligstroside aglycon ₃	6.91	C ₁₉ H ₂₁ O ₇	361.130	361.129	-1.1
9	Oleuropein aglycon ₄	7.00	C ₁₉ H ₂₁ O ₈	377.124	377.124	-0.5
10	Dimethyl acetal of oleacein	7.12	C ₁₉ H ₂₅ O ₇	365.161	365.161	-0.8
11	Oleuropein aglycon ₅	7.23	C ₁₉ H ₂₁ O ₈	377.124	377.124	-0.1
12	Ligstroside aglycon ₄	7.27	C ₁₉ H ₂₁ O ₇	361.130	361.129	-0.4
13	Methyl oleuropein aglycon ₁	7.44	C ₂₀ H ₂₃ O ₈	391.140	391.140	-0.8
14	Oleuropein aglycon ₆	7.54	C ₁₉ H ₂₁ O ₈	377.124	377.124	-0.8
15	Oleuropein aglycon ₇	7.68	C ₁₉ H ₂₁ O ₈	377.124	377.124	-0.8
16	Ligstroside aglycon ₅	7.74	C ₁₉ H ₂₁ O ₇	361.130	361.129	-0.6
17	Dimethyl acetal of oleocanthal	7.79	C ₁₉ H ₂₅ O ₆	349.166	349.166	-0.3
18	Methyl oleuropein aglycon ₂	7.93	C ₂₀ H ₂₃ O ₈	391.140	391.140	-0.4
19	Ligstroside aglycon ₆	8.09	C ₁₉ H ₂₁ O ₇	361.130	361.129	-0.7
20	Methyl oleuropein aglycon ₃	8.20	C ₂₀ H ₂₃ O ₈	391.140	391.140	-0.9

The identification of the individual phenols was carried out by HPLC-MS. The relative retention time is calculated by comparing it to the retention time of syringic acid.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.t004>

explained this finding by different glycosylation positions found between the glucose unit and hydroxytyrosol or tyrosol, respectively. Other studies conducted on phenolic extracts of olive oil revealed the presence of diastereoisomers/geometrical isomers and stable enolic/dienolic tautomers that provide indirect structural confirmation for some isomers of the oleuropein aglycon [41, 42]. The analysis of the secoiridoids fraction (Table 4) indicated the presence of acetal form of oleocanthal and oleacein in the EVOO extracts. The latter are known for their high bioactivities and nutritional interest [10]. The formation of hemiacetal/acetal and derivatives occurs during the extraction phase due to the interaction of the protic solvent (water, methanol) with the two secoiridoids, as mentioned by Celano et al. [9]. According to de Medina et al. [43], LC separation with acidified methanol is the potential promoter of acetals and hemiacetals formation. Thus, these fractions have been limited by the use of acetonitrile as the mobile phase.

Secoiridoids content

Secoiridoids constitute the major fraction of the phenolic compounds in EVOO [9, 44]. Their contribution has been linked to the sensory attributes [39] and to several therapeutic properties of olive oil [10]. The data listed in Table 5, revealed that secoiridoids amount represents 60 to 90% of the total individual biophenols of EVOO samples.

Table 5. Secoiridoids and total biophenols content (mg Tyrosol equivalent/kg) of EVOO samples.

Varieties	Harvest date	Elenolic acid	Oleuropein aglycon and isomers	Ligstroside aglycon and isomers	Oleacein and derivative	Oleocanthal and derivative	Methyl oleuropein aglycon	Total secoiridoids	Total Biophenols HPLC
Chemlal	H1	21.88 ± 0.16 _{b,v}	31.07 ± 3.27 _{b,v}	79.41 ± 7.68 _{b,v}	3.50 ± 0.72 _{a,v}	1.46 ± 0.99 _{b,v}	42.87 ± 2.8 _{b,v}	180.21 ± 14.96 _{b,v}	199.54 ± 4.47 _{b,v}
Chemlal	H2	8.77 ± 0.85 _{b,w}	30.82 ± 6.95 _{b,v}	110.20 ± 23.60 _{b,v}	4.68 ± 1.41 _{a,v}	4.68 ± 0.44 _{b,v}	10.03 ± 7.31 _{b,v}	169.20 ± 26.90 _{b,vw}	188.24 ± 23.32 _{b,v}
Chemlal	H3	4.57 ± 0.96 _{b,w}	12.18 ± 1.08 _{b,v}	23.14 ± 5.25 _{b,v}	0.57 ± 0.08 _{a,w}	2.33 ± 0.10 _{b,v}	22.72 ± 2.19 _{b,v}	65.50 ± 8.02 _{b,wx}	95.91 ± 8.49 _{b,vw}
Chemlal	H4	4.77 ± 0.60 _{b,w}	11.63 ± 1.22 _{b,v}	15.13 ± 2.00 _{b,v}	0.33 ± 0.04 _{a,w}	2.60 ± 0.17 _{b,v}	18.94 ± 2.34 _{b,v}	53.41 ± 6.37 _{b,x}	68.08 ± 1.32 _{b,w}
Limli	H1	37.32 ± 1.93 _{a,v}	19.92 ± 1.58 _{b,v}	50.38 ± 4.98 _{c,v}	1.96 ± 0.48 _{a,v}	12.15 ± 1.01 _{a,v}	50.66 ± 4.58 _{a,v}	172.39 ± 14.38 _{b,v}	190.17 ± 10.88 _{b,v}
Limli	H2	15.25 ± 1.63 _{a,w}	16.44 ± 1.18 _{b,v}	19.56 ± 1.85 _{c,v}	1.80 ± 0.11 _{a,v}	10.51 ± 1.04 _{a,v}	58.93 ± 5.79 _{a,v}	122.49 ± 11.37 _{b,vw}	159.88 ± 15.27 _{b,v}
Limli	H3	16.64 ± 0.17 _{a,w}	16.45 ± 0.63 _{b,v}	20.27 ± 0.94 _{c,v}	1.64 ± 0.02 _{a,w}	10.96 ± 0.13 _{a,v}	57.27 ± 0.56 _{a,v}	123.23 ± 1.59 _{b,wx}	161.83 ± 1.55 _{b,vw}
Limli	H4	6.99 ± 0.97 _{a,w}	15.67 ± 1.22 _{b,v}	17.22 ± 1.86 _{c,v}	1.32 ± 0.09 _{a,w}	8.93 ± 0.62 _{a,v}	40.99 ± 3.74 _{a,v}	91.13 ± 8.42 _{b,x}	113.09 ± 4.66 _{b,w}
Oleaster	H1	8.10 ± 0.37 _{b,v}	37.52 ± 8.20 _{a,v}	124.21 ± 10.51 _{a,v}	3.80 ± 0.62 _{a,v}	0.33 ± 0.57 _{c,v}	11.11 ± 0.89 _{c,v}	185.10 ± 19.90 _{a,v}	205.23 ± 15.72 _{a,v}
Oleaster	H2	12.25 ± 3.41 _{b,w}	28.88 ± 4.95 _{a,v}	124.10 ± 22.30 _{a,v}	2.14 ± 0.46 _{a,v}	0.00 ± 0.00 _{c,v}	12.29 ± 1.68 _{c,v}	179.60 ± 31.50 _{a,vw}	217.90 ± 34.00 _{a,v}
Oleaster	H3	12.17 ± 0.49 _{b,w}	38.15 ± 6.34 _{a,v}	120.23 ± 9.82 _{a,v}	1.50 ± 0.48 _{a,w}	0.00 ± 0.00 _{c,v}	13.36 ± 0.51 _{c,v}	185.41 ± 17.29 _{a,wx}	216.50 ± 17.50 _{a,vw}
Oleaster	H4	8.80 ± 0.27 _{b,w}	32.95 ± 1.28 _{a,v}	110.13 ± 4.98 _{a,v}	1.59 ± 0.54 _{a,w}	0.00 ± 0.00 _{c,v}	9.09 ± 0.18 _{c,v}	162.56 ± 6.52 _{a,x}	185.48 ± 5.12 _{a,w}

Mean ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$),

^{a-c} refers the varietal effect and

^{v-x} to the Harvest time effect.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.t005>

Besides, Aglycon forms of ligstroside and oleuropein are the most abundant secoiridoids in the oil samples. According to other researches [41, 45, 46], they are generated by the enzymatic deglycosylation of the ligstroside and oleuropein (abundantly present in the olive) during the oil processing and extraction phases. As for the total phenol, the concentration of individual secoiridoids are influenced by different environmental factors [31, 44]. Thus, oils from Oleaster were characterized by a higher amount of 3,4-DHPEA-EA (28.88–37.52mg/kg), p-HPEA-EA (110.13–124.21mg/kg), total secoiridoids (162.56–185.41mg/kg) and total biophenols (185.48–217.9mg/kg) than the cultivated oils. According to Pérez et al. [46], the genetic component is one of the main factors shaping the phenolic composition of monovarietal olive oil. This result is in agreement with other researches on Algerian varieties [29, 37]. Besides, the oils extracted from Chemlal and Limli cultivars showed high level of elenolic acid, oleocanthal and methyl oleuropein aglycon. The ANOVA test confirmed the significant ($P \leq 0.05$) influence of the genetic factor on the secoiridoids profile of EVOO. In regard with the ripening process, the majority of individual and total secoiridoids presented a significant and similar decrease ($P \leq 0.05$), notably by a low levels recorded at the last harvest date. Comparable trends have been observed in others researches [29].

Antiradical activity and antioxidant capacity

The antioxidant capacity depends on composition and the amount of phenolic and non-phenolic bioactive compounds in the EVOO samples, which are influenced considerably by the change of olive variety and maturation [13, 35]. Hence, high significant differences ($P \leq 0.001$) were observed between the varieties (Table 3). According to the results reported by Bouarroudj et al. [29], the Oleaster extracts were distinguished from the cultivated oils by a strong antioxidant capacity, that remains more stable and higher over advanced ripening stage, and confirmed by ratios ranging from 89.93 to 74.66%, 79.84 to 24.17% and 61.95 to 18.39% in Oleaster, Chemlal and Limli oil samples, respectively. Moreover, the antiradical activities decrease significantly ($P \leq 0.001$) across the maturation process, and their values registered the fall of more than 30% in DDHP radical scavenging capacity within Chemlal and Limli EVOOs extracts, and almost 18% in Oleaster extracts (vary from 0.503 to 0.419 mg TE/ml) at the final harvest date. In line with other studies on this field [8, 29, 47], the total secoiridoids and biophenols were correlated positively (respectively by $r^2 = 0.777, 0.722, p < 0.05$) with the antioxidant activity during the ripening process (S1 Table). Thus, indicate clearly that extracts from the earliest harvest date have the best anti-free radical activity against the DPPH radical. Consumption of oil with higher levels of natural antioxidants is more suitable for limiting the incidence of cardiovascular disease [48].

PCA results

The chemometrics of principal component analysis (PCA) was performed on the most important oil parameters to define the possible interactions between the different EVOO samples and the main correlations among the variables. The PCA results (Fig 3) show that total variance of 61.5% were explained by the first factor (PC1) and the second factor (PC2), which account for 35.2 and 26.3% of variance, respectively.

The variable that more contributes to the first component are C18:1, C18:1/C18:2, MUFA/SFA, MUFA/PUFA, TPC, OA, LA which are correlated positively and K232, C18:2, OLEO, MOA, that associated negatively. Most of the remaining variables, C16:0, Ch, Ca, OLEA, EA, TSC, TBP, DPPH% were negatively correlated with the second component PC2, except for C18:1 and FFA, which were positively related (S2 Table). The score plot presented in Fig 3, segregate the different oils samples, according to the PC1, in two distinct groups. The score graph shows that the Oleaster oils were clustered in the right half of the score plot, distinguished by

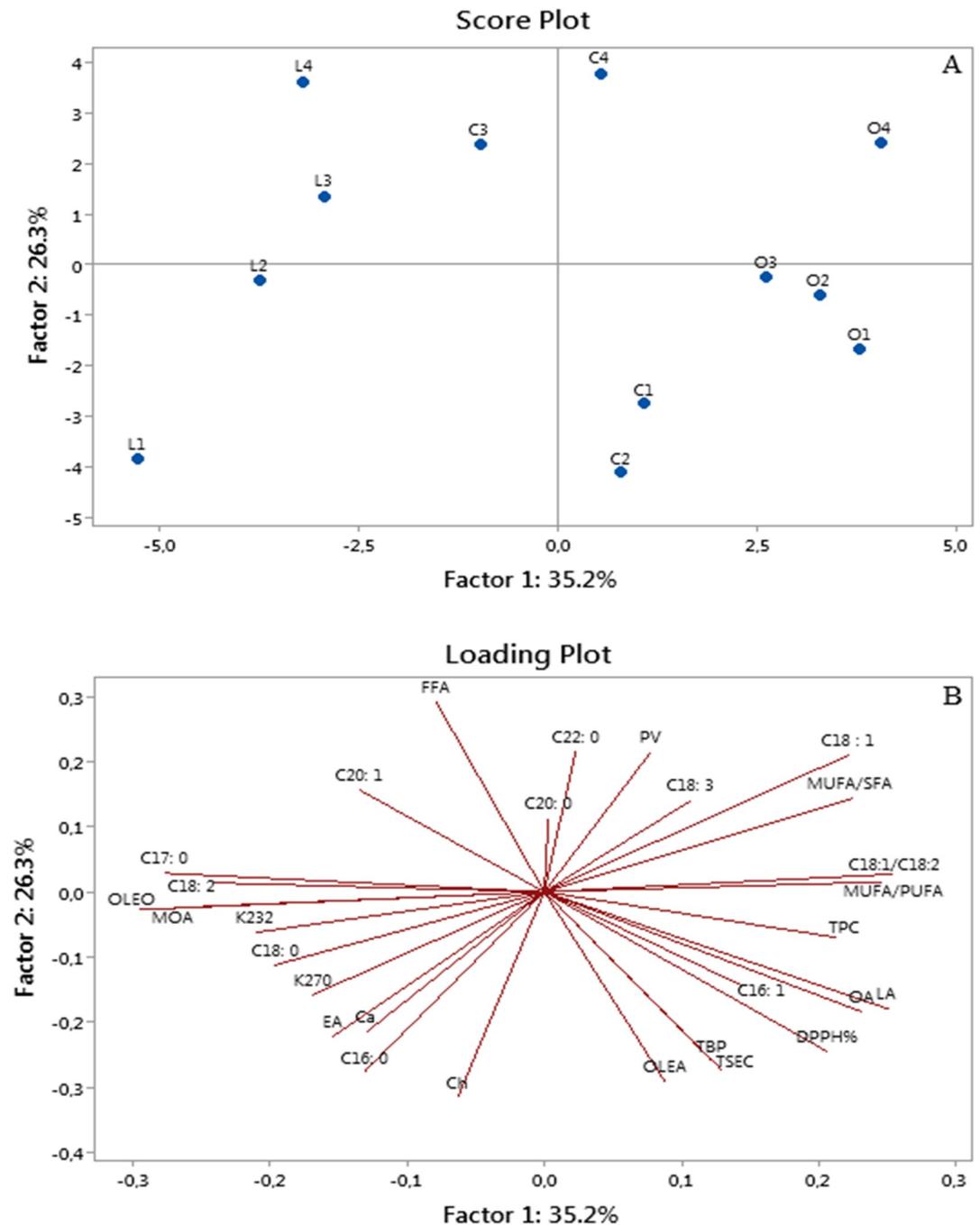


Fig 3. PCA analysis on the most important olive oil parameters. A: Distribution of oil samples based on the variables adopted, B: Vector distribution of variables. Factor 1 and factor 2 explain 61.5% of the total variation. FFA: Free fatty acids, PV: Peroxide value, Ch: Chlorophylls, Ca: Carotenoids, OA: Oleuropein aglycon, LA: Ligstroside aglycon, OLEA: Oleocanthal, OLEA: Oleacein, MOA: Methyl oleuropein aglycon, EA: Elenolic acid, TSEC: Total secoiridoids, TBP: Total Biophenols HPLC. In the score plot graph (B), the letters L, C, and O refer to the varieties Limli, Chemlal, and Oleaster, respectively, and the numbers 1–4 indicate the different harvest dates.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260182.g003>

variables positively correlated with PC1 and also projected in the right side of the loading graph. In other hand, the Limli samples are grouped in the left half of the plot, which are overlapped with the negatives variables (K232, C18:2, OLEO, MOA. . .) of the loading plot. Besides, Fig 3 showed a non-clear separation for Chemlal samples, with the latter being distributed between Limli and Oleaster groupings. This particular behavior provided by the specific variation in Chemlal oil parameters may be due to the rapid ripening process of the Chemlal fruit (Fig 1), which causes a sharp drop in several oil compounds. Therefore, large gap was observed between the early harvest H1 and H2 samples and those of the H3 and H4 harvests for Chemlal variety in terms of their secoiridoids contents such as oleacein, oleuropein aglycone, and ligstroside aglycone (Table 5) was observed. Another interesting point that might be raised is that monounsaturated fatty acids seem to be responsible for the localisation of Oleaster oils at high PC1 values, whereas saturated fatty acids are particularly relevant in the Limli samples. These observations are in agreement with the fatty acid data in Table 2. Again, the Chemlal samples are clearly different from the other varieties, with the long chain saturated fatty acids being relevant when the late harvest is performed.

In sum, the PC1 was able to allocate the oil samples according to their varietal characteristics. The second largest of variable variation PC2 allowed to separate the oils samples according to their harvest date, therefore it can be seen that the dots C1, C2, L1, O1 representing the early harvest dates are sorted into the lower PCA quadrant, which characterized by high level of total secoiridoids, biophenols, and better antioxidant activity. On the other hand, L3, L4, C3, C4 and O4, which represent the last harvest dates, are projected on the upper quadrant, marked by lower levels in the previous variables. The results obtained from the PCA analysis are in line with the observations previously reported on the parameters under study and offer a more precise view of the contribution of the variety and maturity factors to the characterization and quality of olive oil.

Conclusion

This investigation on one of the main dietary intakes has led to a better understanding of the effect of changes in varietal source and fruit ripening on the quality of virgin olive oil. The influence of both factors was observed in the considerable differences between the oil samples in terms of oil quality indices (Acidity, Peroxide, K232, and K270), pigment content, fatty acid profile, phenolic content, and antioxidant activity. Thus, the extracts of wild olive oils were characterized by a higher level of bioactive compounds and strong antiradical scavenging capacity, which are probably due to the exceptional adaptation of Oleaster trees to environmental conditions. Moreover, late harvest dates generally have a negative effect on olive oil quality, observed by a significant decrease in chlorophyll, carotenoid, total phenol, secoiridoids content, and antiradical scavenging activity. The variation of antioxidant capacity of the oil samples was strongly correlated with their content on the phenolic compound, particularly the secoiridoids fraction that represents approximately 60–90% of total biophenols. The composition of the latter was dominated by a profile rich in several isomers of oleuropein and ligstroside aglycons, detected by a rapid and efficient method that relies on UHPLC-DAD and the negative electrospray ionisation (ESI) mode of the UHR-Q-TOF mass spectrometer. The aglycon form of oleuropein and ligstroside represent more than 60% of the total secoiridoids in both cultivated and wild varieties. The chemometrics approach of discriminant analysis (PCA) provided a better observation on the variations of the olive oil composition according to the studied factors. According to this analysis, secoiridoids and fatty acid profiles were the most important components contributing to the discrimination between olive oil samples. Further studies are needed for a more precise characterisation of the individual secoiridoids composition of olive oil, including a broader understanding of the process of generation of acetal and

hemiacetal forms; elucidation of this mechanism will contribute to better detection and estimation of the content of certain compounds, such as oleocanthal and oleacein.

Supporting information

S1 Table. Pearson correlation matrix of the secoiridoids compounds and inhibition percentage (DPPH%). The correlation test has been carried out with confidence level of 95%. OA: Oleuropein aglycon, LA: Ligstroside aglycon, OLEA: Oleocanthal, OLEA: Oleacein, MOA: Methyl oleuropein aglycon, EA: Elenolic acid, TSEC: Total secoiridoids, TBP: Total Biophenols HPLC. (DOCX)

S2 Table. X-loadings of the different olive oil variables according to principal components 1 and 2. The PCA analysis on 29 parameters of virgin olive oil showed that the first two principal components (PC1 and PC2) were sufficient to display the data structure. PC1 and PC2 account for 35.2 and 26.3% of the variance, respectively. (DOCX)

Acknowledgments

The authors wish to thank the Technical Institute of Fruit and Vine Arboriculture of Sidi-Aich, Algeria, for providing the mini oil mill for olive oil samples extraction.

Author Contributions

Conceptualization: Massinissa Faci, Malika Douzane, Mariem Hedjal, Eric Lesellier.

Data curation: Massinissa Faci, Malika Douzane, Mariem Hedjal, Mohamed Seghir Daas, Laëtitia Fougere, Eric Lesellier.

Formal analysis: Massinissa Faci.

Funding acquisition: Eric Lesellier.

Investigation: Massinissa Faci, Mohamed Seghir Daas, Laëtitia Fougere.

Methodology: Massinissa Faci, Malika Douzane, Eric Lesellier.

Project administration: Malika Douzane, Eric Lesellier.

Resources: Malika Douzane.

Supervision: Malika Douzane, Mariem Hedjal, Eric Lesellier.

Validation: Malika Douzane, Mariem Hedjal, Mohamed Seghir Daas, Laëtitia Fougere, Eric Lesellier.

Visualization: Massinissa Faci, Malika Douzane, Eric Lesellier.

Writing – original draft: Massinissa Faci, Malika Douzane.

Writing – review & editing: Massinissa Faci, Malika Douzane, Mariem Hedjal, Mohamed Seghir Daas, Laëtitia Fougere, Eric Lesellier.

References

1. Rondanini D, Castro D, Searles P, Rousseaux M. Contrasting patterns of fatty acid composition and oil accumulation during fruit growth in several olive varieties and locations in a non-Mediterranean region. *European Journal of Agronomy*. 2014; 52: 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.09.002>

2. Guasch-Ferré M, Zong G, Willett WC, Zock PL, Wanders AJ, Hu FB, et al. Associations of monounsaturated fatty acids from plant and animal sources with total and cause-specific mortality in two US prospective cohort studies. *Circulation research*. 2019; 124: 1266–1275. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313996> PMID: 30689516
3. Summerhill V, Karagodin V, Grechko A, Myasoedova V, Orekhov A. Vasculoprotective Role of Olive Oil Compounds via Modulation of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2018; 5: 188. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00188> PMID: 30622950
4. Valenzuela R, Videla LA. Impact of the co-administration of N-3 fatty acids and olive oil components in preclinical nonalcoholic fatty liver disease models: a mechanistic view. *Nutrients*. 2020; 12: 499. <https://doi.org/10.3390/nu12020499> PMID: 32075238
5. Casas R, Estruch R, Sacanella E. The protective effects of extra virgin olive oil on immune-mediated inflammatory responses. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2018; 18: 23–35. <https://doi.org/10.2174/1871530317666171114115632> PMID: 29141575
6. IOC 2015. Document COI/T.15/NC n° 3/Rev 8. Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils. International Olive Oil Council, Madrid.
7. Bengana M, Bakhouch A, Lozano-Sánchez J, Amir Y, Youyou A, Segura-Carretero A, et al. Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra virgin olive oil. *Food Research International*. 2013; 54: 1868–1875. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.037>
8. Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerretani L, Bendini A, Lercker G, et al. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*. 2008; 109: 743–754. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.034> PMID: 26049987
9. Celano R, Piccinelli AL, Pugliese A, Carabetta S, di Sanzo R, Rastrelli L, et al. Insights into the Analysis of Phenolic Secoiridoids in Extra Virgin Olive Oil. *J Agric Food Chem*. 2018; 66: 6053–6063. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01751> PMID: 29800514
10. Lozano-Castellón J, López-Yerena A, de Alvarenga JFR, del Castillo-Alba JR, Vallverdú-Queralt A, Escribano-Ferrer E, et al. Health-promoting properties of oleocanthal and oleacein: Two secoiridoids from extra-virgin olive oil. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020; 60: 2532–2548. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650715> PMID: 31423808
11. Oliveras-López MJ, Innocenti M, Giaccherini C, Ieri F, Romani A, Mulinacci N. Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Talanta*. 2007; 73: 726–732. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.04.045> PMID: 19073094
12. Obied HK, Bedgood DR, Prenzler PD, Robards K. Chemical screening of olive biophenol extracts by hyphenated liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 2007; 603: 176–189. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.09.044> PMID: 17963838
13. Laincer F, Laribi R, Tamendjari A, Arrar L, Rovellini P, Venturini S. Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y aceites*. 2014; 65: e001–e001. <https://doi.org/10.3989/gya.035713>
14. Tura D, Gigliotti C, Pedò S, Failla O, Bassi D, Serraiocco A. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea L.*) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*. 2007; 112: 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.12.036>
15. Mafrica R, Piscopo A, De Bruno A, Poiana M. Effects of Climate on Fruit Growth and Development on Olive Oil Quality in Cultivar Carolea. *Agriculture*. 2021; 11: 147. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020147>
16. Guerrini L, Masella P, Angeloni G, Zanoni B, Breschi C, Calamai L, et al. The effect of an increase in paste temperature between malaxation and centrifugation on olive oil quality and yield: Preliminary results. *Italian Journal of Food Science*. 2019; 31: 451–458. <https://doi.org/10.14674/IJFS-1393>
17. IOC 2011. Document COI/OH/Doc. No 1. Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile. International Olive Oil Council, Madrid.
18. ISO 660. Animal and vegetable fats and oils- Determination of acid value and acidity, 2009.
19. IOC 2015. Document COI/T.20/Doc. No 19/Rev. 3. spectrophotometer investigation in the ultraviolet. International Olive Oil Council, Madrid.
20. IOC 2016. Document COI/T.20/Doc. No. Determination of peroxide value. International Olive Oil Council, Madrid.
21. ECC 1991. Commission regulation (EEC) No 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Communities*.

22. Minguez-Mosquera MI, Rejano-Navarro L, Gandul-Rojas B, Sanchez-Gomez AH, Garrido-Fernandez J. Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1991; 68: 332–336. <https://doi.org/10.1007/BF02657688>
23. IOC 2017. Document COI/T.20/Doc No 29/Rev1. Determination of biophenols in olive oils by hplc. International Olive Oil Council, Madrid.
24. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965; 16: 144–158.
25. Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*. 2005; 90: 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.013>
26. Salvador MD, Aranda F, Fregapane G. Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*. 2001; 73: 45–53. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00276-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00276-4)
27. Conde C, Delrot S, Gerós H. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*. 2008; 165: 1545–1562. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.04.018> PMID: 18571766
28. Dag A, Kerem Z, Yogev N, Zipori I, Lavee S, Ben-David E. Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae*. 2011; 127: 358–366. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.11.008>
29. Bouarroudj K, Tamendjari A, Larbat R. Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and Products*. 2016; 83: 484–491. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.081>
30. Douzane M, Nouani A, Dako E, Bellal M. Influence of the variety, the crop year and the growing on the fatty acid and tocopherols composition of some Algerian virgin olive oils. *AJAR*. 2012; 7: 4738–4750.
31. Djelloul MCB, Amrani SM, Rovellini P, Chenoune R. Phenolic compounds and fatty acids content of some West Algerian olive oils. *Com Sci*. 2020; 11: e3247–e3247. <https://doi.org/10.14295/cs.v11i10.3247>
32. Beltrán G, del Rio C, Sánchez S, Martínez L. Influence of Harvest Date and Crop Yield on the Fatty Acid Composition of Virgin Olive Oils from Cv. Picual. *J Agric Food Chem*. 2004; 52: 3434–3440. <https://doi.org/10.1021/jf049894n> PMID: 15161211
33. Yorulmaz A, Erinc H, Tekin A. Changes in olive and olive oil characteristics during maturation. *J Am Oil Chem Soc*. 2013; 90: 647–658. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2210-7>
34. Desouky IM, Haggag LF. Changes in some physical and chemical properties of fruit and oil in some olive oil cultivars during harvesting stage. *World J. Agric. Sci*. 2009; 5.6: 760–765.
35. Zaringhalami S, Ebrahimi M, Piravi Vanak Z, Ganjloo A. Effects of cultivar and ripening stage of Iranian olive fruit on bioactive compounds and antioxidant activity of its virgin oil. *International Food Research Journal*. 2015; 22.5: 1961–1967.
36. Dabbou S, Sifi S, Rjiba I, Esposto S, Taticchi A, Servili M, et al. Effect of pedoclimatic conditions on the chemical composition of the Sigoise olive cultivar. *C&B*. 2010; 7: 898–908.
37. Boucheffa S, Miazzi MM, di Rienzo V, Mangini G, Fanelli V, Tamendjari A, et al. The coexistence of oleaster and traditional varieties affects genetic diversity and population structure in Algerian olive (*Olea europaea*) germplasm. *Genet Resour Crop Evol*. 2017; 64: 379–390. <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0365-4>
38. Machado M, Felizardo C, Fernandes-Silva AA, Nunes FM, Barros A. Polyphenolic compounds, antioxidant activity and l-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. "Cobrançosa" under different irrigation regimes. *Food Research International*. 2013; 51: 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.056>
39. Dierkes G, Krieger S, Dück R, Bongartz A, Schmitz OJ, Hayen H. High-Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Profiling of Phenolic Compounds for Evaluation of Olive Oil Bitterness and Pungency. *J Agric Food Chem*. 2012; 60: 7597–7606. <https://doi.org/10.1021/jf3020574> PMID: 22804690
40. Cardoso SM, Falcão SI, Peres AM, Domingues MRM. Oleuropein/ligstroside isomers and their derivatives in Portuguese olive mill wastewaters. *Food Chemistry*. 2011; 129: 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.049> PMID: 30634229
41. Abbattista R, Losito I, Castellaneta A, De Ceglie C, Calvano CD, Cataldi TRI. Insight into the Storage-Related Oxidative/Hydrolytic Degradation of Olive Oil Secoiridoids by Liquid Chromatography and High-Resolution Fourier Transform Mass Spectrometry. *J Agric Food Chem*. 2020; 68: 12310–12325. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04925> PMID: 33103891
42. Abbattista R, Losito I, De Ceglie C, Castellaneta A, Calvano CD, Palmisano F, et al. A comprehensive study of oleuropein aglycone isomers in olive oil by enzymatic/chemical processes and liquid

- chromatography-Fourier transform mass spectrometry integrated by H/D exchange. *Talanta*. 2019; 205: 120107. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.07.002> PMID: 31450415
43. de Medina VS, Miho H, Melliou E, Magiatis P, Priego-Capote F, de Castro MDL. Quantitative method for determination of oleocanthal and oleacein in virgin olive oils by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta*. 2017; 162: 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.09.056> PMID: 27837824
 44. Hachicha Hbaieb R, Kotti F, Gargouri M, Msallem M, Vichi S. Ripening and storage conditions of Chétoui and Arbequina olives: Part I. Effect on olive oils volatiles profile. *Food Chemistry*. 2016; 203: 548–558. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.089> PMID: 26948650
 45. Romero-Segura C, García-Rodríguez R, Sánchez-Ortiz A, Sanz C, Pérez AG. The role of olive β -glucosidase in shaping the phenolic profile of virgin olive oil. *Food Research International*. 2012; 45: 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.024>
 46. Pérez AG, León L, Pascual M, Romero-Segura C, Sánchez-Ortiz A, de la Rosa R, et al. Variability of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds in a Segregating Progeny from a Single Cross in *Olea europaea* L. and Sensory and Nutritional Quality Implications. *PLOS ONE*. 2014; 9: e92898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092898> PMID: 24651694
 47. Rotondi A, Bendini A, Cerretani L, Mari M, Lercker G, Toschi TG. Effect of Olive Ripening Degree on the Oxidative Stability and Organoleptic Properties of Cv. Nostrana di Brisighella Extra Virgin Olive Oil. *J Agric Food Chem*. 2004; 52: 3649–3654. <https://doi.org/10.1021/jf049845a> PMID: 15161244
 48. Silenzi A, Giovannini C, Scazzocchio B, Vari R, D'Archivio M, Santangelo C, et al. Extra virgin olive oil polyphenols: Biological properties and antioxidant activity. *Pathology*. Academic Press. 2020; 225–233.

عصير فاكهة	عالية	بيولوجيًا، يعتبر زيت الزيتون	الدهون
استهلاكًا	الأبيض	هذا .	بيولوجيا
لزيت الزيتون،	() .	أجريت	.
هدفت	تحديد التأثير	البساتين	الفاكهة والزيت الزيتون
لصنفين المحليين ()	() .	الزيتون	بساتين
110 320 490	المشهورة	الزيتون ()	أظهرت
تميز جيد بين	بتشكيلة	الدهون الثلاثية	الدهنية. تحليل PCA
الرئيسية	دهون زيت الزيتون،	التركيب المتميز	بحساسيات
للتغيرات	أظهرت .	تحليل التوكوفيرول الفردية،	يهيمن عليها 90
توكوفيرول	زيادة	للزيوت	إيجابيا التباينات
التوكوفيرول	الدهنية الأحادية غير	وتغيرات	.
تأثير	الزيتون	تركيبة زيت الزيتون،	الفينولات. عينات زيت
صنفين مزروعين ()	(أوليستر)	زيوتًا غنية	شبه
البويرة،	أظهرت .	المحاصيل	الفينولية.
الفينولية لهذه الزيوت	البرية	.	.
أظهرت جميع عينات الزيت قيمًا عالية	السيكوريدويد،	90-60	الفينولات
(DPPH) الحيوية.	هذه الكميات الكبيرة،	زيوت البرية،	لهجوم
تركيبة السيكوريدويد يهيمن عليها	تعريف	UHPLC-HRMS	UHPLC-DAD أظهرت تحليلات
هذه	60	oleuropein aglycon ligstroside aglycon	أيزومرات
سيكوريدويد	زيوت الزيتون.	الرئيسية،	الفينولية
الدهنية أهم	ساهمت	التمييز بين عينات زيت الزيتون.	.
الكلمات المفتاحية :			
زيوت الزيتون،	بيولوجيا،	البساتين،	.

Résumé

Pur jus de fruit à haute teneur en composés bioactifs, l'huile d'olive est l'une des sources de matières grasses les plus consommées en Algérie et dans le bassin méditerranéen. Ce travail de recherche est consacré à la caractérisation des composés bioactifs des huiles d'olive, provenant des variétés dominantes de la région à vocation oléicole de Kabylie (Algérie). Deux études distinctes mais complémentaires ont été menées. La première étude visait à déterminer l'effet combiné de la période de récolte et de l'altitude de la culture sur la qualité des fruits et de l'huile de deux cultivars endémiques d'Algérie (*Chemlal* et *Azeradj*). Les olives ont été récoltées à quatre stades de maturation différents dans des vergers situés à 110m, 320m et 490m d'altitude, dans la région oléicole de Kabylie, au nord de l'Algérie. Les résultats ont montré une bonne discrimination entre les variétés qui étaient caractérisées par un profil spécifique en triglycérides et en acides gras. L'analyse en composantes principales (ACP), effectuée sur les composés lipidiques de l'huile d'olive, a permis de corrélérer la composition distincte de chaque cultivar avec les différentes sensibilités variétales aux changements de l'altitude et de la maturation. Les tocophérols individuels, dominés par l' α -tocophérol (90%), ont montré une diminution remarquable avec la progression de la maturité. La stabilité oxydative des huiles était positivement corrélée aux variations des tocophérols et des acides gras monoinsaturés, au cours de la maturation et des changements de l'altitude. La deuxième partie de notre recherche a été consacrée à l'étude de l'influence du facteur génétique et la maturation des olives sur la composition de l'huile d'olive, en particulier les sécoiridoïdes. Des échantillons d'huile de deux variétés cultivées (*Chemlal* et *Lemli*) et d'une variété sylvestris (*Oléastre*) ont été collectés à quatre périodes de récolte différentes, dans la région semi-aride de Bouira, en Algérie. L'étude a montré que les dates précoces de récolte des fruits ont produit des huiles plus riches en pigments et en composés phénoliques. Les extraits phénoliques de ces huiles ont également une activité antioxydante élevée enregistrée chez les variétés cultivées et les oléastres. En outre, tous les échantillons d'huile ont montré des valeurs élevées en sécoiridoïdes, dépassant 60-90% des biophénols totaux. Ces quantités élevées, trouvées dans les huiles d'oléastre, ont été corrélées avec une plus grande résistance aux attaques des radicaux libres (DPPH). Les analyses UHPLC-DAD et UHPLC-HRMS ont montré que la composition des sécoiridoïdes est dominée par un profil riche en plusieurs isomères de l'oleuropéine et de ligstroside aglycones. Ces derniers représentent plus de 60% des sécoiridoïdes totaux dans les huiles d'olive et d'oléastre. Selon l'analyse en composantes principales, les profils phénoliques et d'acides gras étaient les composantes les plus importantes, contribuant à la discrimination entre les échantillons d'huile d'olive.

Mots – clés : Variété dominantes, Huile d'olive, Composés bioactifs, Stade de maturité, Altitude, Kabylie.

Abstract

Pure fruit juice with high content of bioactive compounds, olive oil is one of the most consumed sources of fat in Algeria and in the Mediterranean basin. This research work is devoted to the characterization of bioactive compounds of olive oils, coming from the dominant varieties of the olive growing region of Kabylia (Algeria). Two distinct but complementary studies were conducted. The first study aimed to determine the combined effect of harvest time and crop altitude on fruit and oil quality of two endemic Algerian cultivars (*Chemlal* and *Azeradj*). Olives were harvested at four different ripening stages in orchards located at 110m, 320m and 490m altitude; in the olive growing region of Kabylie, northern Algeria. The results showed a good discrimination between the varieties, which were characterized by a specific profile in triglycerides and fatty acids. Principal component analysis (PCA), performed on olive oil lipid compounds, correlated the distinct composition of each cultivar with different varietal sensitivities to changes in altitude and ripening. The individual tocopherols, dominated by α -tocopherol (90%), showed a remarkable decrease with increasing ripeness. The oxidative stability of the oils was positively correlated with the variations of tocopherols and monounsaturated fatty acids, during ripening and altitude changes. The second part of our research was devoted to the study of the influence of the genetic factor and the olives ripening on the composition of olive oil, especially the secoiridoids. Oil samples of two cultivated varieties (*Chemlal* and *Lemli*) and one sylvestris variety (*Oleaster*) were collected at four different harvesting periods, in the semi-arid region of Bouira, Algeria. The study showed that earlier harvests produced oils rich in pigments and phenolic compounds. The phenolic extracts of these oils also had high antioxidant activity recorded in both wild and cultivated varieties. In addition, all oil samples showed high values of secoiridoids, exceeding 60-90% of total biophenols. These high amounts, found in the *oleaster* oils, were correlated with a higher resistance to free radicals attack (DPPH). UHPLC-DAD and UHPLC-HRMS analyses showed that secoiridoids composition is dominated by a profile rich in several oleuropein isomers and ligstroside aglycones. The latter represent more than 60% of total secoiridoids in olive and *oleaster* oils. According to the principal component analysis, phenolic and fatty acid profiles were the most important components, contributing to the discrimination between olive oil samples.

Key words : Dominant varieties, Olive oil, Bioactifs compounds, Maturity, Altitude, Kabylia.