Conception et développement de procédures de Dean Stark innovantes

Un sérieux problème rencontré par les mouliniers utilisant une chaîne de production traditionnelle une fois par an lors de la production de l'huile d'olive est le phénomène dit « de boues ». Lors de ce phénomène la coalescence ne se fait pas correctement lors du malaxage ce qui induit des consistances de pâte d'olive différentes d'une pâte classique : la pâte est moins épaisse et n'a pas exactement les mêmes propriétés qu'une pâte normale. Cela perturbe fortement la tenue de l'empilement de scourtins au niveau de la presse hydraulique (utilisée lors de l'étape de séparation des phases solides et liquides) et les matières solides de cette pâte ne sont pas retenues correctement dans les scourtins. Beaucoup de matières solides se retrouvent donc en suspension dans le mélange de margines et d'huile. Cela provoque un second problème majeur à l'étape de séparation liquide-liquide. En effet l'huile et l'eau sont très difficiles à séparer et beaucoup de margines se retrouvent dans l'huile, ce qui lui donne un aspect boueux. Outre l'impact visuel négatif sur l'huile finale, ce phénomène ajoute de nombreuses contraintes aux mouliniers :

- Les temps de séparation étant plus longs, le moulinier utilisant la séparation par décantation gravitationnelle aura besoin de plus d'espace de stockage et de plus de cuves pour permettre cette séparation,
- Le nettoyage des scourtins doit être fait beaucoup plus régulièrement,
- En cas d'utilisation d'une centrifugeuse pour la séparation liquide-liquide, celle-ci s'embourbe rapidement et doit donc être démontée et nettoyée au jet plusieurs fois par jour.

Ce phénomène se produit au milieu de la saison de production de l'huile d'olive donc au moment où les olives sont en pleine mutation au niveau de leur composition chimique. Nous avons également constaté que le principal problème se situe au niveau de la séparation liquide-liquide donc nous avons décidé de nous intéresser à la teneur en eau dans les olives.

Dans les derniers stades du développement du fruit, l'olive perd de l'eau et la proportion d'huile a tendance à augmenter (Nergiz, 2009 ; Brescia, 2007). Ces deux paramètres sont décisifs pour la récolte des olives et donc pour la fabrication de l'huile d'olive. Cette analyse est généralement laissée à l'appréciation visuelle des oléiculteurs,

mais dans le but d'optimiser la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive nous pourrions nous pencher sur l'optimisation de la période de récolte des olives. La détermination de valeurs de référence en eau et en huile dans le fruit pourrait constituer une aide à la décision pour la récolte des fruits et éviter ce phénomène des boues.

Le sujet de la thèse était basé sur l'amélioration des qualités nutritionnelles de l'huile d'olive et elle était conjointement financée par la région PACA et la FEMOS. Le développement de techniques analytiques innovantes ne faisait pas partie du projet original, cependant, avec l'accord des membres de la FEMOS nous nous sommes intéressés au développement de méthodes rapides de détermination de la teneur en eau car ce paramètre nous semblait important. C'est ainsi que nous avons développé au cours de cette thèse une technique de Dean Stark accélérée par micro-ondes. Ces travaux ont été valorisés par une publication scientifique dans Analytica Chimica acta (Veillet, 2009a)

Dans le but de développer des techniques analytiques plus respectueuses de l'environnement et plus faciles à mettre en place en dehors d'un laboratoire de chimie, nous avons testé des agro-solvants sur cette même technique. Un Dean Stark utilisant un solvant vert (le *d*-limonène) a ainsi également été développé au cours de cette thèse. Ces travaux ont été valorisés par une communication par poster à la 21ème journée de la chimie SFC-PACA le 16 avril 2009 à Marseille, ainsi que par une publication scientifique dans Analytica Chimica Acta (Veillet, 2010b).

5.1 Le Dean Stark accéléré par micro-ondes

Pour les industries agroalimentaires comme pour les laboratoires de recherche, la réduction des coûts et du temps d'un procédé ou d'une analyse sont des enjeux majeurs. En effet de la rapidité des procédés peut dépendre l'efficacité de l'entreprise, donc la rapidité des analyses est tout d'abord un atout économique. Le second avantage se situe au niveau consommation énergétique. Les analyses longues comme le Dean-Stark (2h) sont très gourmandes en énergie (donc beaucoup de CO_2 dégagé), une accélération de ce procédé permettra de réduire l'impact environnemental. Ainsi, au cours de ces recherches le chauffe-ballon électrique a été remplacé par un chauffage par micro-ondes dans le but de réduire le temps d'analyse

5.1.1 Etudes préliminaires

Dans un premier temps, des études préliminaires visant à optimiser les performances du nouvel appareillage ont été menées. Le toluène n'est pas totalement transparent aux micro-ondes mais sa montée en température sous l'effet de l'énergie micro-ondes reste longue (près de 40 min) pour atteindre le point d'ébullition. L'ajout d'un barreau aimanté en Weflon^{TM} permet de pallier le problème et la température d'ébullition est ainsi atteinte en moins de 5 min (Figure 56).

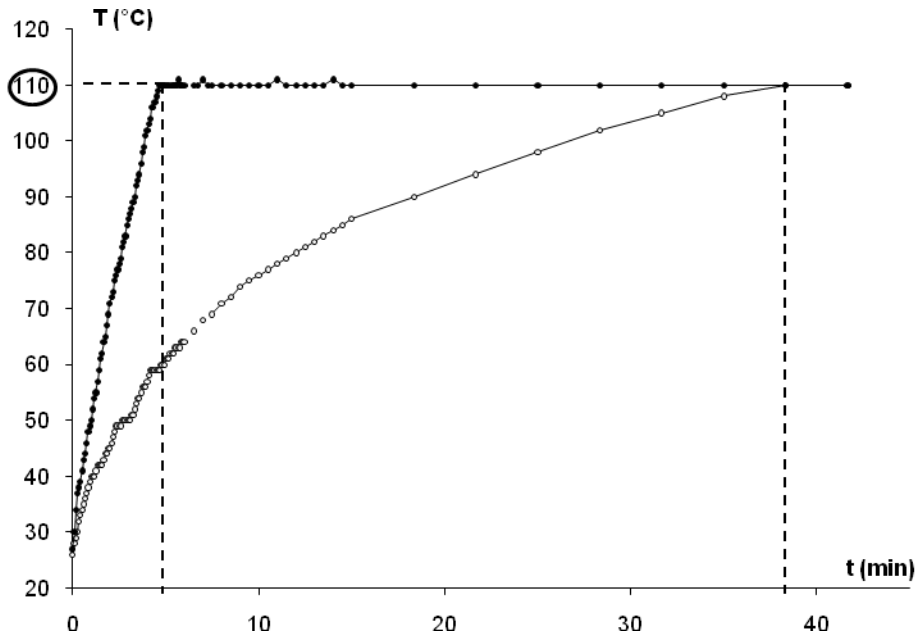

Figure 56 : Evolution de la température du toluène soumis aux micro-ondes en fonction du temps et de la présence ou non d'un barreau de weflon (●) Toluène + weflon + 700 W et (o) Toluène + 700 W

D'autre part, l'étude menée sur la cinétique de la distillation azéotropique (Figure 57) définissant les différentes phases nous a permis d'avoir des points de comparaison pour les deux types de procédure.

Les résultats montrent que la distillation se trouve nettement accélérée et que la puissance optimale choisie de 700 W permet de déterminer la teneur en eau des olives en moins de 400 secondes à comparer à 7200 secondes de façon conventionnelle.

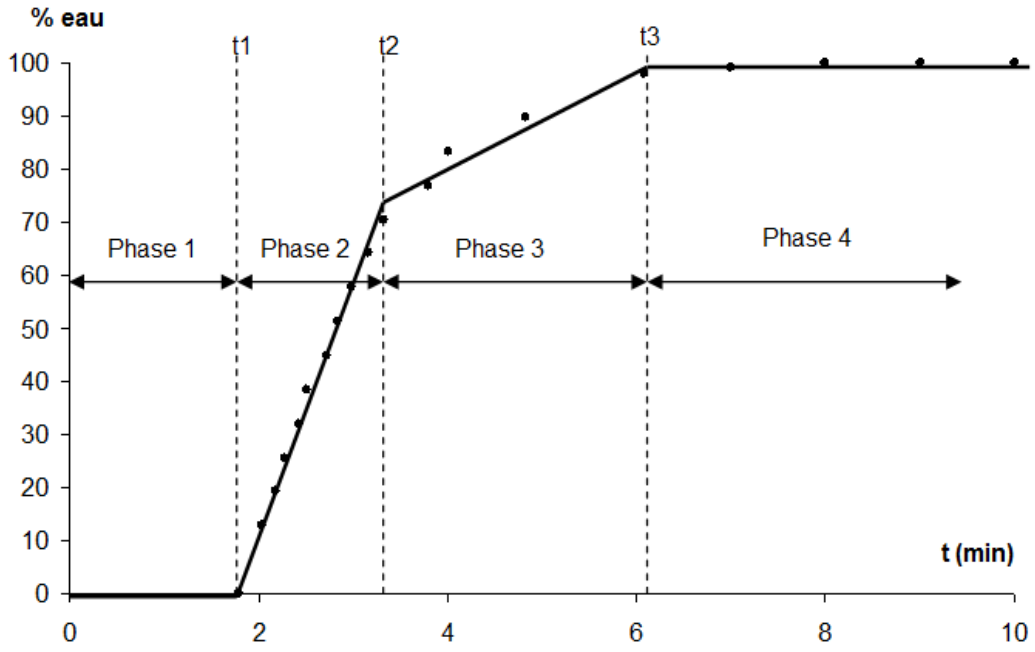

Figure 57 : Phases de distillation : % d'eau en fonction du temps. Les différentes phases correspondent à (1) la montée de la température dans le réacteur jusqu'à 84℃, (2) : eau de la matrice facile à extraire, (3) : eau intrinsèque plus difficile à extraire

5.1.2 Généralisation de la méthode

Afin de généraliser la méthode, une gamme étendue d'échantillons alimentaires a été testée selon les conditions optimisées (Tableau 32).

Tableau 32 : Généralisation de la méthode pour différentes matrices alimentaires

Matrices alimentaires	Dean Stark conventionnel (% eau)	Dean Stark assisté par micro-ondes (% eau)
Echalote	80,1 ± 0,6	80,0 ± 1,2
Ail	63,5 ± 0,8	63,6 ± 2,2
Camembert	52,6 ± 0,4	51,6 ± 0,4
Romarin	60,4 ± 2,5	61,8 ± 1,4
Viande	64,6 ± 0,60	63,5 ± 0,5
Olive	43,4 ± 1,3	43,5 ± 1,4

Les résultats montrent que les teneurs en eau sont équivalentes quelle que soit la méthode employée. La distillation azéotropique sous micro-ondes se trouve ainsi accélérée par différents facteurs : le chauffage sélectif des micro-ondes sur l'eau et par leur application au cœur de la matrice et la présence du barreau magnétique en Weflon™ (Téflon-Graphite) positionné dans le réacteur permettant le chauffage du solvant par conduction.

5.1.3 Bilan

La technique de Dean-Stark assistée par micro-ondes a permis d'obtenir des résultats hautement reproductibles en moins de 10 min, la technique s'avère être une alternative innovante, originale et efficace pour la détermination du taux d'humidité contenue dans les olives fraîches. La nette réduction de la durée de la procédure de 10 min au lieu de 120 min pour la méthode conventionnelle a un impact non négligeable sur l'environnement. La détermination de la teneur en eau par micro-ondes a nécessité une énergie de 0,15 kWh à comparer avec 0,45 kWh pour la méthode conventionnelle à laquelle, il faut ajouter l'énergie nécessaire pour les réfrigérants. Le calcul de la quantité de CO_2 rejeté dans l'atmosphère totalise 176 g de CO_2 pour la détermination de la teneur en eau assistée par micro-ondes et 800 g pour la méthode conventionnelle.

5.2 Le Dean Stark utilisant un agro-solvant : le *d*-limonène

Dans le domaine de la chimie, deux sortes de solvants peuvent être utilisés : les solvants issus de l'industrie pétrolière et les biosolvants issus de matières premières renouvelables et en particulier de la biomasse. Ils présentent l'avantage d'offrir, d'une part, une alternative aux ressources fossiles et, d'autre part, un bilan environnemental positif. Depuis des décennies, le toluène est utilisé pour la détermination de la teneur en eau dans les matrices alimentaires. Cependant de nombreux travaux traitent des effets toxiques et délétères de ce solvant sur le système nerveux et le système auditif (Lammers, 2005 ; McWilliams, 2000 ; Hass, 1999). En dépit de son classement dans les solvants toxiques, le toluène est toujours le solvant de choix pour la détermination de la teneur en eau. L'étude proposée consiste en la mise au point et le développement d'une approche verte et originale pour la détermination de la teneur en eau dans les matrices alimentaires.

5.2.1 Cinétiques de distillation

Les études de cinétique de distillation azéotropique pour les deux solvants montrent des allures sensiblement équivalentes malgré l'obtention de la première goutte d'eau légèrement retardée (3 min) en présence de *d*-limonène. Ceci peut s'expliquer par une durée de chauffage plus longue nécessaire pour atteindre la température d'ébullition du mélange azéotrope *d*-limonène-eau de 97,4℃ contre 84℃ pour le mélange toluène-eau (Figure 58).

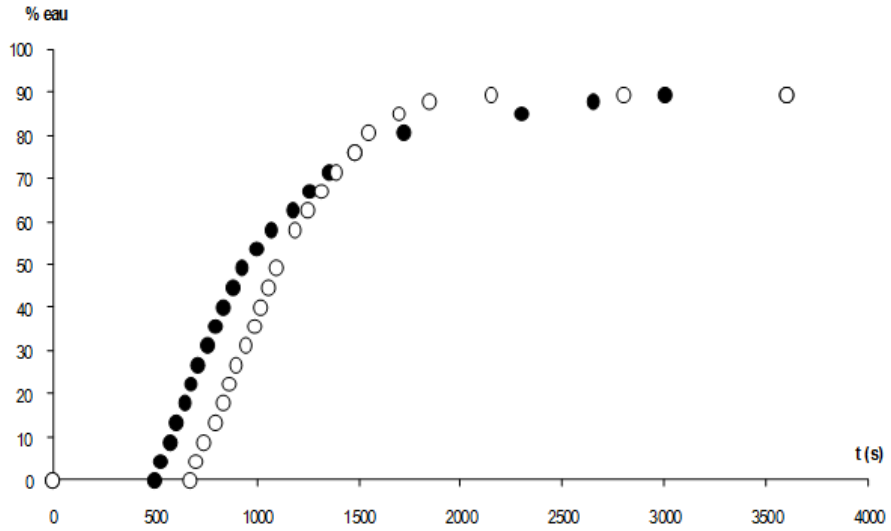

Figure 58 : Pourcentage d'eau issue de carottes obtenu par distillation azéotropique en fonction du temps : (o) *d*-limonene, (●) toluene

Tableau 33 : Répétabilité et tests statistiques de comparaison

	Experiences [a]										Moy.	ET	DSR (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Répétabilité													
DSC	90,6	90,9	86,4	88,8	88,3	87,7	87,9	87,0	88,5	87,4	88,4	1,5	1,6
DSL	89,9	89,9	89,8	89,6	89,9	89,9	90,4	86,5	88,5	89,5	89,4	1,1	1,3
Comparaison statistique													

S^2_{CDS}	S^2_{LDS}	F_{CAL} [b]	F_{TAB} [c]	T_{CAL} [d]	T_{TAB} [e]
2,10	1,59	1,32	3,18	1,62	2,10

[a] *Teneur en eau dans les oignons en %*
[b] *F calculée par le test de Fisher-Snedecor*
[c] *F de la table pour a=0.05*
[d] *t value calculée par le test de Student*
[e] *t value de la table pour a= 0.05*
ET Ecart-type
DSR Déviation standard relative

La comparaison des moyennes sur 10 expériences réalisées pour chaque solvant (Tableau 33) montre des teneurs en eau (exprimées en % m/m) quasiment équivalentes : 88,4 ± 1,5 pour la teneur en eau obtenue par le Dean-Stark conventionnel (DSC) contre 89,4 ± 1,1 pour celui utilisant du *d*-limonène (DSL). La déviation standard relative montre une très faible dispersion autour de la valeur moyenne : 1,6 % et 1,3 % respectivement pour le *d*-limonène et le toluène ce qui a été confirmé par le test de Fisher Snedecor qui donne une valeur de F calculée de 1,32 à comparer à une valeur de F théorique de 3,18 pour un seuil de confiance de 0,95. Le test de Student effectué pour tester l'homogénéité des moyennes a permis de mettre en évidence que les deux moyennes ne sont pas statistiquement différentes. La valeur de T calculée est de 1,62 donc inférieure à la valeur du T donnée par la table de Student pour un seuil de confiance de 0,95 (2,10).

5.2.2 Généralisation de la méthode

L'utilisation du *d*-limonène pour la détermination de l'eau a été généralisée à différents types de matrices alimentaires (Tableau 34). Les résultats obtenus montrent qu'aucune différence significative n'est observable pour les différentes matrices testées et ce pour des durées équivalentes.

Tableau 34 : Teneur en eau des différentes matrices obtenue par distillation avec le toluène ou le *d*-limonène

Matrices alimentaires	Toluène (% eau)	*d*-limonène (% eau)
Oignons	88,4 ± 1,5	89,4 ± 1,4
Carottes	89,3 ± 0,5	89,5 ± 0,7
Ail	68,0 ± 0,7	68,6 ± 1,9
Mozzarella	61,7 ± 1,9	61,8 ± 1,5
Viande	64,1 ± 0,5	64,0 ± 0,3
Romarin	64,1 ± 0,6	65,1 ± 1,8
Poireaux	90,6 ± 1,3	88,0 ± 1,0
Sauge	71,1 ± 1,0	70,4 ± 2,2
Menthe	88,2 ± 1,8	87,6 ± 1,7

5.2.3 Bilan

Cette étude montre que le *d*-limonène peut être considéré comme une alternative originale et intéressante en réponse au toluène, solvant habituellement employé pour la détermination de la teneur en eau.

5.3 Conclusions sur le Dean Stark

Les deux techniques de Dean Stark développées au cours de ces travaux de thèse permettent d'effectuer un suivi de la teneur en eau dans les olives au cours de leur maturation. Cependant aucun résultat ne permet d'affirmer qu'il existe un lien direct entre le phénomène de boues observé et une teneur particulière en eau. Le problème doit donc probablement avoir une autre origine (changement de structure cellulaire après un gel sur l'arbre…) ou est la résultante de plusieurs facteurs. Si la solution au problème des boues n'a pas pu être trouvée par un simple dosage de l'eau, ces recherches nous ont amenés à développer des techniques intéressantes dans le domaine de la chimie analytique.

En effet nous avons démontré que des techniques alternatives permettent d'obtenir les mêmes résultats que les méthodes conventionnelles, mais en réduisant l'impact environnemental et/ou en réduisant le temps d'analyse. D'autres solvants verts tels que l'α-pinène sont actuellement en cours d'essai et la combinaison des deux techniques, micro-ondes et agro-solvant, est également en cours de développement.

Conclusion générale

L'huile d'olive fait partie de la culture méditerranéenne, tant d'un point de vue historique que d'un point de vue alimentaire. Ses propriétés organoleptiques sont en effet reconnues par les grands chefs cuisiniers mais si elle se retrouve dans les cuisines depuis la civilisation grecque, c'est bien pour ses propriétés nutritionnelles. En effet elle est composée à 85 % d'acides gras insaturés (l'acide gras majoritaire étant l'acide oléique) dont une bonne proportion d'acides gras poly-insaturés (10 %). Parmi eux on retrouve des oméga 6 tels que l'acide linoléique (C18:2 n-6) et des oméga 3 tels que l'acide α-linolénique (C18:3 n-3). Ces acides gras sont dits « acides gras essentiels » car ils ne peuvent pas être synthétisés par le corps humain et doivent donc être apportés par l'alimentation. Le principal atout nutritionnel de l'huile d'olive réside cependant dans sa richesse en composés phénoliques ayant des propriétés antioxydantes. S'ils sont capables de prévenir l'oxydation de l'huile d'olive et de prolonger sa conservation, les scientifiques ont surtout cherché à déterminer leur impact sur la santé humaine et notamment sur les maladies dégénératives. L'intérêt est de déterminer dans quelle mesure ces molécules peuvent ralentir l'apparition de ces maladies ou réduire leur impact une fois apparues. L'huile d'olive contient toujours une certaine quantité de composés phénoliques, mais cette quantité peut être très variable d'une huile à une autre.

La première partie de la thèse a donc été focalisée sur le travail de terrain au sein même des moulins fabricant de l'huile d'olive. La première étape dans la fabrication de celle-ci est le broyage des olives. Dans les moulins, deux grands types de procédés existent : le broyage à la roue de granit et le broyage par des systèmes métalliques. Lors du broyage à la meule tournante, le poids des roues de granit va écraser les olives et leur rotation va déchirer la pulpe de ces dernières. Ainsi, au niveau cellulaire, nous retrouvons des empilements de couches de cellules où une partie de l'huile peut être retenue, ce qui justifie en partie les rendements plus faibles que ceux observés lors d'un broyage métallique. Dans ce dernier, les bras métalliques situés sur un axe fixe sont entrainés dans une rotation à environ 3000 tr/min. Cela va provoquer l'éclatement des olives et des coupes franches au niveau cellulaire. Ces deux phénomènes vont permettre une libération facilitée de l'huile d'olive de la pulpe de l'olive. Le broyage plus fin permet également une meilleure extraction des composés phénoliques et les huiles d'olive sont plus riches en antioxydants en fin de chaîne. Le système de broyeurs métalliques est donc à privilégier par rapport à un système à meules tournantes dans un but d'amélioration de la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive.

Le second facteur influençant la teneur finale en composés phénoliques est le type de procédé de séparation des phases liquides utilisé. En effet, deux types de procédé peuvent être utilisés : la décantation et la centrifugation. Lors de la décantation gravitationnelle, le mélange d'eau et d'huile est placé dans de grandes cuves en inox et la séparation entre les deux phases se fait par simple différence de densité. Les composés phénoliques sont alors séparés en fonction de leur affinité à l'une ou l'autre des phases : la majorité des composés phénoliques sont éliminés dans les margines car ce sont des composés polaires, mais une bonne proportion se retrouve également dans l'huile. Lors de l'utilisation d'une centrifugeuse, ce coefficient de partage entre les deux phases est modifié et le passage des composés phénoliques dans la phase aqueuse est accentué. L'huile d'olive provenant des systèmes utilisant une centrifugation en fin de chaîne est donc moins riche en composés phénoliques qu'une huile ayant subi une simple décantation. Ces observations posent cependant un certain nombre de problèmes techniques puisque le broyage à marteaux génère trop d'émulsion pour que les phases liquides puissent se séparer par simple décantation. Les avancées technologiques ont permis le développement de systèmes dits à deux phases pour faciliter le travail des mouliniers, mais nous avons pu constater que ce système constitue également une avancée sur le plan nutritionnel.

En effet, d'un point de vue technologique, le moulinier a moins de manipulations à réaliser, notamment au niveau des coproduits générés lors de la trituration des olives. Les centrifugeuses horizontales à deux phases n'ont pas ou très peu besoin d'eau pour fonctionner contrairement aux systèmes à trois phases. La première conséquence est une réduction des coûts pour le moulinier, à la fois en entrée et en sortie de production puisque le faible ajout d'eau en entrée génère moins de coproduits à traiter en sortie. L'impact qui nous intéressait le plus dans ces travaux était orienté sur l'effet éventuel sur la qualité nutritionnelle de l'huile et là encore ce système constitue un atout. En effet, les fortes quantités d'eau ajoutées dans les systèmes à trois phases ont pour effet de diluer les composés phénoliques et perturbent également leur coefficient de partage entre l'huile et l'eau. En plus de cet effet de dilution, les huiles issues d'un système à trois phases doivent être centrifugées afin d'être séparées des margines. Dans un système à deux phases, l'huile d'olive est directement extraite de la centrifugeuse horizontale donc cette étape de centrifugation n'est pas nécessaire ce qui préserve les composés phénoliques. La chaîne de fabrication utilisant un broyeur métallique couplé à une centrifugeuse horizontale à deux phases semble donc être le meilleur compromis dans le but d'améliorer la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive dans les moulins.

Une fois sortie des moulins, l'huile d'olive doit être commercialisée. Cette commercialisation ne posait pas de problèmes jusqu'à récemment car la production oléicole française restait faible et même marginale au niveau européen. Cependant, l'arrivée de jeunes oliviers à pleine maturité pour la production d'olives a permis d'augmenter fortement la production française. Ainsi, les volumes produits au cours de la campagne 2008/2009 ont été extrêmement élevés et le secteur oléicole a dû faire face à un problème d'écoulement de stocks. Certains groupements de producteurs avaient demandé la mise en place d'Appellations d'Origine Contrôlée et d'Appellations d'Origine Protégée de façon à ce que leurs pratiques soient reconnues. Même si ces appellations ne faisaient en aucun cas référence à une qualité supérieure de l'huile d'olive, elles ont tout de même permis une meilleure reconnaissance et une meilleure valorisation de ces produits. Cependant les excédents générés au cours de cette campagne 2008/2009 n'ont pas pu être absorbés par de simples appellations.

Au cours de cette thèse nous avons donc cherché d'autres applications potentielles à l'huile d'olive. Dans un premier temps nous avons donc choisi d'utiliser l'huile d'olive en tant que solvant « vert » d'extraction. Sa composition chimique permet en effet de solubiliser les molécules liposolubles et la charge en composés antioxydants permet une bonne protection de ces molécules vis-à-vis de l'oxydation une fois extraites. L'une des molécules les plus difficiles à extraire est le β-carotène notamment présent dans les carottes. Cette molécule est très utilisée dans le domaine de la cosmétique et des compléments alimentaires car elle possède une double particularité, celle d'être une provitamine et celle d'être un antioxydant puissant. Le problème est que cette molécule nécessite l'utilisation de solvants pétroliers toxiques pour son extraction. Cela implique de grands coûts de purification ensuite pour éliminer toute trace de solvant. L'autre difficulté est la forte sensibilité de la molécule à la lumière et à la température. Nous pouvons donc imaginer que plus les temps d'extraction et de purification sont longs, plus il sera difficile d'obtenir de bon rendements d'extraction. L'utilisation d'une extraction assistée par ultrasons est l'une des voies d'étude pour permettre un plus fort rendement d'extraction. Nous avons donc cherché à optimiser les paramètres d'une extraction du β-carotène assistée par ultrasons. Trois paramètres ont été testés après optimisation de la proportion entre huile et poudre de carotte utilisée : le temps d'extraction, la température et la puissance ultrasonore appliquée. Afin de protéger le β-carotène de l'oxydation, nous avons volontairement choisi des conditions d'extraction douces : temps inférieur à 35 minutes et température inférieure à 34℃. Ces conditions permettaient d'éviter une dégradation du β-carotène. Nous avons ainsi pu obtenir

des résultats très encourageants puisque l'extraction assistée par ultrasons a permis d'obtenir des concentrations de β-carotène de l'ordre de 300 mg/L d'huile sans utilisation de solvant pétrolier.

Nous avons ensuite décidé d'utiliser ces propriétés d'extraction assistée par ultrasons dans l'huile à un autre domaine : celui de l'aromatisation. En effet depuis quelques années il y a un regain d'intérêt pour ce procédé car il permet de diversifier la gamme de produits oléicoles disponibles. L'aromatisation de l'huile d'olive se fait très majoritairement par des plantes méditerranéennes telles que le thym, le romarin et le basilic. Ces produits sont très prisés des consommateurs, notamment ceux d'Europe du Nord et ils permettent aux oléiculteurs non seulement de diversifier leur gamme mais surtout d'avoir des produits à forte valeur ajoutée qui se vendent donc plus facilement. L'aromatisation des huiles se fait habituellement par de longues macérations d'huiles mises en contact avec la plante désirée ou par ajout d'arômes extraits séparément. Les principaux problèmes généralement soulevés par la macération sont ceux des grands volumes nécessaires, du temps de diffusion des arômes de la plante vers l'huile d'olive et celui du volume de plante nécessaire. Afin de répondre en partie à ces problèmes, une aromatisation assistée par ultrasons a été développée au cours de ces travaux de thèse. Lors de ces expériences nous avons réussi à démontrer que des niveaux d'aromatisation élevés pouvaient être atteints après seulement 15 minutes d'extraction contre plusieurs heures ou plusieurs jours nécessaires par simple macération.

Les travaux de recherche entrepris au cours de cette thèse sur l'amélioration des qualités nutritionnelles de l'huile d'olive ont donc permis d'apporter des avancées sur deux plans. Tout d'abord sur celui d'une meilleure compréhension des phénomènes régissant l'extraction de l'huile d'olive dans les moulins en ciblant les étapes clés dans l'extraction de l'huile d'olive. L'utilisation de ces données permettra dans le futur d'extraire des huiles d'olive naturellement plus riches en antioxydants ce qui leur permettra une meilleure valorisation. La seconde avancée importante concerne l'enrichissement post récolte assisté par ultrasons. Cette technologie permet l'aromatisation de l'huile d'olive ou son enrichissement en molécules bioactives de façon rapide et peu onéreuse. Ces méthodes sont donc facilement utilisables par les mouliniers et peuvent leur permettre d'élargir leur gamme de produits issus de l'huile d'olive.

Références

Albu S., Joyce E., Paniwnyk L., Lorimer J.P. & Mason T.J. (2004) Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*. 11 (3-4) pp 261-265.

Amirante P., Clodoveo M. L., Dugo G., Leone A. & Tamborrino A. (2006) Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality. *Food Chemistry.* 98 (4) pp 797-805.

Andrews P., Busch J. L. C. H., Joode T. D., Groenewegen A. & Alexandre H. (2003) Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside agglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (5) pp 1415-1420.

Angerosa F. (2000) Sensory quality of olive oil. Dans J. Harwood & R. Aparicio (Eds.), Handbook of olive oil: analysis and properties. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen publications, Inc.

Angerosa F., Mostallino R., Basti C. & Vito R. (2000b). Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chemistry*. 68 (3) pp 283-287.

Angerosa F. (2002) Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 104 (9-10) pp 639-660.

Aparicio R., Morales M. T. & Alonso V. (1997) Authentication of European virgin olive oils by their chemical compounds, sensory attributes, and consumers' attitude. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 45 (4) pp 1076-1083.

Aparicio R., Roda L., Albi M. A. & Gutiérez F. (1999) Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 47 (10) pp 4150-4155.

Araus K., Uquiche E. & Del Valle J. M. (2009) Matrix effects in supercritical CO_2 extraction of essential oils from plant material. *Journal of Food Engineering*. 92 (4) pp 438-447.

Asfaw N., Licence P., Novitskii A. A. & Poliakoff M. (2005) Green chemistry in Ethiopia: the cleaner extraction of essential oils from Artemisia afra: a comparison of clean technology with conventional methodology. *Green Chemistry*. 7 (5) pp 352-356.

Association Française Interprofessionnelle de l'Olive - UGO - UNIGC (2009) Graphique : Huile d'olive extraite des olives de production française dans les moulins à huile de France depuis 1980.

Barbero G. F., Liazid A., Palma M. & Barroso C. G. (2008) Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*. 75 (5) pp 1332-1337.

Bascetta E., Gunstone F. D. & Walton J. C. (1983) Electron spin resonance study of the role of vitamin E and vitamin C in the inhibition of fatty acid oxidation in a model membrane. *Chemistry and Physics of Lipids*. 33 (2) pp 207-210.

Beric T., Nikolic B., Stanojevic J., Vukovic-Gacic B. & Knezevic-Vukcevic B. (2008) Protective effect of basil (*Ocimum basilicum* L.) against oxidative DNA damage and mutagenesis. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2) pp 724-732.

Bianchi F., Careri M., Mangia A. & Musci M. (2007) Retention indices in the analysis of food aroma volatile compounds in temperature-programmed gas chromatography: database creation and evaluation of precision and robustness. *Journal of Separation Science*, 30 (4) pp 563-572

Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccela N., & Saila A. (1999) On the in vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 31 (8) pp 971-974.

Boskou D. (Ed.) (1996) Olive oil: chemistry and technology (1st edition). Champaign Illinois: American oil chemists society. USA. 268 pages.

Boskou D., Blekas G. & Tsimidou M. (2006) Olive oil composition. Dans D. Boskou (Ed.), Olive oil, chemistry and technology (2nd edition). Champaign Illinois: American oil chemists society.USA. pp 41-72.

Box J.D. (1983) Investigation of the Folin–Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water research.* 17 (5) pp 511-525.

Brenes M., Hidalgo F. J., Garcia A., Rios J. J., Garcia P., Zamora R. & Garrido A. (2000) Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *Journal of American oil Chemist's Society*. 77 (7) pp 715-720.

Brenes M., Garcia A., Rios J. J., Garcia P. & Garrido A. (2002) Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *The International Journal of Food Science and Technology*. 37 (6) pp 615-625.

Brescia M. A., Pugliese T., Hardy E. & Sacco A. (2007) Composition and structural investigations of ripening of table olives, *Bella della Daunia*, by means of traditional and magnetic resonance imaging analyses. *Food Chemistry*. 105 (1) pp 400-404.

Brook R. D., Franklin B., Cascio W., Hong Y., Howard G., Lipsett M., Luepker R., Mittleman M., Samet J. & Tager I. (2004) Air pollution and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the expert panel on population and prevention science of the american heart association. *Circulation.* 109 (21) pp 2655-2671.

Burton G. W. & Ingold K. U. (1986) Vitamin E: Application of the principles of physical organic Chemistry to the exploration of its structure and function. *Accounts of Chemical Research.* 19 pp 194-201.

Cabredo-Pinillos S., Cedron-Fernandez T., Gonzalez-Briongos M., Puente-Pascual L. & Saenz-Barrio C. (2006) Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from wine samples: Optimisation of the method. *Talanta*. 69 (5) pp 1123-1129.

Caponio F., Alloggio V. & Gomes T.(1999) Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry*. 64 (2) pp 203-209.

Charbonnier, A. (1982). Main conclusion dawn from the International Symposium on the recent medical researches on the value of the olive oil to health (pp. 1–4) Paris, 17 Novembre.

Chemat F. & Hoarau N. (2004) Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) for an ultrasound food processing operation. *Ultrasonics Sonochemistry.* 11 (3-4) pp 257-260.

Chemat F. (2009) Essential oils: green extraction and applications, *HKB*, New Delhi, Inde.

Chen F., Sun Y., Zhao G., Liao X., Hu X., Wu J. & Wang Z. (2007) Optimization of ultrasound-assited extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*. 14 (6) pp 767-778.

Codex alimentarius (1989) Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).

Conférence des Nations Unies sur le Commerce Et le Développement (2005) Accord international de 2005 sur l'huile d'olive et les olives de table. Nations Unies TD/OLIVE.OIL.10/6.

Conseil Oléicole Internationnal (1997) Encyclopédie Mondiale de l'Olivier. Plaza and James Editors S. A.

Conseil Oléicole International (2007) Analyse sensorielle de l'huile d'olive: méthode d'évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge. COI/T.20/Doc.n°15/Rev.2. septembre 2007.

Conseil Oléicole International (2009a) Production mondiale d'huile d'olive, tableau 1. Novembre 2009.

Conseil Oléicole International (2009b) Consommation mondiale d'huile d'olive, tableau 4. Novembre 2009.

Da Silva T. M., Munhoz R. P., Alvarez C., Naliwaiko K., Kiss A., Andreatini R. & Ferraz A.C. (2008) Depression in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study of omega-3 fatty acid supplementation. *Journal of Affective Disorders*. 111 (2-3) pp 351-359.

Del Caro A., Vacca V., Poiana M., Fenu P. & Piga A. (2006) Influence of technology, storage and exposure on components of extra virgin olive oil (Bosana *cv*) from whole and de-stoned fruits*. Food Chemistry*. 98 (2) pp 311-316.

Da Porto C., Decorti D. & Kikic I. (2009) Flavour compounds of *Lavandula angustifolia L.*, to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*. 112 (4) pp 1072-1078.

Del Rio D., Stewart A. J. & Pellegrini N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 15 (4) pp 316-328.

Di Giovacchino L., Sistili S. & Di Vincenzo D. (2002) Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and technology*. 104 (9-10) pp 587-601

Doll R., Payne P. & Waterhouse J., (Eds.) (1966) Dans: Cancer Incidence in Five Continents Vol. I**,** Geneva, UICC, Berlin: Springer Verlag. Germany.

Erkan N., Ayranci G. & Ayranci E. (2008) Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesemol. *Food Chemistry*. 110 (1) pp 76-82.

Esti M., Contini M., Moneta E. & Sinesio F. (2009) Phenolics compounds and temporal perception of bitterness and pungency in extra-virgin olive oils: Changes occurring throughout storage. *Food Chemistry*. 113 (4) pp 1095-1110

Farhat A., Ginies C., Romdhanea M. & Chemat, F. (2009) Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy: Experimental and theoretical study. *Journal of Chromatography A*. 1216 (26) pp 5077-5085.

Fedeli E., (1977) Lipids of olives. *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids*. 15 pp 57-74.

Ficarra P., Ficarra R., De Pasquale A., Monforte M. T. & Calabro M. L. (1991) HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of *Olea europaea L*. *Il farmaco*. 46 (6) pp 803-809.

Floyd R. A. (1990). Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal.* 4 (9) pp 2587–2597.

Food and Agriculture Organization (2001) Rapport du comité du codex sur les graisses et les huiles – Annexe IV : Projet de norme pour les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive. Archives de documents de la FAO.

Franceschi S., Favero A., Decarli A., Negri E., La Vecchia C., Ferraroni M., Russo A., Salvini S., Amadori D. & Conti E. (1996) Intake of macronutrients and risk of breast cancer. *Lancet.* 347 (9012) pp 1351-1356.

Franceschi S., La Vecchia C., Russo A., Favero A., Negri E. & Conti E. (1998) Macronutrient intake and risk of colorectal cancer in Italy. *International Journal of Cancer*. 76 (3) pp 321-324.

Frankel E. N., Garwood R. F., Khambay B. P. S., Moss G. P. & Weedon B. C. L. (1984) Stereochemistry of olefin and fatty acid oxidation. Part 3. The allylic hydroperoxides from the autoxidation of methyl oleate. *Journal of the Chemical Society*, *Perkin Transactions* 1 (10) pp 2233-2240.

Garcia A., Brenes M., Garcia P., Romero C. & Garrido A. (2003) Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology.* 216 (6) pp 520-525.

Garcia-Villalba R., Carrasco-Poncorbo A., Oliveras-Ferraros C., Vasquez-Martin A., Menéndez J. A., Segura-Carretero A. & Fernandez-Gutiérrez A. (2010) Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 51 (2) pp 416-429.

Gardner C. D. & Kraemer H. C. (1995) Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids: a meta-analysis. *Arteriosclerosis, Thombosis and Vascular Biology*. 15 (11) pp 1917-1927.

Gilbert D. L. & Colton C. A. (1999) Chemistry of reactive oxygen species. Dans Gilbert D. L & Colton C. A. (Eds) Reactive oxygen species in biological systems: an interdisciplinary approach. Springer Dordrecht. NDL. pp 33-73.

Gilbert D. L & Colton C. A. (1999) Environmental pro- and antioxidants. In Gilbert D. L & Colton C. A. (Eds) Reactive oxygen species in biological systems: an interdisciplinary approach. Springer Dordrecht. NDL. pp 317-393.

Gille L., Rosenau T., Koslov A. V. & Gregor W. (2008) Ubiquinone and tocopherol: Dissimilar siblings. *Biochemical Pharmacology*. 76 (3) pp 289-302.

Gimeno E., Castellote A. J., Lamuela-Raventos R. M., De la Torre M. C. & Lopez-Sabater M. C. (2002) The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α-tocopherol, and β-carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*. 78 (2) pp 207-211.

Gomez-Rico A., Fregapane G. & Desamparados M. S. (2008) Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*. 41 (4) pp 433-440.

Gomez-Rico A., Desemparados M. S. & Fregapane G. (2009) Virgin olive oil and olive fruit minor constituents as affected by irrigation management based on SWP and TDF as compared to Etc in medium-density young olive orchards (*Olea europaea* L. cv. *Cornicabra* and *Morisca*). *Food Research International.* 42 (8) pp 1067-1076.

Gutierrez F., Jimenez B., Ruiz A & Albi M. A. (1999) Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties pictual and hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 47 (1) pp 121-127.

Gutierrez-Rosales F., Rios J. J. & Gomez-Rey M. L. (2003) Main polyphenols in the bitter taste of virgin olive oil. Structural confirmation by on-line highperformance liquid chromatography electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (20) pp 6021-6025.

Gutterridge J. M. C. & Halliwell B. (Eds) (1994) Metals and oxygen: respiration, oxidation, and oxygen toxicity. Dans Antioxydants in nutrition, health, and disease. Oxford University Press, USA. pp 24-39.

Harel S. & Talmi A. (1957) Estimation of Moisture and Water of Crystallization by Azeotropic Distillation. *Analytical Chemistry* 29 (11) pp 1694-1697.

Harwood J. L. & Aparicio R. (Eds.) (2000) Handbook of olive oil : analysis and properties. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen publications, Inc. 620 pages.

Hashim Y. Z. H. Y., Rowland I. R. McGlynn H., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposto S., Montedoro G. F., Kaisalo K. & Gill C. R. I. (2008) Inhibitory effects of olive oil phenolics on invasion in human colon adenocarcinoma cells *in vitro*. *International Journal of Cancer*. 112 (3) pp 405-500.

Hass U., Lund S. P., Hougaard K. S. & Simonsen L. (1999) Developmental Neurotoxicity After Toluene Inhalation Exposure in Rats. *Neurotoxicology and Teratology*. 21 (4) pp. 349-357.

Herrera M. C. & Luque de Castro M. D. (2005) Ultrasound-assited extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A.* 1100 (1) pp 1-7.

Jadhav D., Rekha B. N., Gogate P. R., & Rathod V. K. (2009) Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional Soxhlet and ultrasound-assisted extraction, *Journal of Food Engineering*. 93 (4) pp 421-426.

Japon-Lujan R., Luque-Rodriguez J. M. & Luque de Castro M. D. (2006) Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of chromatography A*. 1108 (1) pp 76-82.

Judd J. T., Clevidence B. A., Muesing R. A., Wittes J., Sunkin M. E. & Podczasy J. J. (1994) Dietary trans fatty acids: effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women. *American Journal of Clinical Nutrition.* 59 (4) pp 861-888.

Kalua C. M., Allen M. S., Bedgood D. R., Bishop A. G., Prenzler P. D. & Robards K. (2007) Olive oil volatile compounds, flavour development and quality : A critical review. *Food Chemistry*. 100 (1) pp 273-286.

Kanakis C. D., Daferera D. J., Tarantilis P. A. & Polissiou M. G. (2004) Qualitative determination of volatile compounds and quantitative evaluation of safranal and 4-Hydroxy-2,6,6,-trimethyl-1-cyclohexane-1-carboxaldehyde (HTCC) in Greek Saffron. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52 (14) pp 4515-4521.

Keys A. (1980) Seven countries: a multivariate analysis of death and coronary heart diseases. Cambridge, Massachusetts, USA. Harvard University Press.

Kiritsakis A. K. (1998) Flavor of olive oil – a review. *Journal of the American Oil Chemists Society.* 75 (6) pp 673-681.

Kohyama N., Nagata T., Fujimoto S. & Sekiya K. (1997) Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol, a phenolic compound from olives. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 61 (2) pp 347-350.

Kratz M., Cullen P., Kannenberg F., Kassner A., Fobker M., Abuja P. M., Assmann G. & Wahrburg U. (2002) Effect of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low density lipoprotein. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56 (1) pp 72-81.

Kris-Etherthon P. M. (1999) Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 100 (11) pp 1253-1258.

Lammers J. H. C. M., Van Asperen J., de Groota D. & Pels Rijckena W. R. (2005) Behavioural effects and kinetics in brain in response to inhalation of constant or fluctuating toluene concentrations in the rat. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 19 (3) pp 625–634.

Le Tutor B. & Geudon D. (1992) Antioxidative activities of *Olea europaea L*. leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry*. 31 (4) pp 286-292.

Lee S. J., Umano K., Shibamoto T. & Lee K. G. (2005) Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 91 (1) pp 131-137.

Liangfu Z. & Zelong L., Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry.* 15 (5) pp 731-737.

Logan A. (2004) Omega-3 fatty acids and major depression: a primer for the mental health professional. *Lipids in Health and Disease*. 3 pp 25-32.

Ma Y. Q., Chen J. C., Liu D. H. & Ye X. Q. (2009) Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*. 16 (1) pp 57-62.

Macheix J. J., Fleuriet A. & Billot J. (1990) Fruit phenolics. CRC press. Boca Raton. USA. pp 1-126.

Manna C., Galletti P., Cucciola V., Montedore G. F. & Zappia V. (1999) Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 10 (3) pp 159-165.

Marnett L. J. (1999) Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research.* 424 (1-2) pp 83–95.

Mason T. J. & Lorimer J. P. (2002) Applied Sonochemistry. *Wiley-VCH*. Weinheim, Allemagne.

Mason T. J., Paniwnik L. & Chemat F. (2003) Chapter 16: Ultrasound as a preservation technique, dans *Food preservation techniques*. P. Zeuthen & L. Bogh-Sorensen (Ed), *CRC Press*. Cambridge, Grande Bretagne.

Mason T. J., Vian M. & Chemat F. (2010) Chapter 11: Ultrasonic processing, dans *Alternatives to Conventional Food Processing*, A. Proctor (Ed.), *RSC*, London, Grande Bretagne.

Mazza G. & Miniati E. (1993) Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC press. Boca Raton, USA. pp 64-67.

McWilliams M. L., Chen G. D. & Fechter L. D. (2000) Low-Level Toluene Disrupts Auditory Function in Guinea Pigs. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 167 (1) pp 18–29.

Menendez J. A., Vazquez-Martin A., Oliveras-Ferraros C., Garcia-Villalba R., Carrasco-Pancorbo A., Fernandez-Gutierrez A. & Segura-Carretero A. (2009) Extra-virgin olive oil polyphenols inhibit HER2 (*erb*B-2)-induced malignant transformation in human breast epithelial cells: Relationship between the chemical structures of extra-virgin olive oil secoiridoids and lignans and their inhibitory activities on the tyrosine kinase activity of HER2. *International Journal of Oncology*. 34 (1) pp 43-51.

Mercury M., Tschan W., Kehoe R. & Kuechler A. (2007) The presence of depression and anxiety in Parkinson disease. *Disease-a-Month.* 53 (5) pp 296-301.

Morales M. T., Rios J. J. & Aparicio R. (1997) Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: Flavors and off-favors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 45 (7) pp 2666-2673.

Moreno J. J. (2003). Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophage raw 264.7. *Free Radical Biology and Medecine*. 35 (9) pp 1073-1081.

Motard-Bélanger A., Charest A., Grenier G., Paquin P., Chouinard P. Y., Lemieux S., Couture P. & Lamarche B. (2008) Study on the effects of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 87 (3) pp 593-599.

Murkovic M., Lechner S., Pietzka A., Bratacos M. & Katzogiannos E. (2004) Analysis of minor components in olive oil. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 61 (1-2) pp 155-160.

Nergiz C. & Ergönül P. G. (2009) Organic acid content and composition of the olive fruits during ripening and its relationship with oil and sugar. *Scientia Hoticulturae*. 122 (2) pp 216-220.

Nkondjock A., Shatenstein B., Maisonneuve P. & Ghadirian P. (2003) Assessment of risk associated with specific fatty acids and colorectal cancer among French-Canadians in Montreal :a case-control study. *International Journal of Epidemiology*. 32 (2) pp 200-209.

Noltingk B. E. & Neppiras E. A. (1950) Cavitation produced by Ultrasonics. *Proceeding of the Physical Society. Section B*. 63 (9) pp.674-685.

Ocakoglu D., Tokatli F., Ozen B. & Korel F. (2009) Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*. 15 (2) pp 401-410.

Official Method Ca 5a-40 (1989) Free Fatty Acids. *American Oil Chemists' Society*, Champaign, IL, USA.

Official Method Cd 8-53 (1989) Peroxyde Value: Acetic Acid-Chloroform Method. *American Oil Chemists' Society*, Champaign, IL, USA.

Official Method Ce 2-66 (1989) Preparation of Methyl Esters of Long-Chain Fatty Acids. *American Oil Chemists' Society*, Champaign, IL, USA.

Official Method Ce 8-89 (1989) Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Vegetable Oils and Fats by HPLC. *American Oil Chemists' Society*, Champaign, IL, USA.

Official Method Ja 2a-46 (1989) Moisture. *American Oil Chemists' Society*, Champaign, IL, USA.

Ollivier D., Artaud J., Pinatel C., Durbec J. P. & Guérère M. (2003) Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (19) pp 5723-5731.

Owen R. W., Giacosa A., Hull W. E., Haubner R., Spiegelhalder B. & Bartsch H. (2000) The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer*. 36 (10) pp 1235-1247.

Pala V., Krogh V., Muti P., Chajès V., Riboli E., Micheli A., Saadatian M., Sieri S. & Berrino F. (2001) Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer : a prospective italian study. *Journal of the National Cancer Institute*. 93 (14) pp 1088-1095.

Palma M. & Barroso C. G. (2002) Ultrasounds-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. *Analitica Chimica Acta*. 458 (1) pp 119-130.

Pena M. R., Barciela J., Herrero C. & Garcia-Martin S. (2005) Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. *Talanta.* 67 (1) pp 129-135.

Petroni A., Blasevich M., Salami M., Servili M., Montedoro G. F. & Galli A. (1995) Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Research*. 78 (1) pp 151-160.

Pincemail J. & Defraigne J. O. (2003) Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone: un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Cœur, Poumon*. 8 (2) pp 55-60.

Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N., Vincieri F. F., Cimato A. & Romani A. (2003) Minor polar compounds and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food Chemistry.* 80 (3) pp 331-336.

Psomiadou E., Tsimidou M. & Boskou D. (2000) α-tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48 (5) pp 1770-1775.

Pryor W. A. & Stanley J. P. (1975). A suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *The Journal of Organic Chemistry.* 40 pp 3615-3617.

Reaven P. & Witztum J. L. (1996) Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Annual Review of Nutrition*. 16 pp 51-71.

Rodrigues S., Pinto G. A. S. & Fernandes F. A. N. (2008) Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*. 15 (1) pp 95-100.

Romero C., Brenes M, Garcia P. & Garrido A (2002) Hydroxytyrosol 4-β-D-glucoside, an important phenolic compound in olive fruit and derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (13) pp 3835-3839.

Ross R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 362 (6423) pp 801–809.

Ross R. (1999) Atherosclerosis, an inflammatory disease. *New England Journal of Medecine*. 340 (2) pp 115-126.

Rotondi A., Bendini A., Cerretani L., Mari M., Lercker G. & Gallina Toschi T. (2004) Effect of Olive Ripening Degree on the Oxidative Stability and Organoleptic Properties of Cv. Nostrana di Brisighella Extra Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 52 (11) pp 3649-3654

Rotondo S. & De Gaetano G. (2000) Protection from cardiovascular disease by wine and its derived products. Epidemiological evidence and biological mechanisms. *World Review of Nutrition and Dietetics.* 87 pp 90-113.

Ruther J. (2000) Retention index database for identification of general green leaf volatiles in plants by coupled capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 890 (2) pp 313-319.

Ryan D. & Robards K. (1998) Phenolic compounds in olives. *The Analyst*. 123 (5) pp 31R-44R.

Ryan D., Prenzler P. D., Lavee S., Antolovich M. & Robards K. (2003) Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's mammoth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (9) pp 2532-2538.

Saadatian-Elahi M., Toniolo P., Ferrari P., Goudable J., Akhmedkhanov A., Zeleniuch-Jacquotte A. & Riboli E. (2002) Serum fatty acids and risk of breast cancer in a nested case-control study of New York University Women's Health Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 11 (11) pp 1353-1360.

Salvador M. D., Aranda F., Gomez-Alonso S. & Fregapane G. (2003) Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. *Food Chemistry*. 80 (3) pp 359-366.

Serbinova E., Kagan V. E., Han D. & Packer L. (1991) Free radical recycling and intramembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Free Radical Biology and Medecine*. 10 (5) pp 263-275.

Shasha B. & Leibowitz J. (1961) On the oleuropein, the bitter principle of olives. *Journal of Organic Chemistry*. 26 (6) pp 1948-1954.

Sherwin E. R. (1976) Antioxidants for vegetable oils. *Journal of the American Chemical Society*. 53 pp 430-436.

Shotipruk A., Kaufman P. B. & Wang H. Y. (2001) Feasability study of repeated harvesting of menthol from biologically viable *Mentha x piperata* using ultrasonic extraction. *Biotechnology progress*. 17 (5) pp 924-928.

Sinolea (1991) European Patent No. 0252025®, Munich, 2 January 1991. Property of Rapanelli Co., Foligno, Italy

Soler-Rivas C., Espin J. C. & Wichers H. J. (2000) Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (7) pp 1013-1023.

Suslick K. S. (1988) Ultrasound : chemical and physical and biological effects, *Wiley-VCH*, Londres, Grande Bretagne.

Taepavarapruk P. & Song C. (2010) Reduction of acetylcholine release and nerve growth factor expression are correlated with memory impairment induced by interleukin-1beta administrations: effects of omega 3 fatty acid EPA treatment. *Journal of Neurochemistry*. 112 (4) pp 1054-1064.

Timonen M., Horrobin D., Jokelainen J., Laitinen J., Herva A. & Rasanen P. (2004) Fish consumption and depression: the northern Finland 1966 birth cohort study. Journal of Affective Disorders. 82 (3) pp 447-452.

Topallar H., Bayrak Y. & İşcan M. (1997) A Kinetic Study on the autoxidation of sunflowerseed oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*. 74 (10) pp 1323-1327.

Tripoli E., Giammanco M., Tabacchi G., Di Majo D., Giammanco S. & La Guardia M. (2005) The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and benefical effects on human health. *Nutrition Research Reviews*. 18 (1) pp 98-112.

Tuck L. K. & Hayball P. J. (2002) Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of nutritional biochemistry*. 13 (11) pp 636-644.

Tura D., Gigliotti C., Pedo S., Failla O., Bassi D. & Serraiocco A. (2007) Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europaea L.*) and correlation with oxidative stability*. Scientia Horticulturae*. 112 (1) pp 108-119.

Tura D., Failla O., Bassi D., Pedo S. & Serraiocco A. (2008) Cultivar influence on virgin olive (Olea europaea L.) oil flavor based on aromatic compounds and sensorial profile. *Scientia Horticulturae* 118 (2) pp 139-148.

Van Dyke B. R. & Saltman P. (1996) Hemoglobin: a mechanism for the generation of hydroxyl radicals. *Free Radical Biology and Medecine*. 20 (7) pp 985-989.

Veillet S., Tomao V., Visinoni F. & Chemat F (2009a) New and rapid analytical procedure for water content determination: Microwave accelerated Dean–Stark. *Analytica Chimica Acta*. 632 (2) pp 203-207.

Veillet S., Tomao V., Bornard I., Ruiz K. & Chemat F (2009b) Chemical changes in virgin olive oils as a function of crushing systems: Stone mill and hammer crusher. Comptes Rendus de Chimie. 12 (8) pp 895-904.

Veillet S., Tomao V. & Chemat F. (2009c) Ultrasound Assisted Extraction of aromas and antioxidants. Dans F. Chemat (Ed) Essential oil and aromas green extractions and applications, HKB, New Delhi, Inde.

Veillet S., Tomao V. & Chemat F. (2010a) Ultrasounds assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chemistry. Publication acceptée.*

Veillet S., Tomao V., Ruiz K. & Chemat F. (2010b) Green procedure using limonene in the Dean Stark apparatus for water determination in food products. *Analytica Chimica Acta. Publication acceptée.*

Venkateshwarlu G., Let M. B., Meyer A. S & Jacobsen C (2004) Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 (6) pp 1635-1641.

Viera O., Laranjinha J., Madeira V. & Almeida L. (1998) Cholesteryl ester hydroperoxyde formation in myoglobin-catalysed low density lipoprotein oxidation: concerted antioxidant activity of caffeic and p-coumaric acids with ascorbate. *Biochemical Pharmacology*. 55 (3) pp 333-340.

Vierhuis E., Servili M., Baldioli M., Schols H. A., Voragen A. G. J. & Montedoro G. F. (2001) Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 49 (3) pp. 1218–1223.

Vinha A. F., Ferreres F., Silva B. M., Valentao P., Gonçalves A., Pereira J. A., Oliveira M. B., Seabra R. M. & Andrade P. B. (2005) Phenolic profile of Portuguese olive fruits (*Olea europaea L.*): Influence of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*. 89 (4) pp 561-568.

Viola P. (1987) Olive oil and health, International Olive Oil Council, Madrid, Spain.

Virot M., Tomao V., Colnagui G., Visinoni F. & Chemat F. (2007) New microwave-integrated Soxhlet: an advantageous tool for the extraction of lipids from food products. *Journal of Chromatography A*. 1174 (1-2) pp 138-144.

Virot M., Tomao V., Ginies C., Visinoni F. & Chemat F. (2008) Microwave-integrated extraction of total fats and oils. *Journal of Chromatography A*. 1196-1197 (4) pp 57-64.

Visioli F. & Galli C. (1998) The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews*. 56 (5) pp 142-147.

Wang J., Sun B., Cao Y., Tian Y. & Li X. (2008) Optimisation of ultrasounds-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry.* 106 (2) pp 804-810.

Westhuyzen J. (1997) The oxidation hypothesis of atherosclerosis: an update. *Annals of Clinical and Laboratory Sciences.* 27 (1) pp 1-10.

Witte J. S., Ursin G., Siemiatycki J., Thompson W. D., Paganini-Hill A. & Haile R.W. (1997) Diet and premenopausal bilateral breast cancer: a case-control study. *Breast Cancer Research and Treatment*. 42 (3) pp 243-251.

Yang D. P., Kong D. X. & Zhang H. Y. (2007) Multiple pharmacological effects of olive oil phenols. *Food Chemistry.* 104 (3) pp 1269-1271.

Youdim K. A. & Deans S. G. (1999) Dietary supplementation of thyme (*Thymus* v*ulgaris* L.) essential oil during the lifetime of the rat: its effects on the antioxidant status in liver, kidney and heart tissues. *Mechanism of Ageing and Development*. 109 (3) pp 163-175.

Zingg J. M. & Azzi A. (2004) Non-antioxidant activities of vitamin E. *Current Medicinal Chemistry*. 11 (9) pp 1113-1133.