

I- HISTOIRE DE LA CULTURE DE L'OLIVIER

L'olivier est l'un des plus importants arbres fruitiers et les plus anciens (Standish, 1960). Il marque la route menant vers un stade supérieur de la civilisation. L'olivier était bien connu dans le bassin méditerranéen il y a plusieurs milliers d'années. Des fossiles de feuilles d'*Olea* ont été trouvés dans des dépôts carbonifères datant de l'Oligocène dans la ville de Kymi sur l'île grecque d'Eubée. Des feuilles d'oliviers fossiles datant du Paléolithique et Néolithique (37.000 avant JC) ont également été révélées sur l'île de Santorin en Grèce (Therios, 2009) et d'autres dans les strates du Crétacé de la Provence en France et en Afrique du Nord. Par ailleurs, des grains de pollen d'olive apparaissent autour de l'an 6000 avant JC en Épire en Grèce occidentale et autour de l'an 3200 avant JC en Thessalie au Centre-Est de la Grèce.

La culture de l'olivier a été étroitement liée à la gloire et au déclin des civilisations avancées. Les Phéniciens ont cultivé l'olivier dans les rives de la Méditerranée de l'Afrique et de l'Europe du Sud. Par conséquent, la culture d'olivier s'est élargie pour le sud de l'Italie, la Sicile, la Corse et la Sardaigne. Par ailleurs, des olives ont été trouvées dans les tombes égyptiennes datant de 2000 avant JC. Plus tard, les empereurs romains ont protégé la culture de l'olivier par des lois, et les pays comme le **Maroc**, l'Espagne, la Tunisie et l'Italie étaient les sources les plus importantes d'huile d'olive pour l'Empire romain. La même protection pour les oliviers a été fournie par les empereurs de Byzance, ainsi que par les Arabes.

II- L'OLIVE : ORIGINE ET CLASSIFICATION

L'olive est originaire de la région méditerranéenne, de l'Asie tropicale et centrale et de diverses parties de l'Afrique. Le genre *Olea* comprend au moins 30 à 35 espèces appartenant à la famille des Oléacées et sous-famille Oleoideae ($x = 23$). L'olivier cultivé (*Olea europaea* L.) est un arbre à feuilles persistantes provenant d'espèces tropicales et subtropicales.

Dans la zone méditerranéenne et au sein de la zone tropicale, la sécheresse et les glaciers durant la période du Pléistocène constituait un moyen de la sélection naturelle pour les plantes. Les glaciers ont probablement réduit la population de l'olivier initiale, et seules les plantes avec la capacité de survivre à des températures comprises entre -5 et -12° C ont survécu.

La longévité de l'olivier peut expliquer la grande variabilité parmi ses espèces. On croit que les génotypes qui ont été croisés sous diverses conditions climatiques constituent aujourd'hui

l'espèce *O. europaea*. Selon les résultats expérimentaux récents, une variation génotypique significative existe parmi les plantes de la même variété; la diversité génétique a été étudiée par Angiolillo *et al.* (1999), et les relations phylogénétiques entre les espèces *Olea* par Ouazzani *et al.* (1993) et Baldoni *et al.* (2002). Les variétés tolérantes au froid sont présentes dans les régions septentrionales de la culture d'olive, bien que des étés secs et des hivers doux sont les conditions climatiques les plus appropriées pour les oliviers.

L'olivier provenant de la Méditerranée orientale est l'une des cultures les plus anciennes, appartenant à la famille des Oléacées avec 30 genres, parmi lesquels il y a certaines plantes décoratives. La plupart des oliveraies appartiennent à l'espèce *O. europaea* avec $2x = 46$ chromosomes. L'espèce *O. europaea* comprend de nombreux groupes et plus de 2600 cultivars, dont beaucoup peuvent être des écotypes.

Olea europaea ne semble pas être une vraie espèce, mais un groupe de formes dérivées de l'hybridité et de mutations. Les espèces tropicales et subtropicales afro-asiatiques, comme *O. chrysophilla* et *O. excelsa*, ont probablement participé à l'évolution de la culture.

Les sous-espèces d'olivier sont distribuées dans les pays méditerranéens et aussi en Afrique de l'Ouest, de la Tanzanie, les îles Canaries, les Açores, l'Afrique du Sud, etc. Les oliviers ont été introduits en plus aux Etats-Unis, l'Australie, l'Afrique du Sud et la Chine au cours des dernières décennies.

L'olivier sauvage *O. oleaster* (Breton *et al.*, 2006) et l'olivier cultivé *O. sativa* sont les principales espèces d'oliviers dans le pourtour Méditerranéen. Une classification du matériel génétique d'olive est présentée par Ganino *et al.* (2006). L'espèce *O. oleaster* a des pousses épineux, des feuilles sphériques ovale et de petits fruits noirs, avec une faible teneur en huile. *O. sativa* a des pousses cylindriques et de gros fruits ovales ou elliptiques, à haute teneur en huile. Le genre sauvage *O. oleaster* se rencontre dans des régions limitées.

III- LE SECTEUR OLÉICOLE AU MAROC

Au Maroc, l'oléiculture connaît une grande expansion avec un accroissement important de la superficie consacrée aux oliviers qui est passée de 735 000 ha en 2009 à 900 000 ha estimé en 2012. Ce mouvement ascendant bénéficie notamment de la mise en œuvre du Plan Maroc Vert qui fixe comme objectif d'atteindre la superficie de 1,2 millions d'hectares en 2020.

Selon l'âge des plantations, les ressources oléicoles se répartissent en trois catégories (COI, 2009) :

- plantations jeunes (< 5 ans) : 135 240 ha (18,4 %)
- plantations à pleine production (5 à 50 ans) : 496 860 ha (67,6 %)
- plantations âgées (> 50 ans) : 102 900 ha (14 %)

En ce qui concerne la densité, une distinction doit être faite entre les exploitations en régime bour et en régime irrigué. Les plantations non irriguées, principalement situées dans les régions oléicoles du Nord et du Centre, présentent une densité de 100 arbres/ha, contrairement aux plantations irriguées dans le Sud du pays dont la densité est de 160 arbres/ha.

Les pratiques culturales et de récolte sont complètement mécanisées sur 10 000 ha (1,4 %), partiellement mécanisée sur 455 000 ha (62 %) tandis que les 270 000 ha (36,6 %) présentent une inadéquation à la mécanisation.

III-1- Situation géographique des plantations

Les principales zones de production s'étendent à travers tout le pays, à l'exception de la côte atlantique. Trois grandes régions se distinguent selon la répartition géographique des plantations :

- Le Nord : Chefchawen, Taounate et Ouezzane qui présentent des sols pauvres, un terrain accidenté et un niveau de précipitations de 1 000 mm/an.
- Le Centre : Taza, Fez et Meknès qui présentent des sols riches et profonds, un terrain peu accidenté et des précipitations entre 450 et 500 mm/an.
- Le Sud : Haouz, Tadla, Safi et Essaouira qui présente des sols très riches, un terrain plat et une pluviométrie de moins de 400 mm/an. Les plantations y reçoivent une irrigation pérenne ou d'appoint.

III-2- Variétés cultivées au Maroc

La principale variété cultivée au Maroc est la Picholine marocaine. Elle présente plus de 96 % dans les plantations du pays. Les 4 % restants se composent de la Picholine Languedoc, de la Dahbia et de la Meslala, qui sont cultivées en régime irrigué (Haouz, Tadla, El Kelâa) et de quelques variétés espagnoles et italiennes telles que la Picual, la Manzanilla, la Gordal et la Frantoio (Ministère de l'Agriculture du Maroc). L'Institut national de la recherche

agronomique a commencé à étudier la Picholine marocaine il y a quelques années dans le cadre de son programme pour l'amélioration variétale afin de sélectionner les clones les plus performants. Ce travail a conduit à la sélection de deux clones viables, nommés Haouzia et Menara qui sont actuellement en cours de diffusion

III-2-1- Picholine marocaine

Variété qui s'adapte bien aux sols et aux conditions climatiques de tout le pays, elle a subi une sélection afin d'introduire des clones présentant des caractéristiques spécifiques dans les nouvelles plantations. Elle est rustique et présente une capacité rhizogène moyenne. Caractérisée par une entrée en production et une floraison intermédiaire, elle est partiellement autocompatible et présente un pourcentage d'avortement ovarien moyen. Elle produit un pollen abondant. En raison de sa résistance à la sécheresse, elle est utilisée comme porte-greffe pour la Picholine Languedoc. Sa productivité est élevée et alternante. Présentant les caractéristiques typiques de la variété de double aptitude, les olives produites sont utilisées pour tout type de confiserie : des olives vertes cassées aux olives noires mûres. La pulpe se sépare facilement du noyau. Elle présente un rendement en huile moyen (20 %). L'huile extraite est d'excellente qualité, avec une forte teneur en acide oléique. En outre, elle présente une grande résistance à la congélation (elle conserve sa fluidité jusqu'à - 12°C), d'où son utilisation pour les produits en conserve (Catalogue mondial des variétés d'oliviers, COI).

III-2-2- Meslala

Variété productive et moyennement rustique, elle est cultivée dans les zones irriguées ou présentant une bonne pluviométrie. Elle est très appréciée pour la confiserie en vert mais convient également pour la production d'une huile de bonne qualité malgré un rendement moyen au moulin. Sa capacité rhizogène est moyenne, son entrée en production tardive et son époque de floraison intermédiaire. Elle est autocompatible, présente un pourcentage d'avortement ovarien moyen et produit un pollen abondant. Sa productivité est élevée et alternante. La résistance de ses fruits au détachement est faible et leur teneur en huile est bas. La pulpe se sépare facilement du noyau (Catalogue mondial des variétés d'oliviers, COI).

III-2-3- Haouzia

Variété récente issue d'une sélection clonale de la Picholine marocaine, elle se distingue des autres clones par un nombre de fleurs parfaites par inflorescence, une entrée en production précoce, une meilleure capacité de multiplication par bouturage semi-ligneux et une

productivité élevée. C'est également une variété rustique, présentant une capacité rhizogène élevée. En régime irrigué, les premiers fruits apparaissent dès la troisième année. Son époque de floraison est intermédiaire, elle est autocompatible et présente un pourcentage d'avortement ovarien élevé. Elle est souvent associée au pollinisateur Picholine Languedoc. Sa productivité est élevée et alternante, l'époque de maturation intermédiaire. Elle est utilisée pour la production d'huile d'olive (rendement de 23 %) comme pour la préparation d'olives vertes. La pulpe se sépare facilement du noyau (Catalogue mondial des variétés d'oliviers, COI).

III-2-4- Menara

Nouvelle variété issue d'une sélection clonale de la Picholine marocaine, elle se distingue de celle-ci par une meilleure aptitude à la multiplication par bouturage semi-ligneux, le nombre supérieur de fleurs parfaites par inflorescence, une entrée en production précoce et une productivité élevée. Elle est très rustique et présente une capacité rhizogène élevée. En régime irrigué, elle se développe et entre en production très rapidement (dès la troisième année). Son époque de floraison est intermédiaire et bien qu'elle soit partiellement autocompatible, il est recommandé de l'associer avec un pollinisateur adéquat tel que la Picholine Languedoc. Elle présente un pourcentage d'avortement ovarien moyen et produit un pollen abondant. Son époque de maturation est intermédiaire. Elle est utilisée pour la production d'une huile d'olive de bonne qualité (teneur en huile de 24 %) comme pour la confiserie en vert ou en noir. La pulpe des fruits se sépare facilement du noyau (Catalogue mondial des variétés d'oliviers, COI).

III-3- Production des olives et de l'huile d'olive

En terme de production, la filière oléicole a connu une nette croissance passant de 765 377 tonnes en 2007 à 1,3 million de tonnes avec un pic de 1,5 millions de tonnes en 2010. Par ailleurs, la filière oléicole se divise en deux branches d'activités d'importances inégales à savoir :

- L'huile d'olive : environ 75% des olives produites sont destinés à la production de l'huile d'olive principalement pour le marché national (elle contribue notamment à répondre au besoin de consommation des huiles alimentaires à hauteur de 16%).
- Les olives de table : la production est principalement destinée à l'exportation et représente 25% de la production totale.

Au Maroc, la trituration des olives est réalisée par un secteur moderne composé d'unités industrielles et semi-industrielles et par un secteur traditionnel constitué d'unités artisanales (les maâsras). Il est important de signaler que la consommation nationale de ce produit reste encore faible par rapport aux autres pays du pourtour méditerranéen.

L'analyse de la filière de l'huile d'olive montre que plusieurs contraintes affectent négativement la qualité des huiles produites, notamment l'absence de contrôle de la qualité au niveau des unités de transformation. D'un autre côté, cette filière est marquée par la prédominance de la commercialisation locale de l'huile d'olive qui absorbe entre 85% et 95% de la production moyenne annuelle. En termes de positionnement sur le marché international, les exportations d'huile d'olive marocaines restent concentrées sur deux principaux marchés à savoir l'Union Européenne et les Etats-Unis. Sous forme brute ou raffinée, ces exportations ont chuté au titre de la campagne 2012 s'établissant ainsi à 15 640 tonnes contre 38 172 tonnes en 2011. Près d'un tiers de ce volume (environ 5kT) est constitué d'huile d'olive extra vierge.

En termes d'origine des importations, l'Espagne, la France, l'Italie et la Tunisie constituent les principaux pays fournisseurs du marché national avec des volumes d'importations s'élevant à 3 500 tonnes au cours de l'année 2012.

IV- STRUCTURE DE LA DRUPE D'OLIVE

Le fruit de l'olivier est une drupe et peut être séparé en trois parties anatomiques distinctes (fig.1) : l'épicarpe (peau), le mésocarpe (pulpe ou chair) et l'endocarpe ligneux (fosse). La dernière contenant la semence. Ces trois composants de fruits suivent les périodes de croissance distinctifs (Hartmann, 1949; Duran et Izquierdo, 1964; Farinelli et al, 2002).

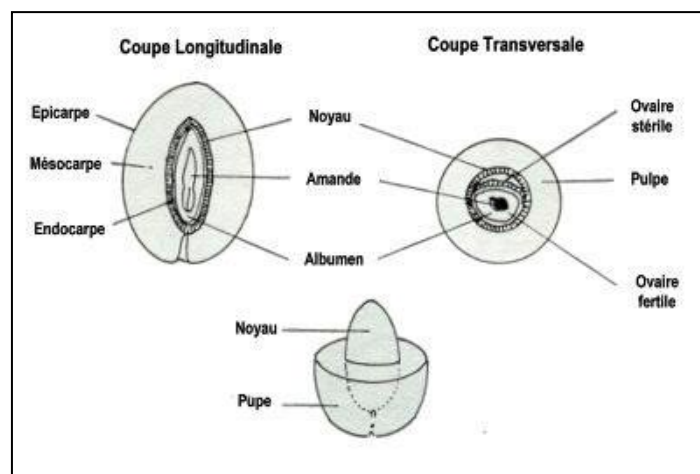


Figure 1 : schéma d'une coupe longitudinale et d'une coupe transversale d'une olive.

IV-1- L'épicarpe

C'est le tissu de protection qui représente 1 à 3 % du poids des drupes. La peau est recouverte d'une couche de cire, ce qui représente 45 à 70% du poids de la peau. La peau est verte durant les premiers stades de développement en raison de la chlorophylle, et des modifications ultérieures se reproduisent qui aboutissent à des changements dans la couleur du vert foncé au vert clair, violet et noir. Ce changement de couleur est dû à des concentrations variables de chlorophylle, des caroténoïdes et des anthocyanines (Minguez-Mosquera et Garrido-Fernández, 1989). L'épicarpe joue un rôle significatif dans la réduction au minimum des dommages et les attaques mécaniques des ravageurs. En outre, l'épicarpe est imperméable à l'eau, affectant la transformation des olives de table.

IV-2- Le mésocarpe

C'est la partie la plus importante du fruit, étant la partie alimentaire et comprenant 70-80 % du fruit entier. La teneur en eau de la chair est de 70 à 75% de son poids et la teneur en huile est comprise entre 14 et 15% dans les olives de table vertes et jusqu'à 30% dans des olives noires mures. Cependant, la biosynthèse lipidique peut être très importante dans certains types d'olives noires (Donaire *et al.*, 1984).

Les olives contiennent les acides oxalique, succinique, malique et citrique, et des niveaux élevés d'acides gras libres. 3,5 à 6,0 % des sucres de la chair au total, comme le glucose, le fructose, le saccharose et le mannitol sont tous présents. La teneur en sucre diminue avec la maturation. La teneur en protéines est comprise entre 1,5 et 2,2% du poids du fruit. Les substances pectiques cimentent les cellules et affectent la texture de la chair d'olive. Ces substances pectiques pendant le traitement sont hydrolysées par les enzymes pectolytiques et la texture des fruits devient plus douce.

IV-3- L'endocarpe (fosse)

L'endocarpe représente 10-27 % du poids de l'olive, la graine comprenant 2-4% du poids. La fosse contient de 2 à 4 % du contenu huileux de l'olive et la graine contient 22-27% d'huile. Quelques caractéristiques importantes de l'endocarpe comprennent la taille, le poids et la facilité de séparation.

La composition des fruits varie pendant la période de la croissance et le développement des fruits (Nergiz et Engez, 2000), une petite quantité d'huile d'olive est produite alors que la

quantité maximale est produite pendant la maturation. La quantité maximale d'huile d'olive est produite dans le mésocarpe (96-98%), et le reste dans l'endocarpe. La chair du fruit de l'olivier contient de l'huile, de l'eau, des sucres, des protéines, des acides organiques, de la pectine, des pigments, des flavonoïdes, des stérols, des phénols et surtout de l'oleuropéine, le tocophérol et des minéraux (Vlahov, 1992).

V- COMPOSITION CHIMIQUE DES OLIVES

V-1- Teneurs en eau

L'eau représente 70 à 75 % du poids du fruit de l'olivier frais. Toutefois, ce pourcentage dépend de divers facteurs tels que le stade de la croissance des fruits, le cultivar et le stress hydrique.

V-2- Les sucres

Les olives contiennent le glucose, le fructose, le mannose et le saccharose. La concentration des sucres est élevée dans les olives vertes. Les sucres sont très importants lors de la fermentation pour la production de l'acide lactique, ce qui donne aux olives leur saveur caractéristique et augmente également leur aptitude à la conservation.

Les niveaux de sucre sont initialement de 10 %, et ils sont réduits à 1-2 % au cours du processus de la maturation. Durant le stade vert, le fruit photosynthétise autant que les feuilles, et contient une forte concentration d'amidon. Cet amidon disparaît au cours de la maturation.

V-3- Les Protéines

Le fruit de l'olivier contient des protéines de 1,5-3,0 %. En outre, la chair des fruits d'olive contient des acides aminés libres tels que l'arginine, l'acide aspartique et glutamique.

V-4- Analyse minérale des olives

La composition globale des minéraux varie entre les cultivars d'olivier. Parmi les différents éléments, K est l'élément le plus abondant dans les fruits, suivi par Mg, Ca, Na et Fe (Nergiz et Engez, 2000).

V-5- Les alcanes

Les principaux alcanes se trouvent à la fois dans l'épicarpe et la partie ligneuse de la fosse. Ils sont composés d'un mélange de C23-C33; de ces chaînes impaires C25, C27 et C29 dominant. La composante dominante dans les olives vertes est C29, tandis que dans l'olive noire est C27.

V-6- Les acides gras

Les acides gras sont constitués de deux groupes, C16-C18 et C22-C28. Les alkyl esters sont présents à des quantités significatives dans les lipides de la peau et à l'état de traces dans la graine et la pulpe. Deux groupes sont présents, les chaînes C40-C44 et C46-C56. Les chaînes dominantes sont C40 et C42 dans le premier groupe et de C52 et C54 dans le second.

V-7- Les triterpénoïdes

Dans la chair et les graines se trouvent le cycloarténol et le méthylène cycloarténol. En outre, les acides triterpéniques pentacycliques se trouvent dans l'épicarpe, tels que les acides oléanolique et maslinique. Les Stérols et les terpènes libres sont présents en quantités significatives dans les lipides cuticulaires et l'endocarpe contient des esters stéryl. Parmi les stérols les plus importants sont le β -sitosterol, le stigmastérol et le campestérol.

V-8- La chlorophylle et les caroténoïdes

Les caroténoïdes 3-carotène, phytofluene et luteoxanthin sont présents en très petites quantités. Les chlorophylles a et b et les caroténoïdes diminuent vers la fin de la période de croissance et disparaissent presque à la véraison. Parallèlement, les anthocyanes commencent à apparaître, peu à peu, envahissant la peau et plus tard l'ensemble du la drupe. La chlorophylle a est le composant principal, suivi par la Chlorophylle b.

V-9- Les composés phénoliques

La chair d'olive contient de 1 à 14% (poids sec) de composés phénoliques, selon la variété (Amiot *et al.*, 1986). Les composés phénoliques sont importants dans de nombreux aspects, tels que le brunissement des fruits et la protection des plantes contre les bactéries, les champignons et les virus (Hanbury, 1954). En outre, les composés phénoliques jouent des rôles significatifs dans la nutrition humaine (Bravo, 1999) et la santé (Christakis *et al.*, 1982; Manna *et al.*, 1999). Le goût amer des premières olives est due aux phénols, en particulier, l'oleuropéine, qui est soluble dans l'eau (Gutiérrez *et al.*, 1992). D'autres phénols comme le

ligstroside, le verbascoside, le 4-hydroxytyrosol, le tyrosol, 3,4-dihydroxyphényl glycol et les flavonoïdes (Manna *et al.*, 1999) sont également présents à des quantités plus ou moins importantes.

La taille du fruit, qui est une caractéristique de la variété utilisée et du procédé de l'irrigation employé (Costagli *et al.*, 2003), est liée à la concentration en phénols. Ainsi, les variétés avec de petits fruits ont une teneur en oleuropéine élevée par rapport à des variétés à gros fruits. Comme les olives mûrissent, la concentration de l'oleuropéine diminue (Amiot *et al.*, 1989), tandis que les niveaux de l'oleoside-11methylester et le dimethyloleuropein commencent à augmenter, atteignant des niveaux maximaux lorsque le fruit est noir et mature. Par conséquent, le dimethyloleuropein est le composant principal des olives noires. En outre, comme produit de maturation, la concentration augmente en verbascoside.

- **Les phénols**

Ce sont des substances antioxydantes et sont présents dans les feuilles et les fruits (Ryan *et al.*, 1999; Gomez-Rico *et al.*, 2006). Les phénols importants comprennent le tyrosol et l'hydroxytyrosol, qui sont produits après l'hydrolyse de l'oleuropéine. Une partie significative des phénols de la chair des fruits est éliminée avec les déchets d'olive.

Biosynthèse phénolique : La phénylalanine est le précurseur de la plupart des composés phénoliques. La phénylalanine ammoniaque lyase (PAL) est l'enzyme impliquée dans la biosynthèse phénolique. Les acides aminés aromatiques dans l'olive, la phénylalanine et la tyrosine, sont produits par la voie de shikimate. Par ailleurs, les hydrates de carbone fournissent des squelettes de carbone nécessaires pour la biosynthèse de l'acétate, de l'acide shikimique et les acides aminés aliphatiques. Les premiers réactifs sont le phosphoénolpyruvate et l'érythrose 4-phosphate, qui sont produits via la glycolyse non oxydante du glucose.

Hydroxytyrosol dans les olives : l'hydroxytyrosol est un composé phénolique naturel qui est présent dans les olives. Les principaux composés phénoliques présents sont l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'acide caféique et l'acide p-coumarique.

- **Oleuropéine**

Les niveaux d'oleuropéine diminuent pendant la maturation (Tovar *et al.*, 2002). L'oxydation de l'oleuropéine donne la couleur noire aux olives mûres. L'oleuropéine sous pH alcalin est

transformé en acide caféique. De toutes les variétés d'olives, les petits fruits contiennent des niveaux élevés de l'oleuropéine et de faibles quantités de verbascoside, alors que l'inverse est vrai pour les variétés à gros fruits.

Biosynthèse : l'oleuropéine appartient aux Secoiridoïdes, trouvés très couramment chez les Oleaceae (Damtoft *et al.*, 1993). Ces composés sont produits par le métabolisme secondaire des terpènes. L'oleuropéine est un ester d'hydroxytyrosol. La biosynthèse de l'oleuropéine dans l'olive dérive de l'acide mévalonique. Les précurseurs de l'oleuropéine dans les olives sont tous les deux époxydes de secologanin et secoxyloganin.

Dégradation : l'oleuropéine est abondante dans les jeunes fruits et constitue environ 14% de la matière sèche. Pendant que les fruits mûrissent et leurs couleurs changent, les nouveaux composés de l'oleuropéine apparaissent comme l'acide élénolique, le glucoside et le dimethyloleuropein et les dérivés glucosylés de l'oleuropéine. Au stade de maturité vert et lorsque le fruit devient noir, le dimethyloleuropein est la substance majeure produite par l'activité des estérases. Le fruit accumule les dérivés glucosylés de l'oleuropéine. En outre, le tyrosol et l'hydroxytyrosol sont présents dans les fruits d'olive pendant la maturation.

V-10- La matière grasse des olives

Le poids des fruits augmente de Septembre à Décembre, presque uniquement en raison de la synthèse de l'huile. Ce processus se poursuit même lorsque la température de la journée tombe en dessous de 13 °C. La production de triglycérides et l'allongement de la chaîne d'acide gras est en fonction du temps. Grâce à la désaturation, la concentration de l'acide oléique augmente. La diminution de la température est le facteur déterminant, ce qui déclenche la synthèse d'acides gras mono- ou polyinsaturés. L'élongation conduit à la formation de chaînes d'acides gras de plus de C16. Les processus de la désaturation et l'élongation produisent de l'acide oléique, et la désaturation de l'acide oléique (C18: 1) produit de l'acide linoléique (C18: 2). La date de la récolte affecte à la fois la teneur en huile et sa qualité (Lavee et Wodner, 2004).

VI- COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE D'OLIVE

La plupart des acides organiques dans l'huile d'olive sont insaturés. L'acide le plus courant est l'acide oléique (C18: 1), puis l'acide linoléique (C18: 2), l'acide linoléique (C18: 3), et l'acide arachidonique (C20: 4). Parmi les acides organiques saturés, l'acide palmitique (C16: 0) et

l'acide stéarique (C18: 0) sont les plus communs. Les diglycérides d'acide oléique représentent 70-80 % de l'huile d'olive et sont dans un état liquide à la température ambiante. L'acide oléique est compris entre 56 et 83%, l'acide linoléique de 3,5 à 20 % et l'acide palmitique de 7,5 à 20 %. Ohbogge et Jaworski (1997) donnent des détails de la régulation de la synthèse des acides gras.

VI-1- Les Chlorophylles et les caroténoïdes de l'huile d'olive

Le pigment le plus important de l'huile d'olive est la chlorophylle (Minguez-Mosquera et GarridoFernández, 1989 ; Stefanoudaki-Katzouraki et Koustaftakis, 1992), ce qui donne à l'huile sa couleur verte. Cependant, la présence de la chlorophylle dans des conditions de lumière est le facteur causal de la dégradation par oxydation de l'huile. Les deux chlorophylles a et b sont présentes dans l'huile d'olive; la concentration de la chlorophylle dans l'huile d'olive vierge peut être aussi élevée que 10 ppm. Lorsque les fruits sont ramassés verts, la concentration en chlorophylle est supérieure. Cependant, les caroténoïdes présents dans l'huile d'olive sont représentés par les xanthophylles, les caroténoïdes α , β et γ et le lycopène.

VI-2- Les stérols

L'huile d'olive contient divers stérols tels que le campesterol (12 %), le stigmastérol (0,5 %), β -sitostérol (89,5 %), avenastérol (8,0 %) et des traces de cholestérol. La concentration en stérol de l'huile d'olive est de 180 à 265 mg / 100 g. L'oxydation des olives réduit la concentration en stérols. Les stérols les plus communs trouvés dans les huiles d'origine végétale sont le campesterol, le stigmastérol et le β -sitostérol. La détermination de la concentration en stérol est un moyen de détermination de l'authenticité de l'huile d'olive.

VI-3- Les Tocophérols

Le α -tocophérol comprend 88,5 % de tous les tocophérols dans l'huile d'olive. La concentration du α -tocophérol dans l'huile d'olive est de 12-150 ppm. Les huiles obtenues à partir de la fosse des fruits contiennent des concentrations plus élevées de tocophérols, qui jouent le rôle des antioxydants. La concentration des tocophérols fournit un moyen de déterminer l'authenticité de l'huile d'olive.

VI-4- Les composés aromatiques

Parmi les substances aromatiques qui donnent à l'huile d'olive son arôme caractéristique sont inclus 40 aldéhydes (C7-C12), des aldéhydes et des terpènes monosaturés.

VII- CROISSANCE ET MATURATION DES OLIVES

De la formation à la maturation des fruits d'olive, le temps est de 6-7 mois. Le fruit suit généralement trois phases de croissance dans la plupart des variétés :

1. Première phase. Initialement, la croissance des fruits est rapide pendant les 2 premiers mois (Juin-Juillet). Pendant cette période, le poids des fruits augmente, principalement en raison de la croissance de l'endocarpe plutôt que de la pulpe. Les polyphénols augmentent au cours de cette phase et la diminution est plus tard après la véraison des fruits.
2. Deuxième phase. Pendant la période d'Août-Septembre, la croissance du fruit est plus rapide, la pulpe se développe et le durcissement de la fosse se produit.
3. Troisième phase. La croissance des fruits est rapide (Octobre) et le fruit commence à changer de couleur du vert au violet, et enfin au noir. La concentration de l'hydroxytyrosol diminue avec la maturation.

De nombreux facteurs déterminent le stade nouaison (Therios, 2009), tels que: (i) la charge et la distribution des florescences (Lavee et Schachtel, 1999); (ii) la taille et le nombre de fleurs par inflorescence; (iii) le pourcentage de fleurs hermaphrodites ; (iv) la taille des ovaires; et (v) l'état physiologique des ovules et leur longévité.

Après la fécondation, les pétales et les étamines chutent et l'ovaire commence à croître et à grandir (Rapoport et Rallo, 1991). L'ensemble des fruits moyens est d'environ 2%. Les facteurs responsables d'une fertilisation insuffisante et la chute ultérieure des jeunes fruits comprennent: (i) pollinisateurs incompatibles aux cultivars; (ii) l'absence d'arbres pollinisateurs; (iii) ravageurs et maladies; (iv) des vents forts; (v) le stress de l'eau et le stress des éléments nutritifs; et (vi) des conditions climatiques défavorables (Cuevas *et al.*, 1995). Habituellement, un fruit est maintenu par son inflorescence. Parfois des fruits parthénocarpiques (manque de semences), sont produits. La raison pour laquelle ils sont produits est inconnue. Ces fruits parthénocarpiques mûrissent plus tôt que les fruits normaux.

Le fruit de l'olivier est une drupe et la période de maturation est déterminée par le temps écoulé entre les premières taches pourpres et la peau qui devient noire. Par la maturation verte, nous entendons les changements de couleur des fruits et les caractéristiques pendant la période des olives qui sont vertes.

Les oléiculteurs ont établi certaines dates de récolte et d'autres critères tels que la couleur des fruits et la chute des fruits (Snobar, 1978). Ces critères sont utilisés par les producteurs comme indices afin de déterminer le début de la récolte. Toutefois, afin de déterminer le moment optimal pour la récolte, d'autres paramètres sont également de valeur, comme la teneur en huile, la force de détachement des fruits et la couleur des fruits.

Au cours de sa croissance, le fruit entre en compétition avec la croissance des pousses pour les substances nouvellement assimilés, ainsi que pour les réserves accumulées dans les différents tissus. Le rapport de feuille/fruit joue un rôle significatif de la croissance des fruits et de la photosynthèse (Proietti, 2003; Proietti *et al.*, 2006). La plupart des assimilats sont fournis par les feuilles de la même pousse où sont situés les fruits. La lumière et l'ombrage affectent la croissance du fruit et sa composition (Tombesi *et al.*, 1999), et la synthèse d'huile (Proietti *et al.*, 1994). La matière sèche de l'endocarpe augmente à la fin de la période de croissance. L'endocarpe croît plus vite que le mésocarpe jusqu'à la fin de Août, et par la suite son taux ralentit (Rapoport *et al.*, 1990). La synthèse de l'huile commence après 60 jours de la pleine floraison. La disponibilité de grandes quantités d'assimilats en Juillet affecte principalement la croissance de l'endocarpe. Dans la période Août-Novembre, il affecte la croissance du mésocarpe et la synthèse de l'huile, qui est d'origine cytoplasmique (Rangel *et al.*, 1997). Les variations de la charge en fruit créent des différences dans la disponibilité des assimilats et influence la maturation des fruits. Les changements dans la disponibilité des assimilats à différents moments du développement des fruits causent des variations dans la répartition des assimilats entre les différentes composantes du fruit. Au cours de la maturation des fruits, la couleur de la peau et de la pulpe passe du vert au rouge, rouge ou noir bleuâtre et la peau devient brillante. Au cours de la maturation des fruits, les changements saisonniers qui se produisent dans la taille des fruits et de la composition chimique sont décrits dans la section suivante.

VII-1- Les changements saisonniers dans le développement du fruit

La croissance des fruits est mesurée par le poids frais des fruits qui diffère pour chaque cultivar et il est probablement déterminé génétiquement. Pendant la maturation, le poids des

fruits augmente, à l'exception de la date de la récolte finale, où le poids des fruits diminue en raison de la perte d'eau causée par des températures basses (Therios, 2009).

VII-2- Changements liés à la maturation

VII-2-1- Ramollissement de la paroi cellulaire

L'étude de la maturation de l'olive est d'un grand intérêt, car la phase de maturation du fruit influence la production industrielle de l'huile d'olive et des olives de traitement (Jimenez *et al.*, 2001). La maturation est généralement caractérisée par le ramollissement en raison des modifications et / ou de la dégradation des composants de la paroi cellulaire. Les changements dans les polysaccharides de la paroi cellulaire et les enzymes associées à la paroi cellulaire (Mafra *et al.*, 2001; Fernández-Bolanos *et al.*, 1995; Mazzuca *et al.*, 2006) jouent un rôle important dans la détermination de la texture du fruit de l'olivier pendant la maturation. Pendant ce processus, les changements qui se produisent sont caractérisés par une augmentation de la solubilisation des polysaccharides pectiques et hémicellulosiques, à savoir une augmentation de la quantité d'arabinose en polysaccharides pectiques et une diminution du degré de la méthyl-estérification des polysaccharides pectiques. En ce qui concerne les composés phénoliques de la paroi cellulaire, les niveaux de l'acide p-coumarique augmentent au moment de la récolte (Briante *et al.*, 2002a).

VII-2-2- Changements dans les pigments des chloroplastes

Au cours du processus de maturation, le fruit de l'olivier devient noir violacé en même temps que la teneur en huile augmente. Au cours de la maturation, l'activité photosynthétique diminue et les chlorophylles et les caroténoïdes diminuent à la fois progressivement (Stefanoudaki-Katzouraki et Koustaftakis, 1992). À maturité, la couleur pourpre du fruit de l'olivier peut être attribuée à la formation de l'anthocyanine. Ces changements au cours de la maturation sont exprimés dans la composition du pigment de l'huile d'olive. Cependant, lors du broyage et du malaxage, les chlorophylles sont transformées en leurs dérivés Mg-libres. La teneur en pigment des fruits d'olive est en fonction de leur génotype.

VII-3- La maturation des fruits et la qualité de l'huile

La récolte des olives au stade vert de la maturation entraîne une baisse du rendement. Cependant, cela permet une manipulation plus facile des olives récoltées, puisque les olives vertes sont plus résistantes aux dommages mécaniques et à l'infection fongique que le fruit

mûr. Les olives douces devraient être traitées dès que possible, car ils perdent la qualité initiale de leur huile très rapidement (Garcia *et al.*, 1996). La teneur en huile est plus ou moins stable pendant les différents stades de maturation. De plus, les huiles obtenues à partir d'olives à des stades plus avancés de maturation ont une teneur plus élevée en acides gras conjugués; l'indice de l'amertume de l'huile diminue à mesure que la maturation progresse. En général, les paramètres qui sont utilisés pour mesurer l'oxydation des huiles (K_{232} , K_{270} et la stabilité à l'oxydation) montrent une détérioration progressive de la qualité de l'huile avec l'avancement du processus de maturation. Comme le fruit de l'olivier mûrit, une diminution du pourcentage en acides palmitique et oléique est observée, tandis que celle de l'acide linoléique augmente (Therios, 2009).

VII-4- Les phénols dans l'huile d'olive

Dans l'huile d'olive, le goût amer est due à des composés phénoliques et de l'acide cinnamique, tandis que le piquant est due à l'oleuropéine. La quantité des composés phénoliques dans les cultivars d'huile d'olive varie de 150 à 700 ppm et est affectée par divers facteurs tels que le cultivar, le degré de maturation, les conditions climatiques et les dommages des ravageurs aux fruits. La meilleure scène pour la cueillette est lorsque les changements de couleur du vert pâle au brun. A ce stade, l'huile d'olive a une forte teneur phénolique. En outre, la meilleure façon de la récolte est la cueillette à la main, et la transformation des fruits doit être effectuée à des températures $<30^{\circ}\text{C}$ afin de maintenir sa forte teneur phénolique. Les olives vertes donnent une huile avec une teneur élevée en composés phénoliques et avec une saveur plus aromatique.

L'oleuropéine, la substance amère d'olives et d'huile d'olive, est présent dans la forme aglycone. À mesure que la maturation progresse, l'oleuropein est hydrolysé et il y a production d'autres substances qui participent au goût caractéristique de l'huile d'olive. Un autre processus qui se déroule est l'oxydation des composés phénoliques et de la production des substances qui contribuent à l'arôme et la saveur de l'huile d'olive. La présence des phénols donne un goût amer et piquant, ceci étant dû à l'inactivation de la ptyaline et diverses interactions entre les composés phénoliques et les capteurs humains de goût.

VIII- RÉGULATION HORMONALE PENDANT LE DÉVELOPPEMENT ET LA MATURATION DES FRUITS

VIII-1- Les principales phytohormones responsables de la régulation de la nouaison

Les données actuelles soutiennent que l'action combinée de trois hormones, les auxines, les gibbérellines (GAs), et les cytokinines, joue un rôle majeur dans la régulation de la nouaison. Individuellement, aucune de ces hormones ne peut engager le développement des fruits. Cependant, leur application combinée a été trouvée induire la croissance des fruits normale même en l'absence de la fécondation dans les fruits secs ou charnus (Nitsch, 1952; Crane, 1964; Gillaspay *et al.*, 1993; Mariotti *et al.*, 2011). En outre, il a été observé que l'interaction entre les voies de signalisation de l'auxine et GA est essentielle pour la promotion de la nouaison dans les fruits charnus (Vivian-Smith et Koltunow, 1999; Srivastava et Handa, 2005; de Jong *et al.*, 2009; Carrera *et al.*, 2012; Ruan *et al.*, 2012). Les preuves suggèrent que l'auxine favorise la nouaison et la croissance, au moins en partie, en contrôlant les niveaux GA (Serrani *et al.*, 2008; Dorcey *et al.*, 2009).

En plus de l'auxine et l'acide gibbérellique, la cytokinine a également connue pour induire la nouaison dans plusieurs cultures de fruits (Matsuo *et al.*, 2012). Le niveau de la cytokinine endogène est directement corrélé avec la croissance des fruits, en particulier dans la stimulation de la division cellulaire. Son application externe provoque la formation de fruits parthénocarpiques (Gillaspay *et al.*, 1993; Srivastava et Handa, 2005; Mariotti *et al.*, 2011; Matsuo *et al.*, 2012). Les résultats des travaux de Coenen *et al.* (2003) et ceux de Marsch-Martinez *et al.* (2012), suggèrent que la cytokinine pourrait agir par l'intermédiaire de l'inhibition des effets dus à l'auxine, au moins partiellement, au cours de la nouaison et la croissance. Cependant, très peu d'informations sont disponibles sur les mécanismes sous-jacents de son action au cours de la nouaison.

Les niveaux de l'ABA montrent une diminution à la nouaison et cette baisse est associée à la régulation négative des gènes de biosynthèse de l'ABA et une régulation du gène codant pour la protéine de la dégradation de l'ABA, après la pollinisation (Vriezen *et al.*, 2008). L'ABA a également été trouvé à atténuer des changements induits par GA pendant la nouaison chez le pois (García-Martínez et Carbonell, 1980).

Une étude au niveau des événements moléculaires qui contrôlent la nouaison et le développement des fruits à un stade précoce de la fraise a en outre confirmée le rôle majeur de

l'auxine et du GA pendant cette phase. Toutefois, la régulation différentielle de nombreux gènes liés à la biosynthèse et la signalisation d'autres phytohormones, y compris l'éthylène, l'ABA, la cytokinine, et le brassinostéroïde a suggéré que, outre l'auxine et GA, ces hormones sont également importantes au cours de la nouaison et les premiers stades de développement des fruits (Kang *et al.*, 2013).

VIII-2- Les principales phytohormones responsable de la régulation de la croissance des fruits

Le développement de la graine et des fruits a des processus intimement connectés et synchronisés. Il est maintenant bien établi que les graines sont riches en hormones, en particulier les auxines, Les GAs, et les cytokinines, qui sont impliqués dans la stimulation de la croissance des tissus environnants et même déterminent la taille des fruits (Crane, 1964; Ozga *et al.*, 2003). Il a été observé que les niveaux de l'auxine et de la cytokinine augmentent dans la graine pendant son développement, simultanément avec les étapes de croissance des fruits, où la division cellulaire est suivie d'une phase d'élongation cellulaire (Blumenfeld et Gazit, 1970; Devoghalare *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2002).

Le rôle de l'auxine est établi dans la régulation de l'élongation cellulaire et il semble être l'hormone la plus importante au cours de cette phase de développement. Des preuves récentes ont révélé la présence d'un gradient AIA interne-externe pendant la phase de l'élongation cellulaire chez les fruits de tomate et a suggéré que l'auxine, présent dans la couche externe des cellules placentaires, favorisent le développement placentaire pour entourer les graines et remplir la cavité loculaire (Pattison et Catala, 2012).

VIII-3- Les principales phytohormones responsable de l'induction de la maturation

L'auxine et la cytokinine semblent être les hormones primaires impliqués dans le contrôle de la maturation des fruits puisque les niveaux de ces deux hormones à ce stade sont plus élevés dans un mutant (rin) inhibiteur de la maturation par rapport à des fruits de type sauvage (Davey et Van Staden, 1978). En outre, dans les fruits où les traits de maturation ne sont pas strictement associées avec l'éthylène, le traitement par l'auxine est connu pour retarder la maturation (Jones *et al.*, 2002). Les niveaux en auxine sont plus élevés dans les graines par rapport à leur tissu environnant du fruit. Il a été suggéré que pour les graines qui deviennent dormantes, la biosynthèse de l'auxine ou le transport vers le reste du fruit est inhibée, qui à son tour permet aux fruits mûrs à subir la maturation (Devoghalare *et al.*, 2012). Une

réduction des niveaux d'auxine a été observé chez un certain nombre de cultures fruitières et il semble que cette réduction est une condition préalable pour commencer la maturation (Given *et al.*, 1988; Zaharah *et al.*, 2012).

En outre, la diminution des taux libres de la cytokinine avant l'initiation de la maturation des oranges et des raisins suggère que la cytokinine joue un rôle dans la maturation des fruits (Werner *et al.*, 2003; Böttcher *et al.*, 2011). De même, il semble que l'ABA joue un rôle important comme un inducteur de maturation ainsi que l'éthylène (Zhang *et al.*, 2009b). Malgré les études où le rôle de ces hormones dans la nouaison et la maturation a été largement exploré, très peu de rapports sur leur rôle au cours de la maturation des fruits sont disponibles.

VIII-4- Les principales phytohormones nécessaires pour la régulation de la maturation des fruits et de la fin de ce processus

La maturation des fruits implique une coordination bien précise de plusieurs étapes réglementaires, ce qui entraîne des changements bien déterminés des caractéristiques métaboliques et physiologiques de la maturation des fruits. Avec sa progression, la couleur des fruits change en raison de l'accumulation des anthocyanes. Les glucides complexes sont convertis en des sucres, l'acidité des fruits diminue avec l'accumulation des sucres, les composés de la saveur et de l'arôme s'accumulent, et la dynamique de la paroi cellulaire change, ce qui conduit soit à une déhiscence ou un ramollissement (Klee et Giovannoni, 2011; Seymour *et al.*, 2013). Comme ces changements ont été observés sous la dépendance de diverses hormones, la maturation des fruits semble être sous le contrôle principalement de l'éthylène et de l'ABA (Giovannoni, 2004; McAtee *et al.*, 2013).

Dans les fruits climactériques, plusieurs études suggèrent que l'éthylène et l'acide indole-3-acétique (AIA) sont impliqués avec d'autres phytohormones dans la régulation du processus de la maturation. Cette notion est soutenue par les observations que (i) l'augmentation concomitante de l'AIA avec celle de la production d'éthylène est observée dans les tomates et les pêches et (ii) des gènes de biosynthèse de l'éthylène et de signalisation sont régulés par l'auxine et vice versa, dans les fruits de ces deux espèces (Gillaspy *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 2002; Trainotti *et al.*, 2007).

Dans les fruits non climactériques où aucun éclatement de la production d'éthylène durant la maturation est observée, l'ABA semble avoir un grand rôle pendant la maturation (McAtee *et al.*, 2013). En effet, il y a une augmentation de la teneur en ABA pendant la maturation dans

les fruits charnus et tout traitement qui retarde cette augmentation a été trouvé pour retarder l'induction de la maturation (Zhang *et al.*, 2009). Dans les tomates et les pêches, la teneur maximale en ABA précède la production d'éthylène climactérique. Il a été démontré que l'ABA favorise la maturation par la promotion de biosynthèse de l'éthylène à travers la régulation des gènes de biosynthèse de l'éthylène (Sun *et al.*, 2012a). En plus de l'ABA, le GA a également été trouvé pour retarder la maturation des fruits dans de nombreux autres fruits comme les tomates, pêches, mangues sapota etc. (Dostal et Leopold, 1967; Martínez-Romero *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2007; Sudha *et al.*, 2007). Globalement, la phase de maturation est constituée par plusieurs aspects physiologiques apparemment indépendants. Les premières investigations sur la maturation des fruits ont été principalement axées sur l'éthylène, les changements de couleur, et la dynamique de la paroi cellulaire (Giovannoni, 2004; Saladié *et al.*, 2007), tandis que d'autres caractéristiques de maturation sont très peu étudiées. Il est prouvé que les processus de la maturation individuelle eux-mêmes peuvent être sous un contrôle hormonal spécifique (McAtee *et al.*, 2013).

IX- LES ENZYMES EN AGROALIMENTAIRE

Le ramollissement est un phénomène remarquable chez tous les fruits au cours de la maturation de ces derniers. Il est dû généralement à une diminution de la cohésion entre les cellules. Cette diminution est le résultat de l'activité de certains enzymes endogènes, principalement de certaines pectinases. Ce phénomène a été étudié par de nombreux auteurs chez la poire (Pressey et Avants, 1976 ; Ahmed et Labavitch, 1980) ; les agrumes (Rombouts *et al.*, 1982) ; le raisin (Flanzy et Bouzigues, 1959 ; Amrani Joutei, 2005) ou les olives (Mínguez-Mosquera, 2002).

En outre, dans l'industrie des fruits et des légumes, les enzymes exogènes jouent un rôle très important dans l'hydrolyse des tissus végétaux. Elles sont utilisées dans la macération (obtention de nectars de fruits), pour la liquéfaction des tissus végétaux (hydrolyse de la paroi cellulaire doit être plus importante pour permettre l'éclatement de la cellule et la libération du suc vacuolaire et du cytoplasme favorisant l'extraction des constituants cellulaires qui restent adsorbés sur la matière solide), pour la clarification (moût de pomme). Chez le raisin, cette utilisation peut s'étendre aux procédés d'extraction des composés phénoliques localisés essentiellement dans la pellicule (Canal Lauberes, 1990a ; Amrani Joutei, 1993, Amrani Joutei *et al.*, 2003) et viennent s'ajouter aux enzymes endogènes déjà présentes dans le raisin. Chez les olives, les enzymes présentes dans le fruit de l'olivier sont en général mises hors

fonction pendant le processus d'extraction de l'huile ou de l'étape de broyage à cause de leur inhibition par les composés phénoliques présent dans les cellules. Par ailleurs, de nombreux travaux ont été réalisés sur les effets des enzymes exogènes sur l'extraction et les caractéristiques de l'huile d'olive (Domínguez H. *et al.*, 1994 ; Ranalli A. *et al.*, 1996-1997; Garcia A. *et al.*, 2001; Vierhuis E. *et al.*, 2001-2003). La plupart de ces travaux ne concernent que les activités pectolytiques alors que les activités protéolytiques n'ont été que très peu étudiées.

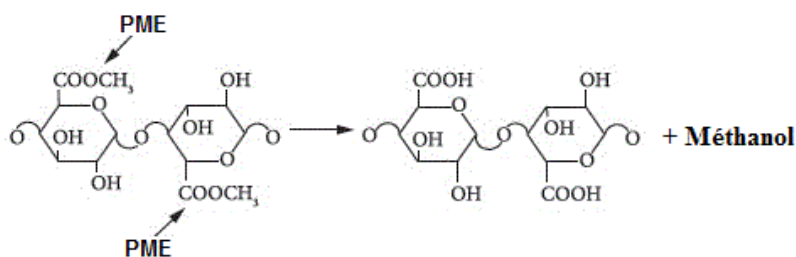
IX-1- Les activités enzymatiques endogènes

IX-1-1- Les pectinases

Les pectinases ont comme substrat des polysaccharides de type polygalacturonique. Elles peuvent être saponifiantes, hydrolysent les liaisons esters entre les fonctions carboxyliques des résidus acide galacturonique et le méthanol ou l'éthanol ou bien endo ou exo-enzymes dépolymérisantes, coupent par hydrolyse ou E-élimination, les chaînes d'acide galacturonique (Canal, 1993).

Les pectines estérases

La plus connue des pectines estérases est la pectine méthyl-estérase (PME) (EC 3.1.1.11). Cette enzyme de saponification hydrolyse la liaison ester méthylique de l'acide galacturonique en libérant du méthanol et entraînant l'apparition de fonction acide carboxylique sur les résidus galacturoniques. Généralement la saponification n'est pas complète et le degré d'estérification résiduel est compris entre 10 et 30 %. Cette pectine, partiellement désestérifiée, va pouvoir être hydrolysée par une polygalacturonase ou une pectate lyase. Ces enzymes sont donc complémentaires dans l'hydrolyse des pectines.

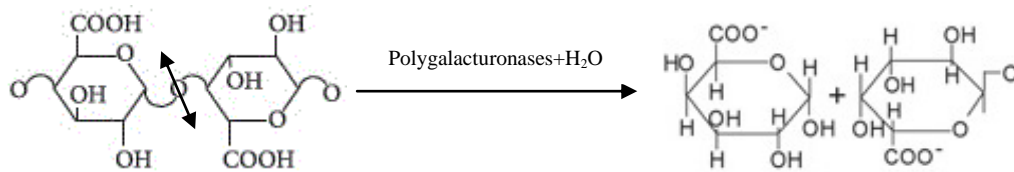


La mesure de l'activité pectine méthyl-estérase peut se faire, soit par le dosage de la quantité de méthanol libérée, soit par l'estimation de la quantité d'acide libérée (variation du pH par exemple). Les pectines estérases issues de végétaux ont un pH d'activité optimale aux environs de 7, celles issues de champignons de type *Aspergillus niger* ont un pH d'activité

optimale compris entre 3.5 et 4.5 (Baron et Thibault, 1985) ce qui permet leur adaptation aux conditions de vinification. L'activité pectine estérase des olives (Mínguez-Mosquera, 2002) augmente lors de la maturation du fruit et participe donc à son ramollissement.

Les polygalacturonases

Elles catalysent l'hydrolyse de la liaison glycosidique entre deux résidus d'acide galacturonique non estérifiées. Les polygalacturonases sont donc d'autant plus actives que le substrat pectique est faiblement méthylé. Au-delà de 75% d'estérification par le méthanol, aucune polygalacturonase n'est efficace.



On distingue les exo-polygalacturonases (EC 3.2.1.40), hydrolysent l'acide polygalacturonique par les extrémités des chaînes libérant ainsi de l'acide galacturonique (ou di-galacturonique) et les endo-polygalacturonases (EC 3.2.1.15), se positionnent de façon aléatoire sur la chaîne d'acide polygalacturonique et finissent par donner des fragments allant de une à trois unités d'acide galacturonique. A l'inverse des exo, les endo-PG permettent en plus d'hydrolyser des polysaccharides présentant des ramifications (Baron et Thibault, 1985). Ces enzymes sont fortement liées à la maturation des fruits tel que le papaye (Lazan *et al.*, 1989), la pêche (Lee *et al.*, 1990), la tomate (Della penna *et al.*, 1990), le raisin (Flanzy et Loisel, 1958 ; Marteau *et al.*, 1961 ; Marteau *et al.*, 1963 ; Grassin, 1987 ; Amrani Joutei et Glories, 1994) et les olives (Mínguez-Mosquera, 2002).

Les lyases

On distingue les pectine-lyases (PL) (EC 4.2.2.10) et les pectate-lyases (PAL) (4.2.2.2). Les pectine-lyases sont des endoenzymes, catalysent une β -élimination sur les pectines estérifiées, et leur affinité augmente avec le taux d'estérification des pectines (Baron et Thibault, 1985). Jusqu'à présent, elles n'ont été rencontrées que chez les moisissures.

Les pectate-lyases (endo et exo) catalysent une β -élimination entre deux résidus galacturoniques déstérifiés. Elles nécessitent donc l'action préalable de pectines estérases et leur pH d'activité optimale est basique (Baron et Thibault, 1985).

IX-1-2- Les cellulases et hemicellulases

Les cellulases

Les cellulases sont des enzymes intervenant dans la dépolymérisation de la cellulose native. La lyse enzymatique de la cellulose ou cellulolyse fait intervenir un mécanisme complexe utilisant plusieurs activités enzymatiques différentes (Gilkes *et al.*, 1991). On distingue :

Les endo-glucanases (EC 3.2.1.4) semblent être les précurseurs de ce processus. Elles ouvrent la structure en faisceaux de la cellulose au niveau de sa région amorphe en coupant les liaisons glucosidiques internes des chaînes E-glucane, formant ainsi des chaînes plus courtes (Sprey et Bochem, 1992 ; 1993). C'est à partir de ces passages que d'autres enzymes pourront agir comme les exoglucanases et les β -glucosidases (EC 3.2.1.21) (Henrissat *et al.*, 1985).

Les exo-glucanases agissent de façon récurrente à partir de l'extrémité non réductrice de :

- L'exo-cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91) libère du cellobiose,
- L'exo-glucohydrolase (EC 3.2.1.74) libère du glucose,
- Les β -glucosidases (EC 3.2.1.2) hydrolysent le cellobiose en glucose.

Les microfibrilles de cellulose cristalline sont difficilement dégradées par le complexe cellulolytique et cette résistance constitue un facteur limitant des technologies de liquéfaction des parois cellulaires des plantes.

Les hemicellulases

Le terme d'hemicellulases est généralement utilisé pour désigner les polysaccharidases qu'on ne peut classer parmi les enzymes amylolytiques, pectinolytiques ou cellulolytiques. Les hemicellulases sont les enzymes dégradant les hémicelluloses. On distingue les xylanases, les arabinanases, les mannanases et les galactanases. Là aussi, il faut la synergie de plusieurs activités en même temps pour hydrolyser un de ces polysaccharides.

IX-2- Les enzymes d'extraction

Les enzymes sont des auxiliaires technologiques de plus en plus utilisés en agroalimentaire. Elles permettent de palier l'absence ou l'insuffisance d'activités des enzymes intrinsèques des fruits. Elles tendent à améliorer l'extraction des composés phénoliques.

Les enzymes sélectionnées sont généralement des mélanges de différentes activités enzymatiques (Berthier *et al.*, 1996) comportant une ou deux activités principales et plusieurs autres activités dites collatérales ou secondaires. Cette composition complexe joue un rôle très important dans les mécanismes d'actions et l'efficacité des préparations. Ces préparations sont issues de culture de souches sélectionnées de champignons comme *Aspergillus niger* ou *Trichoderma*. Le type de microorganisme, le mode de culture et les procédés de purification sont autant de paramètres déterminant la composition de ces préparations et donc leurs rôles œnologiques. On distingue les enzymes d'extraction ou de macération, les enzymes de clarification, les enzymes de filtration ou d'élevage, les enzymes révélatrices d'arômes ...

Les enzymes d'extraction sont constituées en majorité d'activités pectinases, mais elles possèdent aussi des activités collatérales comme les cellulases et hemicellulases (Canal-LLauberes, 1990a). Ce type d'enzymes est utilisé sur les olives pour dégrader les structures pariétales permettant le passage du contenu cellulaire et libérant par la même occasion les polyphénols liés aux parois cellulaires qui pourront enrichir le contenu phénolique de l'huile, surtout lorsque les fruits n'ont pas atteint une fragilité optimale.

X- AROMATISATION DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE

L'huile d'olive vierge est un produit largement produit et consommé à travers les âges dans la cuisine méditerranéenne et est très appréciée pour son délicieux goût et son arôme, ainsi que pour ses propriétés nutritionnelles (Moldao-Martins *et al.*, 2004). En outre, l'huile d'olive présente des quantités considérables d'antioxydants naturels et considéré comme important dans la prévention de nombreuses maladies (Massana *et al.*, 1991; Mancini et Giacco, 1993; Antoun et Tsimidou, 1997; Grati-Kamoun, 2007). Sa consommation est, par conséquent, a gagné l'intérêt des consommateurs originaires principalement de l'Europe du Nord, Etats-Unis et au Canada. Ces consommateurs potentiels ne sont pas familiers avec toutes les applications de l'huile d'olive et peuvent être disposés à acheter des préparations prêtes enrichies d'huile d'olive avec d'autres ingrédients liés à la diète méditerranéenne. Ces produits aromatisés augmenteraient l'utilisation de l'huile d'olive chez les consommateurs non traditionnels, au même temps, en ajoutant de la valeur à ce produit agricole précieux.

Les plantes aromatiques ont également été utilisées depuis l'Antiquité, en arôme alimentaire, pharmaceutique, cosmétique et en parfumerie en raison de la présence d'huiles essentielles. Plusieurs activités biologiques, y compris des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes sont généralement affectés à ces huiles ou à certains de leurs constituants (Piccaglia *et al.*,

1993; Ijaz Hussain *et al.*, 2008). Les herbes, les plantes aromatiques et les épices sont des ingrédients qui pourraient être utilisés pour la production d'huiles d'olive aromatisées. Il est bien connu que les herbes, les plantes aromatiques et les épices maintiennent la valeur nutritive de l'aliment, améliorent les qualités de conservation des produits alimentaires et augmentent leur durée de vie (Chipault *et al.*, 1956; Hirahara *et al.*, 1974; Farag *et al.*, 1989; Tsimidou *et al.*, 1995). Ils sont également utilisés pour enrichir la saveur et l'arôme de divers aliments (Tsimidou et Boskou, 1994).

X-1- Les méthodes d'aromatisation de l'huile d'olive vierge

Les huiles d'olive aromatisées sont traditionnellement préparées par macération de plantes aromatiques dans l'huile. Cependant, l'exploitation des huiles essentielles contenues dans ces plantes par les différentes méthodes d'extraction, à savoir l'extraction à la vapeur d'eau (hydrodistillation), l'extraction par macération dans un solvant (liquide-liquide) ou bien par l'utilisation des ultrasons, ont permis de développer de nouvelles méthodes d'aromatisation des huiles alimentaires en général.

X-1-1- Aromatisation par macération

C'est la méthode traditionnelle connue pour aromatiser les huiles alimentaires en général. En utilisant cette méthodologie, les composés aromatisants sont également co-extraits avec ceux indésirables, tels que des cires et des amers, en modifiant les caractéristiques sensorielles et la stabilité au cours de la durée de conservation (Moldão-Martins *et al.*, 2004). D'autre part, la saisonnalité des plantes aromatiques ne permet pas leur utilisation dans la production des huiles aromatisées tout au long de l'année. Néanmoins, des études de marché ont démontré que les consommateurs sont intéressés par ce type de produit (Nouhad & Tsimidou, 1998). Ainsi, afin de résoudre les problèmes précédents, une approche possible consiste à utiliser des huiles essentielles comme un agent aromatisant au lieu de la plante entière.

X-1-2- Aromatisation par ajout de l'huile essentielle

Cette méthode demande une optimisation pour déterminer la quantité de l'huile essentielle à ajouter afin d'assurer les qualités sensorielles du produit final. Par ailleurs, elle demande à l'avance une extraction des composés aromatiques et antioxydants de la plante aromatique ou de l'épice avec lequel l'huile sera aromatisée. L'extraction classique des antioxydants ou des arômes peut être effectuée de deux manières différentes: la première est de faire une extraction par solvant. Cette première technique pose divers problèmes tels que l'utilisation de

solvants, le temps d'extraction (2-3 h), la température d'extraction (souvent effectuée dans un système de chauffage au reflux), l'évaporation du solvant et la purification de l'extrait. L'autre technique classique est la distillation à la vapeur de l'huile essentielle. Ce processus pose également certains problèmes tels que l'utilisation de grandes quantités d'eau (pour produire la vapeur et pour refroidir le système), la matrice de la plante est bouillie donc il pourrait y avoir des dommages thermiques et aussi, il s'agit d'une procédure longue (2-4 h).

X-1-3- Aromatisation par macération assistée aux ultrasons

Les ultrasons ont été utilisés au cours des dernières années pour certaines extractions des arômes (Da Porto, Decorti & Kikic, 2009; Jadhav, Rekha, Gogate et Rathod, 2009; Kimbaris *et al.*, 2006; Shotipruk, Kaufman & Wang, 2001). Tous les résultats obtenus ont montré à la fois de meilleurs rendements, une meilleure qualité de l'extrait et / ou des temps plus courts de l'extraction. Ces résultats ont été très prometteurs mais comme ils utilisent les solvants, les extraits sont à purifier avant d'être utilisé pour enrichir et aromatiser l'huile d'olive vierge. Cependant, Hamed (2006) a proposé l'utilisation de l'huile alimentaire comme un solvant pour l'extraction des composants antioxydants à partir d'herbes naturelles. Japon-Lujan *et al.* (2008) ont utilisé des feuilles d'oliviers pour un enrichissement direct des huiles alimentaires.

Par ailleurs, certains problèmes dus à l'utilisation des systèmes à ultrasons ont été soulevés par des équipes différentes (CHEMAT, Grondin, Shum Cheong Sing & Smadja, 2004; Patrick, Blindt et Janssen, 2004; Schneider, Zahn, Hofmann, Wecks, et Rohm, 2006). Les saveurs éteintes et la dégradation de l'huile ont été observées en raison de la trop forte intensité de la sonde. En fait, ces deux systèmes sont très puissants parce que les ultrasons sont livrés sur une très petite surface. Ainsi l'intensité des ultrasons à la pointe de la sonde est très élevé (environ 50-200 W / cm²). Le nouveau dispositif mis au point par REUS ne consiste pas en un système de sonde, mais la puissance est fournie dans l'ensemble du système de base, qui correspond à une puissance d'environ 1 W / cm². A cette puissance très peu d'oxydation a pu être observée, ce système est plus applicable à la transformation des aliments.