

# MISE AU POINT SUR LE ROLE DES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS DANS LA PHOTO-OXYDATION DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE

M. RAHMANI \*

L'huile d'olive vierge est extraite à partir des fruits de l'olivier (*Olea europaea*) par des procédés mécaniques n'incluant aucun traitement chimique. C'est l'une des rares huiles végétales à être consommée sans traitement ultérieur ni raffinage. La coloration verdâtre de l'huile est attribuée aux pigments chlorophylliens constitués essentiellement des chlorophylles a et b, et de leurs produits immédiats de dégradation, les phéophytines a et b. La teneur de ces pigments dans l'huile d'olive vierge dépend d'un certain nombre de facteurs tels que la variété et le degré de maturité des olives, du système utilisé pour l'extraction de l'huile ainsi que la durée et les conditions de son stockage. Selon Fedeli (1), la concentration des chlorophylles a et b dans une huile d'olive vierge fraîchement extraite à partir d'olives mûres varie de 1 à 10 mg / kg d'huile tandis que celle des phéophytines a et b varie de 0,2 à 24 mg / kg d'huile.

---

\* Enseignant Chercheur à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II  
Rabat - Instituts (Maroc)

La phéophytine a est le pigment chlorophyllien le plus représenté dans l'huile d'olive vierge (2,3,4) comme c'est le cas d'ailleurs dans les huiles alimentaires de graines (5). La question longtemps posée par les chercheurs, était de savoir si les phéophytines sont des produits d'oxydation des chlorophylles prenant place lors de l'extraction de l'huile (2), ou si elles préexistaient déjà dans les graines et fuits oléagineux comme l'ont suggéré Usuki et coll. (5, 6). Récemment, nous avons mis en évidence la présence de la phéophytine a in vivo, dans des olives vertes (4).

L'altération oxydative de l'huile d'olive vierge est attribuée classiquement à l'auto-oxydation. Ce processus implique l'apparition, au niveau des doubles liaisons des acides gras insaturés, d'hydroperoxydes dont la décomposition ultérieure conduira à la formation d'une chaîne de réactions radicalaires d'auto-oxydation. Celle-ci entraîne une dégradation nutritionnelle de l'huile et la formation de divers produits de décomposition qui confèrent à l'huile d'olive vierge une odeur et une flaveur indésirables, tandis que certaines de ses propriétés physiques, comme la viscosité peuvent être altérées (7, 8, 9).

Un regain d'intérêt a vu le jour depuis les deux dernières décennies concernant l'effet des pigments chlorophylliens sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Ces pigments sont des photosensibilisateurs qui, en présence de lumière, produisent de l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ). Cette espèce d'oxygène excité, est très réactive et réagit environ 1 500 fois plus rapidement avec l'acide linoléique que l'oxygène atmosphérique ( $^3O_2$ ) (10). Les produits de photo-oxydation des acides gras insaturés de l'huile sont aussi des hydroperoxydes instables, qui peuvent se décomposer pour donner des composés volatils, à faible poids moléculaire, très odorifères et qui sont à l'origine du rancissement de l'huile d'olive vierge. Il est admis actuellement que la photo-oxydation des huiles végétales alimentaires, induite par les chlorophylles et leurs produits immédiats de dégradation, les phéophytines, est à l'origine des radicaux libres nécessaires à l'initiation des réactions d'auto-oxydation (10, 11).

L'alpha-tocophérol et le bêta-carotène, produits naturels de l'huile d'olive vierge, sont capables de retarder les effets néfastes de la photo-oxydation en désactivant l'oxygène singulet (12, 13).

A l'obscurité, l'effet spécifique des chlorophylles et phéophytines sur la stabilité oxydative des huiles végétales alimentaires est mal connu et les travaux antérieurs qui ont été publiés sur ce sujet, sont loin de faire l'unanimité. En effet, selon Frankel et coll.(13), les chlorophylles dans l'obscurité catalyseraient l'auto-oxydation des esters de l'huile de soja ; selon Rahmani (4), elles n'auraient aucun effet et enfin, selon Interesse et coll. (14), elles posséderaient un pouvoir antioxydant. D'autre part, il n'est pas prouvé que l'oxygène singulet contribue à l'oxydation de l'huile d'olive vierge stockée à l'obscurité. (15, 16).

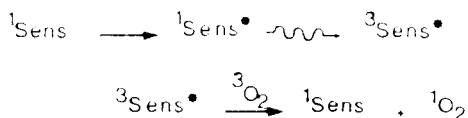
La présente étude est une mise au point sur le rôle des pigments chlorophylliens, de l'alpha-tocophérol et du bêta-carotène dans le processus de photo-oxydation de l'huile d'olive vierge.

## Mécanisme de la photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens

En solution dans l'huile d'olive vierge, les pigments chlorophylliens jouent le rôle de photosensibilisateurs, (Sens) et catalysent la production de l'oxygène singulet selon le schéma réactionnel indiqué en figure 1.

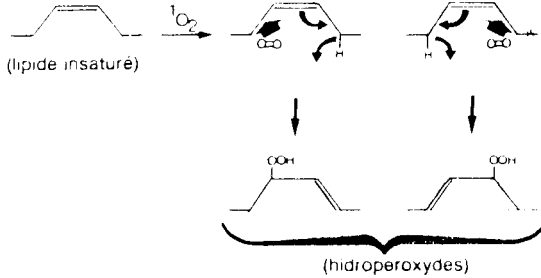
Après absorption d'un photon lumineux (hv), la molécule de chlorophylle ou de phéophytine passe d'un état singulet fondamental ( $^1\text{Sens}$ ) à un état singulet excité ( $^1\text{Sens}^*$ ) puis, par transmission électronique, à un état triplet excité ( $^3\text{Sens}^*$ ). Cet état métastable est de courte durée de vie et a tendance à revenir à l'état singulet fondamental en transférant l'excès d'énergie d'excitation à l'oxygène atmosphérique dissous dans l'huile pour donner l'oxygène singulet. Cette dernière espèce a un surplus d'énergie d'excitation d'environ 22 kcal / mole, relativement à l'oxygène atmosphérique.

Figure 1 : Production de l'oxygène singulet par les pigments chlorophylliens



L'oxygène singulet ainsi produit réagit directement, par simple addition sur chaque carbone de la double liaison de l'acide gras insaturé de l'huile (réaction dite "ène" pour donner des hydroperoxydes (Fig 2.). Deux possibilités de fixation de l'oxygène singulet existent donc pour chaque double liaison, ce qui explique le nombre d'hydroperoxydes obtenus et qui est toujours double du nombre de double (s) liaison (s) dans l'acide gras insaturé, substrat de la photo-oxydation. On s'attendrait logiquement à des réactivités relatives d'acides gras insaturés dans un rapport similaire à celui du nombre de leurs doubles liaisons. Ce n'est pas tout à fait le cas car les réactivités relatives avec l'oxygène singulet de l'oléate, linoléate et linoléate de méthyle sont respectivement, 1 ; 1,7 et 2,3 (17). La forme de l'acide gras insaturé, libre ou estérifié dans un triglycéride, n'a pas d'influence sur sa réactivité relative vis à vis de l'oxygène singulet (17, 18).

Figure 2 : Réaction de l'oxygène singulet avec un lipide insaturé



L'acide oléique, principal acide gras de l'huile d'olive, produit selon la réaction "ène" deux types d'hydroperoxydes : le 9 - et le 10 - hydroperoxydes. L'acide linoléique produit quatre isomères d'hydroperoxydes : deux conjugués (9 - et 13 - hydroperoxydes) et deux non conjugués (10 - et 12 - hydroperoxydes). L'acide linoléique en produit six : quatre conjugués (9 - ; 12 - ; 13 - et 16 - hydroperoxydes) et deux non conjugués (10 - et 15 - hydroperoxydes).

A la différence des réactions radicalaires d'auto-oxydation qui ne produisent que des isomères hydroperoxydes conjugués, la photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens, produit aussi bien des isomères hydroperoxydes conjugués que des isomères hydroperoxydes non conjugués. Pour une huile alimentaire à faible teneur en acide linoléique, ce qui est le cas de l'huile d'olive vierge, la présence d'une quantité substantielle de l'isomère 12 - hydroperoxyde est une indication de photo-oxydation sensibilisée.

## Rôle des pigments chlorophylliens dans la photo-oxydation de l'huile d'olive vierge

La plupart des travaux antérieurs sur la photo-oxydation des matières grasses, étaient effectués sur des systèmes modèles. L'huile d'olive a fait l'objet de peu de publications.

A notre connaissance, Coe (19), a été l'un des premiers chercheurs à mentionner en 1938 les effets néfastes et conjugués de la lumière et des pigments chlorophylliens sur la stabilité oxydative des huiles alimentaires.

Beaucoup plus tard (1971), Interesse et Coll. (14), ont suivi l'état d'oxydation d'échantillons d'huile d'olive décolorée auxquels ont été ajoutées des quantités différentes de chlorophylle a ou b, ou de phéophytine a ou b. La moitié de chaque échantillon est placée à l'obscurité et l'autre moitié à la lumière diffuse du jour pendant une durée de 220 jours. Les résultats de cette étude montrent que les quatre

pigments ont un pouvoir prooxydant dans les échantillons d'huile exposés à la lumière, bien que cette capacité prooxydante ne paraisse pas augmenter proportionnellement avec la concentration du pigment. Par contre ces pigments ont un pouvoir antioxydant à l'obscurité, qui dépend de façon remarquable de leur concentration dans l'huile. La phéophytine b a montré l'activité la plus marquée, à la lumière en tant que prooxydant, et à l'obscurité en tant qu'antioxydant.

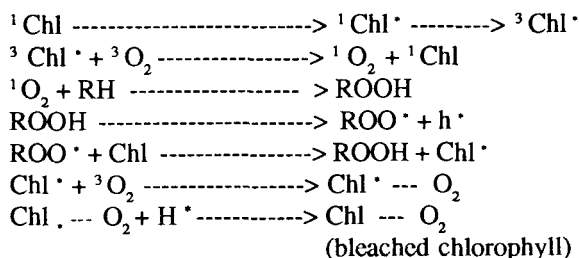
Le rôle photosensibilisateur des pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive vierge, a été ensuite bien démontré dans une série d'expériences par Sanelli (7), Werman et Neeman (20). Quoique les huiles raffinées de soja et de lin soient beaucoup plus insaturées que l'huile d'olive vierge, ces deux huiles se révèlent plus résistantes à l'action de la lumière du jour. Ce résultat peut être expliqué par l'effet photosensibilisateur des pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive vierge. Lorsque ces pigments ont été éliminés par raffinage, l'huile d'olive raffinée a montré une stabilité photo-oxydative supérieure à celles des deux autres huiles.

Kiritsakis et Coll. (21) ont étudié l'influence d'un certain nombre d'antioxydants phénoliques de synthèse sur la vitesse de photo-oxydation de l'huile d'olive vierge. Au bout de six mois de stockage dans les récipients transparents, à la lumière du jour et à température ambiante, le niveau de peroxydation dans les échantillons contenant les antioxydants de synthèse était similaire à celui dans les échantillons dépourvus de ces antioxydants. Ceci donne à penser que les polyphénols, antioxydants naturels de l'huile d'olive vierge, seraient malheureusement peu efficaces contre le processus de photo-oxydation de l'huile d'olive vierge.

Selon les travaux de Rahmani (4) et ceux de Kiritsakis et Dugan (22), la vitesse de photo-oxydation de l'huile d'olive décolorée croît avec les concentrations de chlorophylle ou de phéophytine qui lui sont ajoutées. De même, les huiles d'olive vierges, de fin de campagne oléicole montrent une plus grande résistance à la photo-oxydation que les huiles du début de campagne, généralement plus riches en pigments chlorophylliens (23). A l'obscurité, nos travaux (4, 23) n'ont permis de dégager ni un effet pro-oxydant, ni un effet antioxydant des pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive décolorée.

L'action prooxydante des chlorophylles et phéophytines dans l'huile d'olive décolorée et exposée à la lumière a été trouvée par Rahmani (4) comme suit phéophytine b > phéophytine a > chlorophylle b > chlorophylle a. Ces résultats concordent avec les travaux antérieurs rapportés par Interesse et Coll. (14) et indiquent que lors de l'évaluation de la stabilité photo-oxydative d'une huile d'olive vierge, on ne doit pas tenir en compte seulement sa teneur totale en pigments chlorophylliens, mais aussi les concentrations de chaque type de chlorophylle ou de phéophytine.

Dans le processus de photo-oxydation, l'huile d'olive vierge perd graduellement sa coloration verdâtre spécifique, suite au blanchiment des pigments chlorophylliens, et ce, au fur et à mesure de la progression de la photo-oxydation (4, 21, 22). La différence dans le pouvoir prooxydant des chlorophylles et phéophytines dans l'huile d'olive décolorée et exposée à la lumière peut être reliée aux stabilités relatives de ces pigments vis-à-vis de la lumière et des hydroperoxydes produits par la réaction de photo-oxydation (4, 14). Sastry et Coll. (24) ont étudié le blanchiment sous vide des chlorophylles (Chl) en présence de lipides insaturés (RH) exposés à la lumière. Ces auteurs suggèrent que les radicaux peroxy (ROO\*), issus de la décomposition photocatalytique des hydroperoxydes (ROOH), interviennent dans le blanchiment des chlorophylles et proposent le mécanisme suivant :



## Rôle de l'alpha-tocophérol dans la photo-oxydation de l'huile d'olive vierge

La teneur en tocophérols totaux des huiles d'olive vierges varie de 5 à 300 mg / kg. d'huile selon l'acidité de ces huiles (1, 25). Généralement, les huiles fortement acides sont pauvres en tocophérols. La composition qualitative des tocophérols totaux de l'huile d'olive vierge montre une prédominance de l'isomère alpha (90 - 100 %). Cet isomère tocophérolique montre un effet inhibiteur de la photo-oxydation de systèmes modèles. L'effet inhibiteur de l'alpha-tocophérol implique une désactivation de l'oxygène singulet à l'oxygène atmosphérique mais aussi une réaction chimique avec lui pour produire des quinones tocophéroliques et des époxydes de quinones (26, 27). Dans les deux cas, l'alpha - tocophérol protège la matière grasse insaturée contre l'action néfaste de l'oxygène singulet. Cependant, la tendance de l'alpha-tocophérol à réagir chimiquement avec l'oxygène singulet est plus forte que sa tendance à le désactiver ce qui laisse prévoir que l'alpha-tocophérol ne serait efficace que pendant les premières phases de la photo-oxydation.

L'addition de l'alpha-tocophérol, à des concentrations de 50, 100 et 150 mg / kg. d'huile, n'a pas réduit de façon significative la vitesse de photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens de l'huile d'olive décolorée (22). Des résultats similaires ont été rapportés par Rahmani (4).

## **Rôle du bêta-carotène dans la photo-oxydation de l'huile d'olive vierge**

Le bêta-carotène est un composé naturel de l'huile d'olive vierge et s'y trouve à des concentrations variables entre 0,33 et 4,2 mg/kg. d'huile selon la variété, le degré de maturité et la méthode de cueillette des olives, le système technologique utilisé pour l'extraction de l'huile, l'âge de l'huile ainsi que d'autres facteurs (1, 22, 28).

Le bêta-carotène est bien connu comme un désactivant de l'oxygène singulet et de ce fait compte parmi les inhibiteurs les plus efficaces de la photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens dans les huiles alimentaires.

Kiritsakis et Dugan (22) ont trouvé que des concentrations en bêta-carotène de 4 mg / kg. d'huile retardent de façon significative le processus de photo-oxydation induite par les pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive décolorée. Ces auteurs n'ont pas trouvé de différence entre les effets de l'alpha et du bêta-carotène. Fakourelis et Coll. (16) rapportent que cet effet inhibiteur du bêta-carotène augmente avec sa concentration dans l'huile d'olive décolorée. Rahmani (23) a trouvé que pour des niveaux similaires d'alpha-tocophérol et d'insaturation, les huiles d'olive vierges de fin de campagne oléicole, quoique beaucoup moins riches en bêta-carotène que les huiles du début de campagne, sont plus stables à la photo-oxydation parce qu'elles renferment moins de pigments chlorophylliens. Il est donc important de considérer le rapport de concentrations pigments chlorophylles / bêta-carotène lors de l'évaluation de la stabilité photo-oxydative des huiles d'olive vierges.

## **Conclusion**

L'huile d'olive vierge est consommée sans aucun raffinage. Par conséquent, elle est relativement riche en pigments chlorophylliens et de ce fait, très susceptible à la photo-oxydation. L'altération photo-oxydative de l'huile a des répercussions négatives, sur sa qualité nutritionnelle et organoleptique. L'action photocatalytique des pigments chlorophylliens croît avec leur concentration, d'où l'intérêt de produire des huiles d'olive vierges à partir d'olives mûres et de procéder au défeuillage lors de l'extraction de l'huile. Le bêta-carotène, un désactivant connu de l'oxygène singulet, a un rôle inhibiteur de la photo-oxydation de l'huile. Il est recommandé de stocker les huiles d'olive vierges dans des matériaux opaques pour éviter l'action catalytique de la lumière dans le processus de photo-oxydation.



## BIBLIOGRAPHIE

1. FEDELI, E. : "Lipids of olives". Prog. Chem. Fats Other Lipids 15, pp. 57 - 74, 1977.
2. MINGOT, M. L. : "Valoracion espectrofotométrica de clorofilas y feofitinas en aceite de oliva". Anales Inv. Agron. 5, pp. 295 - 307, 1956.
3. VITAGLIANO, M. et TURRI, E. : "La misura dei costituenti minori negli oli di oliva italiani". Olearia 12, pp. 145 - 156, 1958.
4. RAHMANI, M. : "Studies of factors affecting olive oil quality with special reference to Morocco". Thèse Ph. D., Université de Minnesota (USA), 1987.
5. USUKI, R. ; SUZUKI, T. ; ENDO, Y. et KANEDA, T. : "Residual amounts of chlorophylls and pheophytins in refined edible oils". J. Amer. Oil Chem. Soc. 61, pp. 785 - 788, 1984.
6. USUKI, R., ENDO, Y. et KANEDA, T. : "Prooxidant activities of chlorophylls and pheophytins on the photooxidation of edible oils". Agric. Biol. Chem. 48, pp. 991 - 994, 1984.
7. SANELLI, B. : "La conservabilità degli oli vegetali in rapporto al grado di insaturazione e del contenuto di clorofilla. Nota I : irrancidimento." Riv. It. Sost. Grasse 58, pp. 125 - 131, 1981.
8. SANELLI, B. : "La conservabilità degli oli vegetali in rapporto al grado di insaturazione e del contenuto di clorofilla. Nota II : Variazioni dell'acidità, del numero di iodio e della composizione degli acidi grassi". Riv. Ital. "Sost. Grasse 58, pp. 184 - 190, 1981.
9. SUAREZ, J. M. M. : "Olive Oil Technology", édité par SUAREZ, J. M. M., Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1975, pp. 6 - 16.
10. RAWLS, J. R. et VAN SANTEN, P. J. : "A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autoxidation". J. Amer. Oil Chem. Soc. 47, pp. 121 - 125, 1970.
11. RAWLS, J. R. et VAN SANTEN, P. J. : "Singlet oxygen : a possible source of the original hydroperoxides in fatty acids". Ann. N. Y. Acad. Sci. 171, pp. 135 - 137, 1970.

12. YAMAUCHI, R. et MATSUSHITA, S. : " Quenching effect of tocopherols on the methyl linoleate photooxidation and their oxidation products". *Agric. Biol. Chem.* 41, pp. 1. 425 - 1. 430, 1977.
13. FRANKEL, E. N. ; NEFF, W. E., et BESSLER, T. R. : " Analysis of autoxidized fats by gas chromatography - mass spectrometry. V. Photosensitized oxidation". *Lipids* 14, pp. 961 - 967, 1979.
14. INTERESSE, F. S. ; RUGGIERO, P. et VITAGLIA - NO. M. : " L'autossidazione dell' olio di oliva : influenza dei pigmenti clorofillici". *Industrie Agrarie* 9, pp. 318 - 324, 1971.
15. PARK, D. K. ; TERAQ, j. et MATSUSHITA, S. : "The isomeric composition of hydroperoxides formed by autoxidation of unsaturated triglycerides and vegetable oils". *Agric. Biol. Chem.* 45. pp. 2071 - 2076, 1981.
16. FAKOURELIS, N. ; LEE, E. C. , et MIN, D. B. : " Effects of chlorophyll and beta-carotene on the oxidation stability of olive oil". *J. Food Sci.* 52, pp. 234 - 235, 1987.
17. TERAQ, J. et MATSUSHITA, S. : " Products formed by photosensitized oxidation of unsaturated fatty acid esters". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 54, pp. 234 - 238, 1977.
18. TERAQ, J. et MATSUSHITA, S. : " Reactivities and products in photosensitized oxidation of unsaturated triglycerides". *Agric. Biol. Chem.* 42, pp. 667 - 668, 1978.
19. COE. M. R. : " Photochemical studies of rancidity : the mechanism of rancidification ". *Oil & Soap* 15, pp. 230 - 236, 1938.
20. WERMAN, M. J. et NEEMAN, I. : "Oxidative stability of avocado oil". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 63, pp. 355 - 360, 1986.
21. KIRITSAKIS, A. ; STINE, C. M., and DUGAN, L. R. : " Effect of selected antioxidants on the stability of virgin olive oil". *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 60, pp. 1286 - 1290, 1983.

22. KIRITSAKIS, A. et DUGAN, L. R. : "Studies in photooxidation of olive oil". J. Amer. Oil Chem Soc. 62, pp. 892 - 896, 1985.
23. RAHMANI, M. : Travaux non publiés.
24. SASTRY, Y. S.R. ; RAO, P. V., et LAKSHMINARAYANA, G. : " Bleaching behaviour of chlorophyll substrates under vacuum on exposure to visible light". Oléagineux 28, pp. 467 - 470, 1973.
25. TISCORNIA, E. ; FORINA, M., et EVANGELISTI, F. : " Composizione chimica dell ' olio di oliva e sue variazioni indotte dal processo di rettificazione, Riv. Ital. Sost. Grasse 59, pp. 519 - 555, 1982.
26. GRAMS, G. M. ; ESKINS, K. et INGLETT, G. E. : " Dye-sensitized photooxidation of alpha-tocopherol". J. Amer. Chem. Soc. 94, pp. 866 - 868, 1972.
27. CLOUCH, R. L. ; YEE, B. G. , et FOOTE, C. S. : "Chemistry of singlet oxygen 30. The unstable primary product of tocopherol photooxidation". J. Amer. Chem. Soc. 101, pp. 683 - 686, 1979.
28. VITAGLIANO, M. : " I costituenti minori dell ' olio di oliva". Riv. Ital. Sost. Grasse 37, pp. 136 - 140, 1960.