

Etude du mécanisme de désactivation de l'oxygène singulet par les polyphénols lors de la photooxydation de l'huile d'olive

Janati Idrissi I.¹, Rahmani M.², Souizi A.³

1 : Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Département des Sciences Alimentaires et Nutritionnelles. B.P. 6202. Rabat 10100 - Instituts/Maroc. Tél : (212)06 68484552 ; Fax : (212)05 37778135

2 : Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Département des Sciences Alimentaires et Nutritionnelles, B.P. 6202. Rabat 10100- Instituts/Maroc.

3 : Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences ; Laboratoire de Synthèse Organique et Agrochimie, Département de Chimie, B.P 133. Kénitra 14000 /Maroc.

RESUME

*Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques a été évalué par le suivi de l'indice de peroxyde au cours de la photooxydation de l'huile d'olive vierge, décolorée en présence de la chlorophylle **a**, à une intensité lumineuse de 2,62W/m². Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques testés décroît dans l'ordre :*

hydroxytyrosol > acide caféique > tyrosol > acide syringique.

*Le mécanisme de désactivation de l'oxygène singulet par les composés phénoliques a été déterminé en étudiant la cinétique de photooxydation de l'huile d'olive décolorée en présence de la chlorophylle **a** et de différentes concentrations de polyphénols. Les résultats ont montré que les polyphénols réduisent la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet.*

Mots clés : *Huile d'olive vierge, photooxydation, chlorophylle **a**, polyphénols, antioxydants, oxygène singulet.*

دراسة آليات تعطيل الأوكسجين الأحادي من طرف المركبات الفينولية أثناء الأكسدة الضوئية لزيت الزيتون

جناتي إدريسي إ.، الرحماني م.، سويزي أ.

ملخص

تم تقييم مضادة الأكسدة للمركبات الفينولية من خلال رصد مؤشر بيروكسيد أثناء الأكسدة الضوئية لزيت الزيتون البكر التي تم إزالة لونها، في وجود مادة الكلوروفيل (أ) و ضوء شدته 2.62 وات / م².

قوة المركبات الفينولية تنخفض حسب الترتيب التالي:

هيدروكسيترول < حامض الكافيك < حامض سرانجيك < تيروزول.

آلية تعطيل الأوكسجين الأحادي من طرف المركبات الفينولية تم تحديدها عبر دراسة حركية الأكسدة الضوئية لزيت الزيتون التي تم إزالة لونها في وجود مادة الكلوروفيل (أ) وتركيزات مختلفة للمركبات الفينولية.

النتائج أظهرت أن المركبات الفينولية تخفض الأكسدة الضوئية عبر تعطيل الأوكسجين الأحادي.

الكلمات المفتاح : زيت الزيتون البكر، الأكسدة الضوئية، مادة الكلوروفيل (أ)، المركبات الفينولية، مضادة الأكسدة، أوكسجين أحادي.

Study of the mechanism of deactivation of singlet oxygen by the polyphenols in the photooxidation of olive oil

SUMMARY

*The antioxidant capacity of phenolic compounds was evaluated by the follow-up of the peroxide value during the photooxidation of bleached olive oil, irradiated in presence of chlorophyll **a** with a light intensity of 2,62 W/m². The antioxidant capacity of the phenolic compounds tested decreased in the following order: hydroxytyrosol > caffeic acid > tyrosol > syringic acid. The mechanism of deactivation of singlet oxygen by the phenolic compounds was determined by studying the kinetics of photooxidation of bleached olive, in presence of chlorophyll **a** and various concentrations of the phenolic compounds. The results showed that polyphenols reduced the photooxidation by deactivation of singlet oxygen.*

Key words: *Virgin olive oil, photooxidation, chlorophyll **a**, polyphenols, antioxidants, singlet oxygen.*

Introduction

La photooxydation des huiles végétales est sensibilisée par les chlorophylles **a** et **b** et leurs produits de dégradation, les phéophytines **a** et **b**, qui induisent la formation de l'oxygène singulet. Les phéophytines ont un effet photosensibilisateur plus important que celui des chlorophylles (Psomiadou et Tsimidou, 2002).

La photooxydation est une réaction procédant par simple addition de l'oxygène singulet sur les doubles liaisons des acides gras insaturés. C'est une réaction rapide ; l'oxygène singulet est environ 1000 à 1500 fois plus réactif que l'oxygène triplet vis-à-vis des doubles liaisons pour former les hydroperoxydes (Cillard et Cillard, 2006).

Plus de 99% de l'indice de peroxyde d'une huile végétale stockée à la lumière sont dus à l'oxydation photosensibilisée ; moins de 1% est dû à l'autooxydation (Jung et Min, 1991).

L'huile d'olive vierge, à l'encontre des autres huiles végétales, est consommée sans raffinage ; ce qui lui permet de garder toute sa composition naturelle, notamment en chlorophylles et en phéophytines. De ce fait, en présence de la lumière, l'huile d'olive vierge est la moins stable de toutes les huiles alimentaires malgré son faible degré de poly-insaturation. En effet, plusieurs études ont montré le rôle photosensibilisateur des pigments chlorophylliens et de leurs produits de dégradation dans l'huile d'olive vierge (Endo et al, 1984; Ben Tekaya et Hassouna, 2007; Mun et al, 2011).

Parmi les trappes naturelles de l'oxygène singulet se trouvent les caroténoïdes, les tocophérols et les phénols (Jung et Min, 1991; Mun et al, 2011; Choe et al, 2009b). Les mécanismes de désactivation de l'oxygène singulet par les caroténoïdes et les tocophérols, lors de la photooxydation des huiles végétales, ont été étudiés (Bradley et Min, 1992; Jung et al, 1991; Min et Boff, 2002).. Cette désactivation se fait à la fois par un piégeage physique et chimique. Le piégeage physique aboutit à la désactivation de l'oxygène singulet à l'état fondamental triplet par transfert d'énergie ou de charge. Le piégeage chimique de l'oxygène singulet est une réaction impliquant l'oxydation du piègeur pour former des produits d'oxydation (Choe et al, 2009b). Cependant, les mécanismes de désactivation de l'oxygène singulet par les polyphénols, lors de la photooxydation de l'huile d'olive vierge, n'ont pas fait l'objet d'étude spécifique. Il est à rappeler qu'à côté des tocophérols, les polyphénols sont les principaux antioxydants des huiles d'olive vierges.

Cette étude a pour objectif la détermination du pouvoir antioxydant des composés phénoliques, le mécanisme et la cinétique de désactivation de l'oxygène singulet lors de la photooxydation de l'huile d'olive décolorée en présence de la chlorophylle **a**.

Matériel et méthodes

La présente étude a été menée sur un échantillon d'huile d'olive vierge acheté au commerce. L'huile d'olive vierge a été décolorée selon la méthode de Rahmani et Csallany (Rahmani et Csallany, 1985).

Les caractéristiques de l'huile étudiée, ont été déterminées en mesurant l'acidité libre exprimée en pourcentage d'acide oléique selon la méthode UICPA n°2.201 (1979), l'indice de peroxyde exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme d'huile selon la méthode UICPA n°2.501 (1979) et l'absorbance dans l'ultra-violet selon la méthode CAC/RM 26 (1970).

La composition en pigments chlorophylliens exprimée en ppm a été déterminée selon la méthode de Rahmani et Csallany (1985).

Les polyphénols totaux ont été déterminés suivant la méthode de Vazquez Roncero et *al.* (1973).

La chlorophylle **a** a été extraite à partir des épinards selon la méthode décrite par Schwartz et Von Elbe (1983) et purifiée selon la méthode décrite par Zcheille et Comar (1941). L'hydroxytyrosol a été extrait à partir des feuilles d'olivier selon la méthode décrite par Panizzi et *al.* (1960). Le tyrosol, l'acide caféique et l'acide syringique ont été achetés auprès d'Extrasynthèse (France).

Détermination du pouvoir antioxydant des composés phénoliques

Les essais de photooxydation ont porté sur des systèmes constitués d'une huile d'olive décolorée en présence de la chlorophylle **a**, à une concentration de 10 ppm, et d'un composé phénolique (hydroxytyrosol, tyrosol, acide caféique ou acide syringique) à une concentration égale à 0,01% (m/m) pour chacun d'entre eux. Le témoin ne contenait pas de composé phénolique. Ces systèmes ont été irradiés à une intensité lumineuse égale à 2,62 W/m² (c'est une intensité lumineuse équivalente à celle mesurée dans un hypermarché). Le système d'irradiation utilisé est constitué de deux lampes fluorescentes (Philips 220V - 20 W ; 57,3 cm de longueur), placées dans un réfrigérateur où la température a été réglée entre 10 et 12°C. Les échantillons d'huile à photooxyder, contenus dans des boîtes de Pétri de 140 mm de diamètre et de 15 mm de hauteur contenant 100 g d'huile à photooxyder, ont été placés à une distance adéquate de la source lumineuse. Afin d'éliminer les radiations infrarouges émises lors de l'irradiation, un cristalliseur contenant une couche d'eau d'environ 2 cm a été placé entre les échantillons et les lampes.

Les durées d'irradiation ont été de 0 ; 6 ; 12 ; 24 ; 48 ; 72 et 120 heures. La peroxydation de l'huile d'olive décolorée a été évaluée par la mesure de l'indice de peroxyde.

Détermination des constantes de vitesse de la cinétique de désactivation des polyphénols lors de la photooxydation de l'huile d'olive [(K_{ox-Q} + K_q), K_r]

Les mécanismes et les cinétiques de désactivation de l'oxygène singulet par les polyphénols, au cours de la photooxydation sensibilisée par la chlorophylle **a** de l'huile d'olive décolorée, ont été déterminés selon la méthode décrite par Foote (1979).

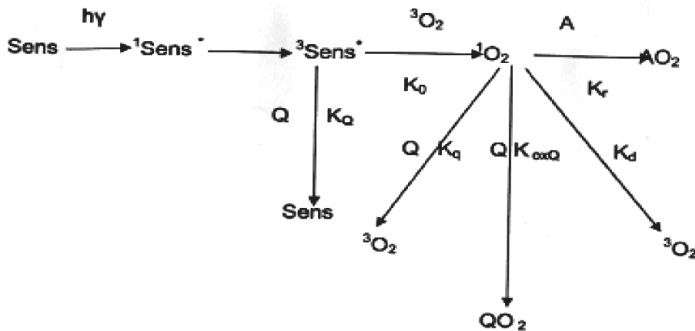


Figure 1 : Diagramme schématisé de formation des produits oxydés (AO₂) par photooxydation (Foote, 1979).

Sens : sensibilisateur ; Sens* : sensibilisateur à l'état excité ; ¹O₂ : Oxygène singulet ; A : Accepteur ; Q : « trappe » de l'oxygène singulet.

Si on admet que les polyphénols désactivent seulement l'oxygène singulet, l'équation suivante est établie :

$$\frac{d [AO_2]}{dt} = K \cdot \frac{K_r [A]}{k_r [A] + (K_{oxQ} + K_q)[Q] + K_d}$$

K = constante de vitesse de la formation de l'oxygène singulet ;

[A] = concentration de l'huile d'olive décolorée;

[AO₂] = concentration de l'hydroperoxyde ;

K_r = constante de vitesse de la réaction du substrat avec l'oxygène singulet ;

K_q = constante de vitesse de la réaction de désactivation physique de l'oxygène singulet par le composé phénolique ;

K_{oxQ} = constante de vitesse de la réaction chimique du composé phénolique avec l'oxygène singulet ;

K_d = constante de vitesse de la réaction de désactivation de l'oxygène singulet dans le solvant

L'équation cinétique prédit que si les ordonnées à l'origine des droites de différentes concentrations en antioxydant sont égales et les pentes de ces droites sont différentes, La réduction de l'oxydation photosensibilisée par l'antioxydant est due à la désactivation de l'oxygène singulet.

Les droites de régression de $[AO_2]^{-1}$ vs. $[A]^{-1}$ à différentes concentrations en antioxydant donnent une ordonnée à l'origine constante et égale à K^{-1} , et la pente de chaque droite est égale à $K^{-1} [(K_{ox}-Q+K_q) [Q] + K_d] / K_f$. Les ordonnées de ces droites sont indépendantes de la concentration en antioxydant et les pentes sont dépendantes de ces concentrations (Foote, 1979).

La droite de régression du rapport pente/ordonnée à l'origine des droites de régression de $([AO_2]^{-1}$ vs. $[A]$ et vs $[Q]$ permet la détermination du rapport K_d/K_f à partir de l'ordonnée à l'origine de cette droite et $(K_{ox}-Q+K_q)/K_f$ à partir de la pente. La constante K_d étant connue pour plusieurs solvants, on peut déduire la valeur de K_f et par la suite déduire la valeur de $(K_{ox}Q + K_q)$.

Des échantillons de différentes concentrations d'huile d'olive décolorée: (0,049 ; 0,074 ; 0,099 ; 0,0247 ; 0,495 et 0,99 M) dans le dichlorométhane, contenant 10 ppm de la chlorophylle **a** et 0 ; 5 ; 10 ou 20 ppm de polyphénols (hydroxytyrosol, tyrosol, acide caféique ou acide syringique), ont été préparés. Vingt ml d'échantillon ont été mis dans des bouteilles de 30 ml bien fermées pour éviter l'évaporation du dichlorométhane, ces échantillons ont été irradiés ensuite pendant 48 heures (L'IP du témoin a atteint la valeur de 15 meq O_2/kg au bout de 48 heures d'oxydation, une valeur qu'on a jugé suffisante pour mener le test) à une intensité lumineuse de $2,77 W/m^2$ à $10 \pm 2^\circ C$. La valeur de K_d dans le dichlorométhane est : $1,1 \times 10^4 \text{ sec}^{-1}$ (Cillard J. et Cillard P., 2006). Le suivi de l'oxydation de l'huile d'olive a été réalisé par détermination de l'indice de peroxyde.

La composition en acides gras de l'huile d'olive décolorée a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse suivant la méthode Selon la méthode UICPA (1987). La composition en acides gras déterminée a été comme suit (% , m/m) : ac.palmitique 8,5 ; ac. palmitoléique : 0,2 ; ac.stéarique : 2,2 ; ac.oléique : 78,6 ; ac.linoléique : 8,6 ; ac. Linoléique : 0,6 ; ac. Arachidique : 0,3 et ac. Gadoléique : 0,4.

Le poids moléculaire moyen de l'huile d'olive décolorée est 872 ; il a été obtenu à partir de l'équation suivante :

$$PM = \frac{(806 \times 8,5) + (800 \times 0,2) + (890 \times 2,2) + (884 \times 78,6) + (878 \times 8,6) + (872 \times 0,6) + (974 \times 0,3) + (968 \times 0,4)}{100}$$

100

Les poids moléculaires des triglycérides homogènes formés par les acides gras suivants : ac.palmitique, ac. palmitoléique, ac. stéarique, ac. oléique, ac. linoléique, ac.linoléique, ac.arachidique et ac. gadoléique sont respectivement : 806, 800, 890, 884, 878, 872, 974 et 968.

Résultats et discussion

Caractéristiques des huiles d'olive étudiées

L'échantillon d'huile d'olive vierge avait un indice de peroxyde initial de 10 meq O₂/kg d'huile, une acidité libre exprimée en acide oléique équivalente à 1,04%, une absorbance (E^{1%}_{1cm}) à 232 nm de 1,59, une absorbance ((E^{1%}_{1cm}) à 270 nm de 0,28 et un Δ K égale à 0,008. Ces valeurs permettent de classer l'échantillon comme une huile vierge, selon la dénomination du Conseil Oléicole International (2011).

L'échantillon contenait 9,41 mg/g de phéophytine **a**. Cette valeur correspond à celle rapportée par Rahmani et Csallany (1985). Il contenait 30,7 mg/kg de polyphénols totaux exprimés en acide caféique.

Le processus de décoloration a éliminé toute la phéophytine **a**, les polyphénols totaux ont été réduits à 1,9 mg/kg (exprimé en acide caféique).

L'huile d'olive décolorée avait un indice de peroxyde de 3,82meq O₂/kg d'huile, une acidité libre, exprimée en acide oléique de 0,05%, une absorbance (E^{1%}_{1cm}) à 270 nm de 0,12 et un Δ K égale à 0,008.

Evaluation du pouvoir antioxydant des composés phénoliques

Le suivi de l'évolution de l'indice de peroxyde (Ip), en cours d'irradiation (Figure n°2), montre que l'addition des composés phénoliques réduit l'oxydation photosensibilisée.

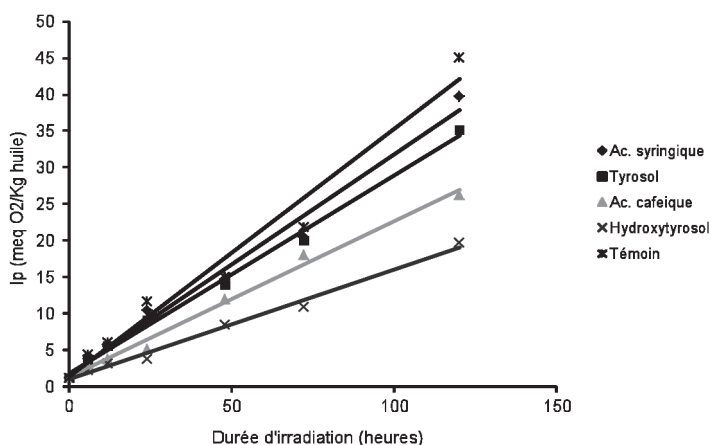


Figure 2: Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile d'olive décolorée + Chl **a** (10 ppm) +0,01% de polyphénol, irradiée à 2,62 W /m².

Le tableau n°1 présente les pouvoirs antioxydants des différents composés phénoliques testés. Ces résultats montrent que ces composés phénoliques, à concentration massique égale, n'ont pas le même pouvoir antioxydant : Hydroxytyrosol > acide caféique > tyrosol > acide syringique.

L'hydroxytyrosol apparaît bien comme le composé phénolique le plus actif dans la protection de l'huile d'olive contre la photooxydation, son facteur de protection est environ 1,5 fois supérieur à celui de l'acide caféique. Bien que le tyrosol soit le composé phénolique prépondérant dans la majorité des huiles d'olive vierges (Forcadell et *al*, 1987), il ne possède aucun pouvoir antioxydant notable ($FP_{20} \approx 1,2$) comme indiqué dans le tableau n°1. Des résultats similaires ont été rapportés, lors de l'étude des pouvoirs antioxydants des polyphénols vis-à-vis de l'autooxydation de l'huile d'olive (Chimi et *al*, 1988). De manière générale, les métadiphénols et les orthodiphénols sont considérés comme les meilleurs antioxydants. Emanuel et Yu (1967) ont montré que l'insertion d'un deuxième ou d'un troisième groupement hydroxyle sur le groupement aromatique du phénol augmente son activité antioxydante.

Cependant, les pouvoirs antioxydants des composés phénoliques vis-à-vis de l'autooxydation de l'huile d'olive sont plus élevés que ceux trouvés pour la photooxydation. Vraisemblablement, les polyphénols sont dégradés plus rapidement en photooxydation qui a une vitesse de réaction beaucoup plus forte que celle de l'autooxydation (Chimi et *al*, 1990).

Tableau 1. Facteurs de protection FP_{20}^* des composés phénoliques à une concentration de 0,01% (m/m) vis-à-vis de l'oxydation de l'huile d'olive

Composé phénolique	FP_{20} (photooxydation)	FP_{20} (autooxydation) (Chimi et <i>al</i> , 1988)
Hydroxytyrosol	2,3	6,9
Acide caféique	1,6	5,6
Tyrosol	1,2	1,0
Acide syringique	1,1	non testé
Oleuropéine	non testée	2,1
BHT	non testé	3,2

* Facteur de protection $FP_{20} = T_{20}/T_{20}^0$, T_{20} et T_{20}^0 sont les temps nécessaires pour que l'indice de peroxyde atteigne la valeur 20 meq O_2 / Kg d'huile.

Pour le témoin : $-T_{20}^0 = 497$ heures (autooxydation)

$-T_{20}^0 = 70$ heures (photooxydation).

Mécanisme de désactivation de l'oxygène singlet par les polyphénols lors de la photooxydation de l'huile d'olive

L'effet de 0 ; 5 ; 10 et 20 ppm de polyphénols (hydroxytyrosol, tyrosol, acide caféique ou acide syringique) sur l'indice de peroxyde de l'huile d'olive décolorée contenant 10 ppm de chlorophylle **a** et irradiée pendant 48 heures à une intensité lumineuse de $2,77 \text{ W/m}^2$ à $10 \pm 2^\circ\text{C}$, a révélé que les ordonnées à l'origine des droites de régression pour les différentes concentrations en polyphénols ne montrent pas une différence significative. Mais les pentes de ces droites augmentent quand la concentration en polyphénols augmente ; ces résultats confirment que les polyphénols désactivent l'oxygène singlet pour réduire la photooxydation de l'huile d'olive (Foote, 1979). Les ordonnées à l'origine et les pentes des droites de régression pour les différentes concentrations en hydroxytyrosol (facteur de protection supérieur à celui des autres polyphénols étudiés) sont montrées dans la figure n°3.

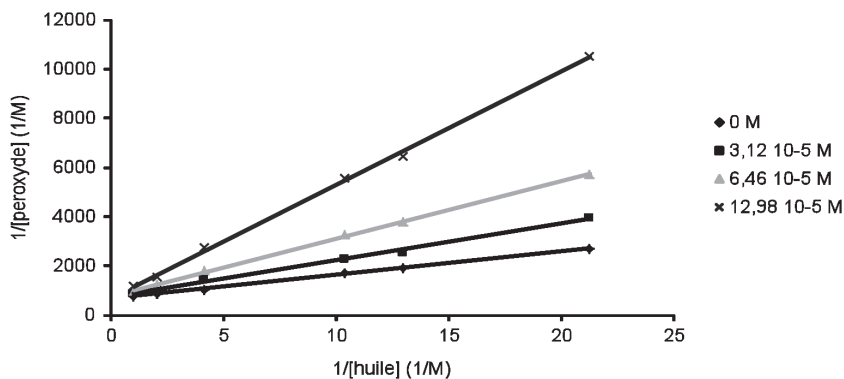


Figure 3: Effet de différentes concentrations de l'hydroxytyrosol sur la peroxydation de l'huile d'olive décolorée, contenant 10 ppm de Chlorophylle **a**, et irradiée pendant 48 heures à $10 \pm 2^\circ\text{C}$.

M : molaire

Détermination des constantes de vitesse de désactivation de l'oxygène singlet ($K_{oxQ} + k_q$) par les composés phénoliques

Le rapport (pente/ordonnée à l'origine) de la droite de régression de

$[\text{peroxyde}]^{-1}$ vs $[\text{huile}]^{-1}$, sans composé phénolique, est K_d/K_r [24]. La valeur de K_d dans le chlorure de méthylène est $1,1 \times 10^4 \text{ sec}^{-1}$ (Jung et Min, 1991).

La constante de vitesse d'oxydation de l'huile d'olive (K_r) dans le chlorure de méthylène est donc :

$$K_r = \frac{K_d}{\text{Pente/ordonnée à l'origine}} = \frac{1,1 \times 10^4}{0,14} = 0,76 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

La constante de vitesse de réaction de l'oxygène singulet avec l'oléate de méthyle dans la pyridine est $0,67 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ (Doleiden *et al*, 1974). Cette valeur est du même ordre de grandeur que celle trouvée dans le présent travail.

Pour déterminer les constantes de vitesse de désactivation de l'oxygène singulet ($K_{oxQ} + k_q$) par les composés phénoliques, les droites de régression (Pente/ordonnée à l'origine) vs [Polyphénol] ont été établies (Tableau n° 2).

La pente de la droite de régression du rapport (Pente/ordonnée à l'origine) vs [polyphénol] est $(K_{ox-Q} + K_q)/k_r$ (Food, 1979). Ainsi, la valeur de $(K_{ox-Q} + K_q)$ des polyphénols est égale à la Pente x K_r (Tableau n° 2).

Tableau 2. Equations de régression (Pente/ordonnée à l'origine) vs [Polyphénol] et les constantes de vitesse de désactivation de l'oxygène singulet ($K_{oxQ} + k_q$) des polyphénols étudiés

	Droites de régression (Pente/ordonnée à l'origine) vs [Polyphénol]	$(K_{ox-Q} + K_q)$
hydroxytyrosol	$0,041 \times 10^5 x + 0,098$	$0,313 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
acide caféique	$0,035 \times 10^5 x + 0,121$	$0,267 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
tyrosol	$0,009 \times 10^5 x + 0,129$	$0,069 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
acide syringique	$0,003 \times 10^5 x + 0,145$	$0,023 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

L'hydroxytyrosol peut être considéré comme le polyphénol qui réduit le plus efficacement la photooxydation de l'huile d'olive, il possède la constante de désactivation de l'oxygène singulet ($K_{ox-Q} + K_q$) la plus élevée parmi les composés phénoliques testés. L'acide caféique exerce un pouvoir antioxydant vis-à-vis de la photooxydation plus faible que celui de l'hydroxytyrosol. Le tyrosol et l'acide syringique ont des constantes faibles de désactivation de l'oxygène singulet, et peuvent être considérés comme de faibles antioxydants.

Conclusion

L'effet des polyphénols sur l'oxydation photosensibilisée de l'huile d'olive a été étudié. Ainsi, Les pouvoirs antioxydants des composés phénoliques vis à vis de la photooxydation sont plus faibles comparés à ceux trouvés pour l'autoxydation. Une relation structure-activité antioxydante peut être établie. En effet, les orthodiphénols (hydroxytyrosol et acide caféique) ont un pouvoir antioxydant, vis-à-vis de la photooxydation, supérieur à celui des monophénols (tyrosol et acide syringique).

La stabilité oxydative de l'huile d'olive est corrélée linéairement avec la concentration des composés phénoliques. L'étude de la cinétique de la photooxydation de l'huile d'olive a montré que les composés phénoliques réduisent la photooxydation sensibilisée par la chlorophylle **a** en désactivant l'oxygène singulet. Les constantes de vitesse de désactivation des composés phénoliques sont corrélées avec leurs pouvoirs antioxydants.

Références bibliographiques

Absorbance dans l'ultra-violet, méthode CAC/RM 26 (1970).

BEN TEKAYA, I. et HASSOUNA, H. (2007). Effets des chlorophylles, du bêta -carotène, de l'alpha-tocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 14 (1): 60-7.

BRADLEY D.G. and MIN B.D. (1992). Singlet oxygen oxidation of foods. *Crit.Rev. Food Sci. & Nutr.*, 31 (3): 211-236.

CHIMI H., SADIK A., LE TUTOUR B. et RAHMANI M. (1988). Contribution à l'étude comparative des pouvoirs antioxydants dans l'huile d'olive du tyrosol, de l'hydroxytyrosol, de l'acide caféique, de l'oleuropéine et du B.H.T. *Rev. Fr. Corps Gras*, 8 (9): 339-343.

CHIMI H., RAHMANI M., CILLARD J. et CILLARD P. (1990).

Autooxydation des huiles d'olive : Rôles des composés phénoliques.

Rev. Fr. Corps Gras, 11 (12): 363-367.

CHOE E., LEE J. and MIN D.B. (2009b). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Sci. Food Safety*, 8: 345-358.

Cillard J. and Cillard P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL*, 13: 24-29.

Conseil oléicole international COI/T.15/NC n° 3/Rév. 6 (2011).

Détermination de l'indice d'acide méthode UICPA n°2.201 (1979), 7^{ème} édition.

Détermination de l'indice de peroxyde méthode UICPA n°2.501 (1979), 7^{ème} édition.

DOLEIDEIN F.H., FARENHOLTZ S.R., LAMOLA A.A. and TROZZOLO A.M. (1974). Reactivity of cholesterol and some fatty acids towards singlet oxygen. *Photochem. Photobiol.* 20: 519-536.

EMANUALE.M. and YU N.L. (1967). The inhibition of fat oxidation processes. Pergamon Press, London. p.23.

ENDO Y., USUKI, R. and KANEDA T. (1984). Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 61: 781-784.

FORCADELL M.L., COMAS M., MIQUEL X. and De LATORRE M.C. (1987). Détermination du tyrosol et de l'hydroxytyrosol dans les huiles d'olive vierges. *Rev. Fr. Corps gras* 34.547-549.

FOOTE C.S. (1979). Quenching of singlet oxygen. - In : Singlet Oxygen (H.H. Wasserman and R.W. Murray, eds), pp. 129-171, Academic Press, NY.

JUNG M.Y., CHOE E. and MIN D.B. (1991). Effects of α -, β -, γ -, and δ -tocopherols on the chlorophyll photosensitized oxidation of soybean oil. *J. Food Sci.* 56:807-15.

JUNG M.Y. and MIN B.D. (1991). Effects of Quenching Mechanisms of carotenoids on the photosensitized Oxidation of soybean oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 68, (9): 653-658.

Méthodes standards UICPA pour l'analyse des huiles, graisses et produits dérivés (1987), 7e édition, 2.302 Gas-Liquid Chromatography of Fatty Acid Methyl Esters.

MIN D.B. and BOFF J.M. (2002). Lipid oxidation of edible oil. In: *Food lipids*, Akoh CC & Min DB editors, 2nd ed., New York : Marcel Dekker Inc. pp. 335–64.

MUN Y. J., DONG S. C., PARK K.H., LEE B. and MIN D.B.(2011). Luminescence Spectroscopic Observation of Singlet Oxygen Formation in Extra Virgin Olive Oil as Affected by Irradiation Light Wavelengths, 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane, Irradiation Time, and Oxygen Bubbling. *Journal of Food Science*. Vol. 76, Nr. 1:59-63.

PANIZZI L., SCARPATI M.L. and ORIENTE E.G. (1960). The constitution of oleuropein, a bitter glycoside having hypotensive action, from olive. Note II. *Gazz. Chem. Ital.*, 90: 1449-1485.

PSOMIADOU E., TSIMIDOU M. (2002). Stability of virgin olive oil. 2. Photo-oxidation studies. *J Agric Food Chem* 50:722–7.

RAHMANI M. et CSALLANY A.S. (1985). Mise au point d'une méthode de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) pour la détermination des pigments chlorophylliens dans les huiles végétales. *Rev. Fr. Corps Gras*, 32: 257-259.

SCHWARTZ S. J. and VON ELBE J.H. (1983). Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables. *J. Food Sci.*, 48: 1303-1306.

VAZQUEZ RONCERO A, JANER DEL VALLE ML, JANER DEL VALLE C. (1973). Determinacion de los polifenoles totale del aceite de oliva. *Grasas Aceites* 24 :350-5.

ZSCHEILE F.P. and COMAR C.L. (1941). Influence of preparative procedure on the purity of chlorophyll components as shown by absorption spectra. *Bot. Gaz.*, 102: 463-481.