

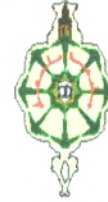
2109 K510-214 / 09
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE-TLEMCCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE,



ET DES SCIENCES DE LA TERRE ET L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE PRODUITS NATURELS

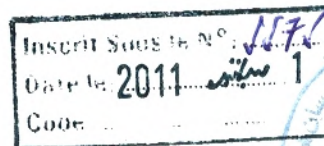


MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN BIOLOGIE

OPTION : PHYSIOPATHOLOGIE CELLULAIRE.

THEME :

EFFET HYPOLIPIDIEMANT DE L'HUILE D'OLIVIER SAUVAGE OLEA EUROPAEA OLÉASTRE
OU OLEA SYLVESTRIS.



Présenté par :

M^{lle} : BENDIMERAD SORAYA.

Soutenu le 12 /07/ 2011 devant les membres du jury :

- | | | | |
|-------------------------------------|--------------|-------------------------|------------------------|
| -M ^{me} MERZOUK HAFIDA | Présidente | Professeur. | Université de Tlemcen. |
| -M ^{me} BENDIMERAD NASSIMA | Examinatrice | Maitre de conférence A. | Université de Tlemcen. |
| -M ^r ARIBI MOURAD | Examineur | Maitre de conférence A. | Université de Tlemcen. |
| -M ^{me} BELARBI MERIEM. | Promotrice | Professeur. | Université de Tlemcen. |

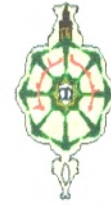
214 / 09
REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE-TLEMCCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE,



ET DES SCIENCES DE LA TERRE ET L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE PRODUITS NATURELS

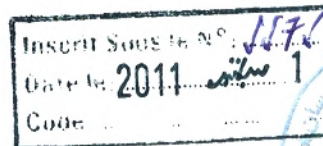


MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN BIOLOGIE

OPTION : PHYSIOPATHOLOGIE CELLULAIRE.

THEME :

EFFET HYPOLIPIDEMIANANT DE L'HUILE D'OLIVIER SAUVAGE •OLEA EUROPAEA OLÉASTRE
OU OLEA SYLVESTRIS•.



Présenté par :

M^{lle} : BENDIMERAD SORAYA.

Soutenu le 12 /07/ 2011 devant les membres du jury :

- | | | | |
|-------------------------------------|--------------|-------------------------|------------------------|
| -M ^{me} MERZOUK HAFIDA | Présidente | Professeur. | Université de Tlemcen. |
| -M ^{me} BENDIMERAD NASSIMA | Examinatrice | Maitre de conférence A. | Université de Tlemcen. |
| -M ^r ARIBI MOURAD | Examineur | Maitre de conférence A. | Université de Tlemcen. |
| -M ^{me} BELARBI MERIEM. | Promotrice | Professeur. | Université de Tlemcen. |

Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à Monsieur Chabane Sari Daoudi professeur à l'université de Tlemcen, au département de Biologie et directeur de Laboratoire de produits naturels (LAPRONA) pour son aide précieuse, ainsi que ses conseils.

Ma gratitude et profonde reconnaissance s'adresse à M^{me} Belarbi Meriem professeur à l'université de Tlemcen, au Département de Biologie, qui a accepté de m'encadrer pour ses conseils, ses orientations et la patience qu'elle m'a accordé.

Toute ma considération et mes sentiments les plus respectueux s'adressent à M^{me} Merzouk Hafida professeur à l'université de Tlemcen, au Département de Biologie que je remercie infiniment de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de Jury.

Mes sentiments les plus respectueux à M^{me} Bendimerad Nassima, Maître de conférence de classe A à l'Université de Tlemcen, au Département de Biologie qui a bien voulu examiner ce travail.

Mes sentiments les plus respectueux à M^r Laribi Mourad Maître de conférence de classe A à l'Université de Tlemcen, au Département de Biologie qui a bien voulu examiner ce travail.


Mes sentiments les plus respectueux à M^r Chemat Farid professeur à l'université d'Avignon pour son aide précieuse.

J'adresse également mes remerciements à toutes les personnes que j'ai côtoyé au cours de cette étude.

A M^r Boudjemaa Rachid de l'huilerie de Beni-Snous, M^r Chemat Farid, A M^r Mostefaï Noureddine, M^r Medjahed Amine, M^r Dahmani A.E.K, M^r Benamar Chahid, M^r Beghdad, M^r Bouslham A. M^r Benmedah Rachid, M^r Dib Arslane, M^{lle} Dali Youcef Nawel.

A mes amies et future docteur en Biologie inchaallah, Sour Souad, Sarhane Darine, Benmansour Nassima, Soualem Zoubida.

Enfin, je remercie tout les enseignants de Département de Biologie que je trouve qu'ils ont beaucoup de mérite.



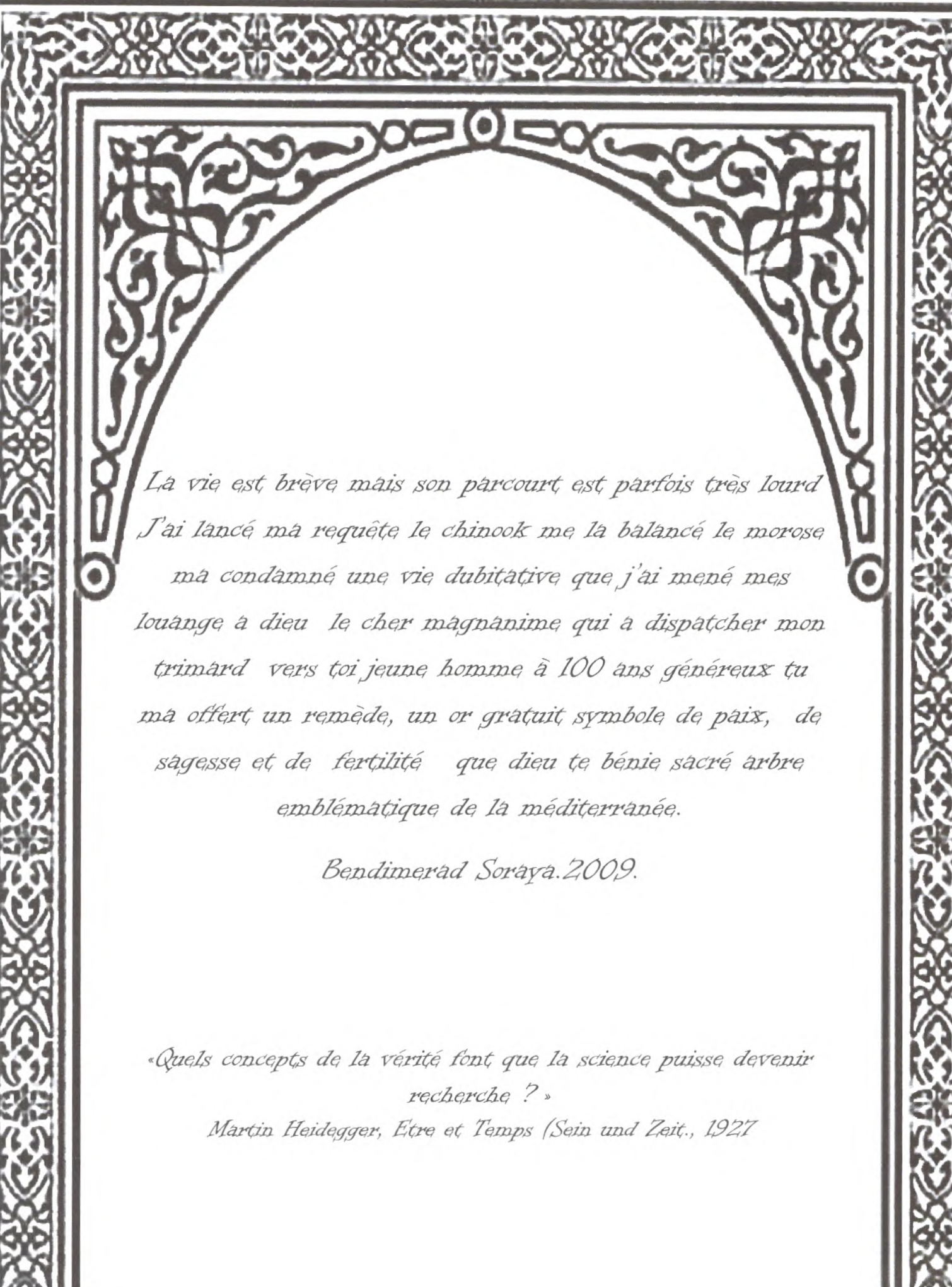
*A l'aide de DIEU, le tout
puissant ce travail est achevé, je le dédie à tous
ceux qui me sont très chers*

*A la mémoire de notre cher frère
Boukarboua Kamel qui restera
iniélébile dans nos pensées qu'il repose
dans le vaste paradis.*

*A la Pupille de mes yeux, le bonheur
des mes jours et le printemps de ma
vie ma très chère famille, mon mari
et ma belle famille dont je suis
heureuse et fière d'avoir que dieu les
protège.*

*A vous dans le cœur si pleins d'amour et d'amitié
Dali youcef Wassila , Boukefrouna Chahrazed*

*A qui je souhaite beaucoup de bonheur et succès
durant tous leurs parcours*



*La vie est brève mais son parcours est parfois très lourd
J'ai lancé ma requête le chinook me la balancé le morose
ma condamné une vie dubitative que j'ai mené mes
louange à dieu le cher magnanime qui a dispatcher mon
trimard vers toi jeune homme à 100 ans généreux tu
ma offert un remède, un or gratuit symbole de paix, de
sagesse et de fertilité que dieu te bénie sacré arbre
emblématique de la méditerranée.*

Bendimerad Soraya.2009.

*«Quels concepts de la vérité font que la science puisse devenir
recherche ? »*

Martin Heidegger, Être et Temps (Sein und Zeit., 1927

ملخص

الزيتون البري (*Olea europaea oleastre*) نوع نباتي أصل الزيتون الزراعي يحيط البحر الأبيض المتوسط. استخلاص زيت ذات جودة عالية من فاكهة الزيتون بطريقة ميكانيكية تضم ثلاثة مراحل.

أظهرت الدراسة الفيزيوكيميائية للزيت المستخلصة نقاوتها و صفاتها و أنها مكونة من سلاسل متوسطة من الأحماض الدسمة بين تركيب الأحماض الدسمة تواجد أكثرية للأحماض الدسمة غير المشبعة وهذا نتيجة احتوائها لنسبة 74% من حمض الأوليك و 8,70% من حمض لينولييك. الجزء الفينولي متوفر بكمية كبيرة 420 مغ/كغ من الزيت حيث يسمح بحماية جيدة للزيت فترة تخزينها و أيضا يقيها من الأكسدة. تركيبها الفيزيوكيميائي النوعي يعطي لزيت الزيتون البري خصائص مطلوبة من طرف المستهلك تحمي و تقي من عدة أمراض. في هذا الغرض يركز الباحثون على النظام الغذائي السائد لدى سكان البحر المتوسط و الذي يتميز بوفرة الغذاء النباتي مثل الحبوب، الخضروات، الفواكه و الزيوت النباتية حيث تعتبر زيت الزيتون أهم الزيوت المستهلكة و ميزة غذائهم هذا نسبة إلى كثرة استهلاكها. إن زيت الزمبوج غنية بـحمض الأوليك و الجزيئات الدقيقة لهم خصائص مفيدة للوقاية من أنواع مختلفة من الأمراض. استنادا لهذه البيانات قمنا بدراسة تأثير استهلاك زيت الزمبوج لمدة شهر في خفض كمية الدهون في الدم. إن النظام الغذائي يؤثر على التحليل البلازمية في هذا الاطار أجرينا بحث غذائي لغرض تقييم النسبة الطاقوية اليومية للوجبات الغذائية عند كل من الفوج المستهلك والغير مستهلك للزيت بهدف فهم العلاقة الموجودة بين مختلف المكونات الغذائية وتأثير زيت الزمبوج في خفض كمية الكولسترول والكولسترول LDL و الدهون الثلاثية TG وارتفاع الكولسترول HDL و الفيتامين C في البلازما.

- في النهاية تعتبر هذه النتائج إلابيان يدل أن زيت الزمبوج تساهم في خفض كمية الدهون في الدم.

الكلمات المفتاحية :

الزمبوج، زيت الزيتون، الدسم، البناء العضوي للدسم ، التغذية ، التركيب الفيزيوكيميائي، أثر على خفض نسبة الدهون.

Résumé :

L'Olivier sauvage (*Olea europaea* oléastre/*sylvestris*) est une espèce végétale ancêtre de l'olivier cultivé bordant le pourtour méditerranéen. L'extraction par un procédé triphasique de fruit de cet arbre donne une huile sacrée par ses multiples usages. La détermination des indices physico-chimiques a révélé que l'huile est vierge, nonsiccative, constituée de chaînes moyennes d'acides gras. La composition en acides gras montre une insaturation prépondérante due à la teneur élevée de 74% d'acide gras mono insaturés «oléique» et de 8,70 % de l'acide gras polyinsaturé «linoléique». La fraction phénolique présente une quantité très importante de 420 mg/kg de l'huile qui confère à l'huile la stabilité, la protège contre l'oxydation des LDL, permet sa conservation et assure aussi un bon apport alimentaire en antioxydants. La composition physico-chimique de l'huile d'oléastre confère à l'huile des propriétés recherchées par l'usage préventives et curatives contre plusieurs pathologies. C'est dans ce contexte que les recherches se focalisent sur le régime méditerranéen qui se caractérise par une abondance d'aliments d'origine végétale tel que les céréales, les légumes, les fruits et les huiles dont l'huile d'olive qui est la principale source de lipide et marque leur alimentation via sa grande consommation ; l'huile d'olive riche en acide oléique et en poly phénols ont des intérêts indénombrables dans la prévention contre différentes pathologies. Sur la base de ces données, nous avons réalisé une étude prospective de la consommation de l'huile d'oléastre pendant un mois dans le but de rechercher l'effet hypolipidémiant de cette huile. Les paramètres plasmatiques sont influencés par le régime alimentaire ainsi on a réalisé une enquête nutritionnelle afin d'établir l'apport énergétique quotidien en aliments chez les deux groupes de volontaires et de faire la relation entre la ration alimentaire et l'effet de l'huile d'oléastre dans la diminution de cholestérol total, cholestérol libre, estérifié, de LDL – cholestérol et de triglycérides plasmatique et l'augmentation de HDL- cholestérol plasmatique. Finalement nos résultats ne sont qu'une empreinte de l'effet hypolipidémiant.

Mots clé : Oléastre, l'huile d'olive, acides gras, métabolisme lipidique, nutrition, indices physico-chimique, effet hypolipidémiant.

Abstract

Wild olive (*Olea europaea oleaster/sylvestris*) is a botanical species ancestor of the olive tree cultivated lining the Mediterranean region. The extraction by a process triphasic by fruit of this tree gives an oil crowned by its multiple manners. The physicochemicals determination reveals that the oil is blank, not siccative established by chains average of fatty acids. The fatty acids composition show a dominating institution due to the content raised by 74% of fatty acid monounsaturated «oleic». The phenolic fraction presents a very important proportion which confers has the oil stability, protects it from the LDL oxidation, allows his preservation and also insuring a good food contribution in antioxidant. The physicochemicals composition of oil oleaster confer the properties looked for by worn preventive and curative against some disease. It is in this context that the researches focus on the Mediterranean diet which is characterized by an abundance of vegetable food such as cereals, green vegetables, fruit, vegetable oil of which the olive oil is a marker of their food via its big consumption; the high composition oleic acid and polyphenols have uncountable interests in the prevention against various pathology. Based on these data a forward looking study of the consumption of the oil oleaster during a month to look for hypolipidemic effect of this oil. The nutritional survey allowed us to establish the daily energy contribution in food to both groups of volunteers and facilitated us the interpretation of the decrease of total plasma cholesterol, free cholesterol, ester cholesterol and LDL-C and the increase of plasma HDL-C after the introduction of month of the oil oleaster. Finally our results are only an imprint of the hypolipidemic effect of oil oleaster.

Key words: oleaster, olive oil, fatty metabolism, fatty acids, nutrition, physicochemicals index, hypolipidemic effect.

Liste des abréviations

ABCA1 : ATP binding cassette protein A1.

AETQ : Apport énergétique total quotidien.

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

AGMI : Acide gras mono insaturé.

AGPI : Acide gras polyinsaturé.

AGS : Acide gras saturé.

ANC : Apport nutritionnel conseillé.

Apos : Apolipoproteins

C, CH : Cholestérol.

CE : Cholestérol estérifié.

CETP : Cholesterol ester transférprotein

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

D₂₀ : Indice de densité.

FAO : Food and agriculture organization.

HDL: High density lipoprotein.

I_A: Indice d'acide.

I_d: Indiced'iode.

IDL: Intermediate density lipoprotein.

IMC : Indexe de masse corporelle.

LCAT: Lecithine cholesterol acyl transpherase.

LDL: Low density lipoprotein.

LRT : Lipoprotéine riche en triglycérides.

LPL : Lipoprotéine lipase.

O : Oléa.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PL : Phospholipide.

SM : Spectre de masse.

TAD : Tension artérielle diastolique

TAS : Tension artérielle systolique.

n-6 : Acide linoléique.

n-3 : Acide α -linoléique.

Liste des figures

Figure 01. Distribution naturelle du complexe <i>Olea europaea</i> dans le monde.....	04
Figure 02. Image de l'Olivier sauvage de la région est de Tlemcen les cascades d'El Ourit.....	05
Figure 03. Image de feuilles et fruits de l'Olivier sauvage d'El ourit.....	07
Figure 04. Schéma de la particule de lipoprotéine.....	11
Figure 05. Métabolisme de chylomicrons.....	14
Figure 06. Métabolisme des LDL et HDL.....	15
Figure 07. Procédé d'extraction de l'huile d'olive à trois phase	19
Figure 08a. Histogramme représentant la répartition des nutriments consommés chez les volontaires.....	34
Figure 8b. Secteurs représentant les proportions des macronutriments consommés chez les deux groupes de volontaires.....	35
Figure 09. Secteurs représentant les proportions des glucides simples et composés consommés chez les volontaires.....	36
Figure 10. Secteurs représentant les proportions des acides gras saturés, mono insaturés, poly insaturés dans la ration lipidique consommée chez les volontaires....	37
Figure 11. Teneurs plasmatiques en glycémie chez les consommateurs d'huile d' <i>Olea europaea</i> oléastre et les témoins.....	40
Figure 12. Teneurs en triglycérides plasmatiques chez les consommateurs d'huile d' <i>Olea europaea</i> oléastre et les témoins.....	40
Figure 13. Teneurs plasmatiques en cholestérol total, en cholestérol libre et en esters de cholestérol chez les consommateurs d'huile d' <i>Olea europaea</i> Oléastre et les témoins.....	41
Figure 14. Teneurs en cholestérol total au niveau des différentes fractions des lipoprotéines chez les consommateurs d'huile d' <i>Olea europaea</i> oléastre et les témoins.....	42
Figure 15. Teneurs plasmatiques en protéines totales chez les consommateurs d'huile d' <i>Olea europaea</i> oléastre et les témoins.....	43
Figure 16. Teneurs plasmatiques en urée chez les consommateurs d'huile d' <i>Olea europaea</i> oléastre et les témoins.....	43
Figure 17. Teneurs plasmatiques en Vitamine C chez les consommateurs d'huile d' <i>Olea europaea</i> oléastre et les témoins.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques de la population étudiée.....	23
Tableau 2. Les valeurs des indices physico-chimiques de l'huile d'Olea oléastre ...	29
Tableau 3. Les valeurs moyennes des acides gras de l'huile d'Olea oléastre	29
Tableau 4. Consommation journalière moyenne des macronutriments chez les non consommateurs et les consommateurs d'huile d'Olea europaea oléastre.....	31
Tableau 5. consommation journalière moyenne des micronutriments chez les non consommateurs et les consommateurs d'huile d'Olea europaea oléastre.....	32

Table des matières

Introduction générale.....	01
Synthèse bibliographique.....	03
I. Présentation de L'olivier sauvage	03
II. Métabolisme lipidique.....	11
Matériels et Méthodes.....	19
I. Matériel Végétal.....	19
II. Etude physico-chimique de l'huile	20
II.I Détermination des indices physico –chimiques.....	20
II.1.1. Indice de densité d_{20}	20
II.1.2. Indice de réfraction N_d^t	20
II.1.3. Indice d'acide I_A	20
II.1.4. Acidité.....	20
II.1.5. Indice de saponification.....	20
II.1.6. Indice d'iode I_i	20
II.1.7. composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectre de masse (CPG/SM).....	20
II.2 Dosage des polyphénols totaux.....	22
III. Population étudiée.....	23
IV. Enquête nutritionnelle.....	24
V. Etude biochimique.....	24
V.1.Prélèvement sanguins.....	24
V.2.Détermination de la glycémie.....	24
V.3.Détermination de la triglyceridemie.....	25
V.4.Détermination des teneurs en cholestérol total	25
V.5. Détermination des teneurs en lipoprotéines sériques.....	26
V.6.Détermination des teneurs en cholestérol libre.....	26

V.7.Détermination des teneurs en protéines totales.....	27
V.8.Détermination des teneurs en Urée.....	27
VI. Traitement Statistique.....	27
Résultats et Interprétation.....	28
I. Analyses physico-chimiques de l'huile.....	28
I.1.Les valeurs des indices physico-chimiques de l'huile d'Oléa oléastre.....	28
II. Etude nutritionnelle.....	30
II.1.Consommation journalière moyenne des nutriments.....	30
II.2.Apport journalier en micronutriments.....	30
III. Etude biochimique.....	38
III.1.Détermination des paramètres glucidiques, lipidiques et protéiques au niveau du plasma et des lipoprotéines.....	38
Discussion.....	45
Conclusion Générale.....	59
Références bibliographiques.....	60
Annexe	

La nutrition et par conséquent les habitudes alimentaires se situent en premier de tous les facteurs liés aux déséquilibres métaboliques conduisant à l'apparition de plusieurs maladies telle que: l'obésité, le diabète de type 2, l'hypertension artérielle et les atteintes vasculaires (**Duclos, 2000**). Pour cela, l'évaluation des apports et des besoins énergétiques en protéines, glucides et lipides est la première étape de toute prise en charge diététique (**Andersson et Brink., 2006**).

C'est dans ce contexte, que les experts FAO/OMS utilisent le terme de besoins énergétiques pour la quantité minimale en macro nutriments et micronutriments qui doivent être régulièrement apportés ou consommés pour assurer une nutrition adéquate permettant ainsi l'équilibre entre les dépenses et les apports énergétiques, qui servira au maintien d'un bon état de santé (**Martina, 2001 ; OMS, 2007**).

Actuellement, l'opulence alimentaire a laissé libre nos appétits spécifiques qui tendent vers les régimes énergétiques, étant donné que dans le régime occidental 40% des apports caloriques journaliers sont des lipides (**Dany et al., 2006**).

Les lipides sont composés d'AGS, AGMI et AGPI qui sont indispensables et ou essentiels et doivent être apportés par l'alimentation avec des proportions théoriques égales à 1, 2, 1 (**Grundy, 1999 ; Lagarde et Lafont., 2007**). Leur variabilité fonctionnelle fait référence à leurs origines exogènes graisses et huiles d'origine animale ou végétale (**Charle et Guy., 2004**).

Mise à part leur importance dans l'alimentation leur déficience augmente les risques d'infection bactérienne et d'inflammation, d'autre part leur apport excédent favorise l'apparition des maladies cardio-vasculaires ainsi que le diabète mellitus. (**Van Dam et al., 2002**).

En effet, la consommation importante d'AGS à longue chaîne (C12 : 0, C14 : 0, C16 : 0 et C18 : 0) est associée à une augmentation du risque de Maladies cardiovasculaires de 14% alors qu'un rapport élevé en AGPI/AGS alimentaires réduisait ce risque et qu'une consommation d'AGS à chaîne courte (C4 : 0 à C10 : 0) ne le modifiait pas. (**Hu et Stampfer., 1997**)

Par ailleurs, des études ultérieures ont montrés que l'excès de graisses saturées diminue la fluidité membranaire (**Girard, 2000 ; Ernest, 2002**), et entraîne des perturbations du métabolisme lipidique dans l'organisme constituant un facteur prédisposant majeur dans l'apparition de plusieurs maladies métaboliques constitue ainsi un problème majeur de santé publique (**Andersson et Brink., 2006**).

Par contre, le remplacement des corps gras saturés par l'huile d'olive induit la diminution de l'indice de masse corporelle (**Piers et al.,2003**) et aussi la réduction des maladies cardiovasculaires et autres pathologies (**Sunchez-Muniz et Bastida .,2003**).

L'huile d'olive occupe une place importante dans l'alimentation traditionnelle des pays méditerranéens (Grèce, Italie, sud de la France, Tunisie, Maroc...) riche en graisses mono insaturées qui sont représentées principalement par l'acide oléique qui est majoritaire (**Giuspina et al., 2003 ; Cuvelier et al., 2004**) se sont des graisses non peroxydables et qui entraînent en effet une baisse du cholestérol total sans diminution du HDL-cholestérol (**Lichten et Coll.,1998**). Or en Grèce , les apports caloriques journaliers en lipides principalement en acide oléique sont estimés à 40% , en Italie à 30% (**Trichopoulou et Lagiou., 1997**). C'est là leur principale source de matières grasses (**Galli et Visioli., 1999**).

Il est actuellement bien admis que la forte demande en huile d'olive vierge de bonne qualité est due non seulement à ses vertus de santé mais également à ses propriétés organoleptiques (**Luaces et al., 2003**).

Pour ces raisons, l'objectif de notre étude est d'évaluer les paramètres physico-chimiques de l'huile d'olea oléastre de la région de Tlemcen extraite par un système continue de centrifugation à trois phase à l'huilerie de Beni Snous , et d'étudier l'impact de sa consommation régulière sur les paramètres plasmatiques : glycémie, protéine total et lipidémie, afin de mieux connaître le mécanisme d'action de cette huile pour une valorisation nutritionnelle en terme préventif contre certaines pathologies.

I. Présentation de l'olivier sauvage

A coté du palmier, de la vigne, du figuier et du grenadier, l'olivier occupe une place remarquable dans le coran. Dans la sourate ennour (535).

Arbre sacré par excellence, symbole de paix, de gloire, de fertilité, de force et de richesse, l'olivier (*Olea europaea* Linné) est l'un des arbres les plus importants le plus emblématique dans les pays du bassin méditerranéen (**Breton et al.,2008**), qui arrive au 24^e rang des espèces les plus réponsues dans le monde (**Ellstrand,2003**). Sa culture couvre environ 8 millions d'hectares et représente presque 98% de la récolte mondiale. Ceci démontre sa grande importance économique et sociale, ainsi que les avantages possibles de l'utilisation de ses sous produits (huile, fruits et feuilles) (**Giron et al., 2009**).

En Algérie, l'oléiculture représente la culture fruitière la plus répandue ; elle couvre 24%de la surface agricole utilisée (SAU) soit 200 000 hectares répartis notamment sur les zones Est et Centre-Est du pays, en particulier Béjaia, Tizi Ouzou, Bouira, Bordj-Bouarreridj, Sétif et Jijel, qui représentent ensemble 69% de la superficie totale de l'oléiculture. La production d'olive obtenue au cours de la campagne 2001/2002 est estimée à 2 millions de quintaux, dont un peu plus de 75% sont destinés aux huileries pour l'extraction de l'huile (**MADR/DSASI/SDSA, 2003**).

En effet, les premières traces de l'olivier ont été retrouvées en Asie mineure (la Syrie et l'Iran) sous la forme d'un arbuste sauvage appelé«*Oléastre*», qui se serait introduit dans le bassin méditerranéen quand le contact s'est établi entre l'Afrique du Nord et l'Espagne, la Sicile et l'Italie, plusieurs périodes sont possibles dès la fin du tertiaire. Des feuilles d'olivier sauvage sont datées de 40.000 ans dans l'Île de Sautorin , puis l'oléastre a colonisé le pourtour méditerranéen d'abord à l'Ouest puis le centre et l'Est. (**Quézel, 1995**).

Cet arbuste ancêtre d'olivier cultivé (**Besnard et al.,2001 ;Lumaret et al.,2001**) indigène en Afrique du Nord et qui pousse à l'état naturel comme la vigne et l'amandier (**Santa, 1958**) a survécu la dernière période de glaciation, il est moins nombreux dans l'Est (Turquie, Chypre et Palestine) que dans le centre méditerranéen (Corse ,France ,Tunisie) et l'Ouest (Maroc, Algérie ,Espagne).(**Breton et al.,2006**).

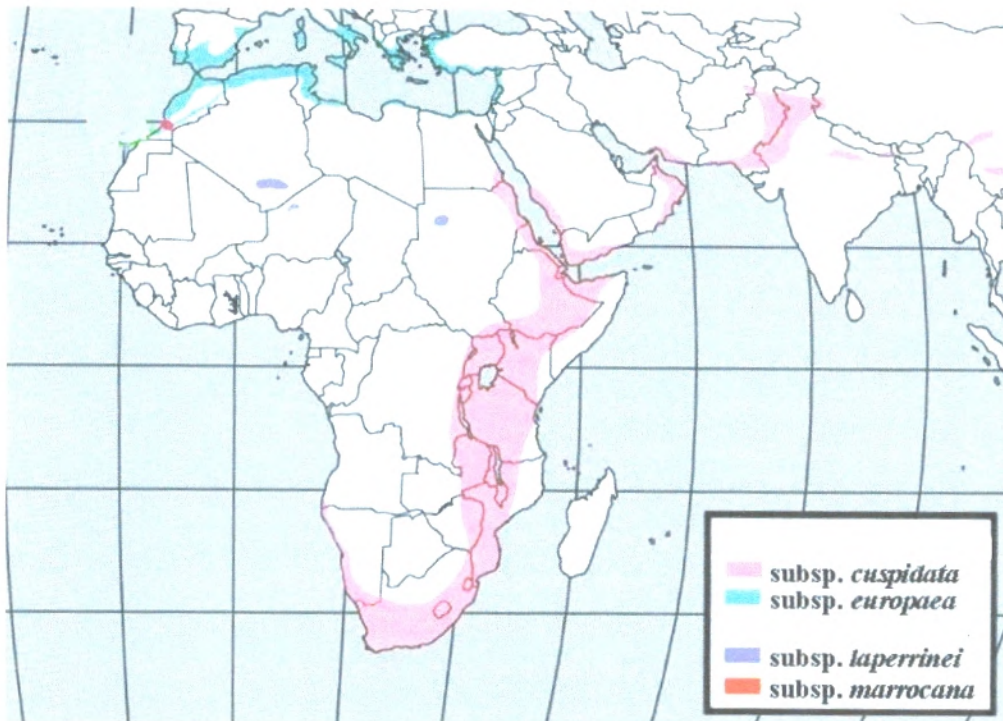


Figure 01. Distribution naturelle du complexe *Olea europaea* dans le monde. (Rubio de Casas et al., 2006)

L'olivier sauvage appelé *Olea europaea sylvestris* ou *Olea europaea oléastre* tire son nom non pas du latin mais des parlés amazigh, il est proche du nom oléo en langue touareg. Les Algériens disent ZEMBOUDGE (Jean Pagnol, 1996), ecebuhe de langue espagnol (Caravaca et al., 2003).

L'oléastre résulte de l'hybridation de la sous espèce *olea europaea cuspidata* d'Asie (olivier male) et la sous espèce *olea europaea Crysophilla* d'Afrique (olivier femelle) (Bervillé et al., 2001).

Cet arbre appartient à la famille des oléaceae qui comprend des plantes ligneuses approximativement (500 espèces) des régions tropicales et tempérées (Dupont et Guignard., 2007).

Principales subdivisions de l'espèce *Olea europaea* (Cifferi et Breviglieri 1942).

Espèce : *olea europaea*

Sous espèce : *Olea euromediterranea*

Variété 1 : *Sativa*

Variété 2 : *Oléastre*

La situation botanique d'*Olea europaea* (Ghedira, 2008) est la suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Sous/embranchement : Magnoliophitina

Classe : Magnoliopsida

Sous /classe : Dialypétales

Ordre : Lamiales

Famille : Oleaceae

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L.

Sous espèce : *Olea europaea europaea*

Variété 1 : *O. europaea sativa*

Variété 2 : *O. europaea oléastre/sylvestris*



Figure 02. Image de l'olivier sauvage de la région Est de Tlemcen les cascades d'El ourit.

L'arbre d'oléastre est de 4 à 6 m de hauteur (**Edward et al., 1993**). Il se caractérise par des branches épineuses, feuilles petites sphériques ou ovales (4cm de long environ), clairsemées, étroites, courtes et vertes avec des petits fruits nombreux et peu charnus (**Ganino et al., 2006**) qui donnent une huile fine mais peu abondante (**Terral et Arnold-Simard., 1996**), commence à fleurir et à produire le fruit à l'âge de 8 ans.

Arbre rustique, résiste mieux aux excès de température. Dont sa longévité et la qualité de son bois surpassent celles de l'olivier cultivé (**Jean Pagnol, 1996**).

L'olivier sauvage nécessite des sols à pH neutres, de plus un sol riche en cuivre n'altère pas sa croissance (**Chatzissavidis, 2002**). Il pousse sur n'importe quel pic élevé, choisissant une crevasse pour enfoncer ses racines pivotantes, la surface vernissée des feuilles et pause estivale dans le cycle végétatif pour s'adapter à la sécheresse estivale, il survie à des températures plus élevées que 40°Celsius mais par contre se détériore à des températures basses moins de 7°C (**Pansiot et Rebour., 1961**). Ses feuilles sont bien adaptées aux conditions de pénuries d'eau grâce à la présence des stomates uniquement sur leur surface inférieure (**Fernandez et al., 1997 ; Connor ,2005**).

Une pluviométrie de 500 à 700 mm est suffisante il peut même s'adapter a des régions arides comme le Sahel ou Jordanie, l'accumulation de mannitol au niveau racinaire joue un rôle majeur en cas de pénurie d'eau (**Flora et Matore ., 1993 ; Dichio et al., 2003**). La pluie de septembre est importante pour la maturation du fruit (**Pansiot et Rebour., 1961**).



Figure 3. Image de feuilles et fruits de l'Olivier sauvage d'El ourit.

Chaque partie de l'arbre est utilisable et constitue une source de revenus ou de nourriture pour l'utilisateur.

Cependant, l'exploitation de l'oléastre remonte à la préhistoire. **(Hansen, 1988 ; Sallares, 1991 ; Brun, 2004) :**

Ses racines sont utilisées pour traiter les maladies urinaires, coliques, ténias, rhumatisme et d'autres maladies **(Tahraoui et al., 2007).**

Son bois est considéré comme plutôt médiocre pour chauffer mais est apprécié pour cuire comme il brûle lentement avec une petite flamme en produisant beaucoup de charbon **(Nefzaoui, 1988)**, il est utilisé comme anti fibrillaire **(Tahraoui et al., 2007).**

La feuille et le fruit de l'oléastre sont connus pour leur résistance naturelle aux microbes tel que les *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Candida utilis*, et *Aspergillus niger* et aux insectes grâce à des composés aromatiques **(Kubo et al., 1995)**. Ils sont exploités pour le fourrage et le pâturage des cheptels **(Galili et al., 1997)**.

Les feuilles d'oléastre sont persistantes et ont une durée de vie de l'ordre de 3 ans, elles sont disposées de façon opposée sur le rameau, leur face supérieure est d'un vert

foncé, la face inférieure présente un aspect argenté (**Bezanger-Béauquesne et al.,1980**).

D'après la littérature, les feuilles d'Olea europaea sont une source importante des composés phénoliques (antioxydants naturels), comparable à celle de l'huile d'olive (**Lee et al., 2009**).

Au sud du Maroc la décoction des feuilles est utilisée dans le traitement du diabète et l'hypertension (**Tahraoui et al.,2007**), aussi principalement comme lotion de l'œil pour les humains et les animaux, et pour traiter le rhum, le mal de gorge, les amygdales agrandies et la diphtérie (**Watt et Breyer-Brandwijk, 1962; Hutchings et al., 1996; Van Wyk et Gericke, 2000; Van Wyk et al., 2009**),il sont aussi anti-viral ,anti-microbien ,anti-fongique et hypolipidémiant (**Benavente-Garcia et al.,2000; Khan et al., 2007; Pereira et al., 2007**).

Les fleurs d'oléastre sont hermaphrodites, et chaque fleur comporte un calice segmenté en quatre, une corolle tubulaire avec quatre lobes, deux étamines et un ovaire avec deux carpelles et style court (**Besnard et al., 2000**),elles sont utilisées contre les diarrhées. (**Tahraoui et al., 2007**).

Le fruit de l'oléastre est une drupe de 0,5-1,3cm de taille et avec un poids de 1.8-2.3g. (**Aparicio et Luna., 2002**). Composés de trois parties anatomiques distinctes épicarpe, mésocarpe et endocarpe (**Hartmann,1949 ;Duran et Izquierdo.,1964; Farinelli et al., 2002**).

L'épicarpe est un tissu protecteur couvert par une couche de cire, vert pendant les premières étapes de développement dû à la chlorophylle pourpre et noire à maturité grâce aux concentrations variables de chlorophylle, caroténoïdes et anthocyanines (**Minguez-Mosquera et Garrido-Fernandez.,1989**),

Le mésocarpe et aussi l'endocarpe contiennent l'huile (**Fontanazza, 1996 ; Harwood et Sanchez.,2000**).

En Tunisie, l'existence de l'oléastre remonte à l'ère paléolithique supérieure (12 siècles avant J.C). Au 4^{ème} siècle avant J.C, l'explorateur grec Scylax a déjà signalé l'importance de l'oléastre dans l'alimentation des anciens habitants de Djerba, qui en pressant ses fruits, obtenaient de l'huile d'une petite quantité réservée aux soins médicaux. Ces fruits sont utilisés même en parfum (**Jean-luc Bénel, 2009**).

De même, des poteries d'huile signifiant l'utilisation de l'huile d'olive sauvage à l'âge de Bronze à Cyprus (**Hadjsavas, 1992**) et à Crète (**Hamilakis, 1999**).

Au début de l'holocène l'huile d'olive sauvage était considérée comme la plus fine et plus vertueuse, elle avait même la réputation de calmer les céphalées, l'huile d'oléastre est devenue très importante pas seulement pour l'alimentation mais aussi une source pharmaceutique et d'énergie (**Chazau-gilling, 1994**).

En dehors de l'alimentation et de l'éclairage, l'huile d'olive sauvage était utilisée dans un large spectre, pendant l'antiquité elle était destinée aux soins du corps, dans la fabrication des baumes, au cinquième siècle on l'utilisera comme remède, Hippocrate la conseillait contre les courbatures, dans le cas d'ulcère ou de choléra, au moyen âge les écoles de médecine en Italie utilisaient l'huile comme solvant médicamenteux (assouplie et réchauffe les blessures), les romains l'utilisaient en particulier pour la lutte et la course (échauffement, protection contre le froid ou le soleil), après les exercices l'athlète est couvert d'une couche de sable, de sueur et d'huile, on gratte par la suite cette couche avec un instrument et elle est ensuite recueillie par le maître de gymnase et ainsi redevenue pour usage médicaux, l'huile est réutilisée dans l'industrie des textiles pour assouplir les tissus de lin, rafraichir les vêtements fripés et graisser les fibres de textiles (**Moreaux, 1999**).

L'huile d'oléastre comme l'huile d'olive possède les mêmes usages thérapeutiques. (**Boukef, 1986**). En effet sa consommation est associée à une incidence limitée des maladies cardiovasculaires, des désordres neurologiques, cancers du sein et du colon, ainsi qu'aux propriétés antioxydantes (**Medeiros, 2001 ; Gimeno et al., 2002**).

De part l'importance de l'huile d'olive, l'industrie d'extraction pose de sérieux problèmes environnementaux. En fait, les effluents d'huileries d'olive ne subissent aucun traitement et sont souvent déversés dans les égouts d'assainissement, stockés dans des bassins d'évaporation ou épandus directement sur le sol. Il en résulte un impact négatif sur l'environnement qui se traduit par le colmatage des sols, la pollution des eaux superficielles et souterraines et le dégagement d'odeurs nauséabondes (**El Hajjouji et al., 2007**). Ces problèmes environnementaux sont attribués à la richesse des effluents en matière organique (**Galli et al., 1997**) et en particulier en polyphénols qui sont responsables d'effets phytotoxiques et antimicrobiens (**Sayadi et al., 2000 ; Zenjari et al., 2006**).

Les effluents d'huileries d'olive présentent une composition plus au moins variable. Ils dépendent de la qualité des olives, de leur degré de maturité, du système d'extraction et de la qualité d'eau rajoutée lors de la phase d'extraction de l'huile. Les effluents sont généralement constitués de : 83.2% d'eau, 15% de substances organiques et de 1.8% de substances minérales (**Fiestas Ros de Ursenos et Borja Padilla, 1992**).

Ces effluents se présentent comme un liquide aqueux, de couleur brun-rougeâtre à noir. Ils ont un pH acide (4.2 à 5.9) (**COI, 1990 ; Levi-Minzi et al., 1992**) et une salinité élevée exprimée en conductivité électrique (18 à 50 ms/cm) due surtout aux ions potassium, chlorure, calcium et magnésium (**Levi-Minzi et al., 1992**).

les margines peuvent être utilisées comme fertilisant, elles apportent 3.5 à 11Kg de K_2O , (0.6-2Kg) de P_2O_5 et (0.15- 0.5Kg) de MgO par m^2 . (**Fiestas Ros de Ursinos, 1982**).

La matière organique des effluents d'huileries d'olive est constituée par des polysaccharides (13-53%), des protéines (8- 16%), des polyphénols (2-15%), des lipides (1-14%), des polyalcools (3-10%) et des acides organiques (3-10%) (**Fiestas Ros de Ursenos et Borja Padilla., 1992**). Cette composition résulte de la dégradation des tissus de l'olive au cours de la trituration et de l'extraction de l'huile (**Cossu et al., 1993 ; Al Mallah et al., 2000; Centi et al., 2000; Chamkha et al., 2001**). Les grignons contiennent peu de produits de nature phénolique sont utilisés pour l'alimentation de bétails (**Cantarelli et Montedero., 1974**).

Le pouvoir antimicrobien des effluents d'huileries d'olive est lié essentiellement à l'action exercée par les phénols monomériques et les pigments bruns ou catécholmélaniqne (**Hamdi et Ellouz., 1993**), ils agissent sur les bactéries en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant les membranes (**Ranalli, 1991**). Ils peuvent inhiber également l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote en inhibant l'activité des enzymes digestives et/ou en précipitant les protéines nutritionnelles (**Hattenschwiler et Vitousek., 2000**).



II. Métabolisme lipidique :

Parmi les composants nutritionnels de base les lipides sont des constituants indispensables à l'organisme étant donné les différentes fonctions qu'ils assurent (Olivier, 2004).

Les lipides sont un groupes hétérogènes de graisses composés principalement de cholestérol (C), de triglycérides (TG), et de phospholipides (PL), insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques, ils ont un rôle central dans le fonctionnement de l'organisme participant à diverses fonctions telle que le maintien de l'intégrité cellulaire, le stockage de l'énergie, à la transmission de la transduction de signaux cellulaires, tout ceci nécessite un transport et une distribution vers les différents organes. (Berezia et Enllan ; Grundy, 1999). Ce transport des lipides est assuré par les lipoprotéines qui participent aussi au transport plasmatique des vitamines liposolubles (A, D, E, k) qui sont échangées via les protéines de transfert telles que la PLTP (phospholipide transfert protéines) pour la vitamine E. Elles participent également au transport de certaines hormones et de diverses molécules comme les lipopolysaccharides. (Stocker, 2004).

Les lipoprotéines sont des structures stables dont la cohésion est assurée sans liaison covalente constituées d'un cœur hydrophobe sphérique de TG et d'ester de cholestérol (CE) entourés par les (PL), le cholestérol libre et les apolipoprotéines (apos). (Alberts et Johnson., 2002 ; Berglund, 2006). (Figure 4). Ce sont également des particules dynamiques en constante évolution grâce aux transferts lipidiques et aux échanges d'apolipoprotéines entre elles. (Duvillard et Pont., 2000),

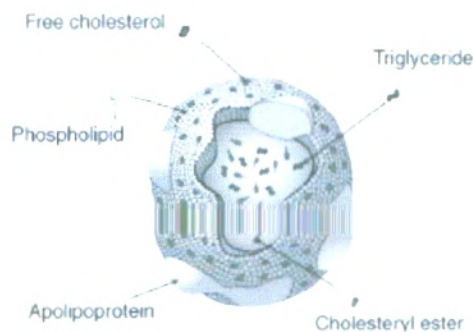


Figure 4. Schéma de la particule de lipoprotéines (Alberts et Johnson., 2002).



Les lipoprotéines circulantes ont été classées selon leurs précipitation différentielle ou leurs profil de mobilité électrophorétique (**Macheboef et Rebeyrotte.,1951**), ensuite selon leurs densité hydratée(**De Lalla et Gofman.,1954**) ,après en fonction de leur taille, de leur densité et de leur comportement électrophorétique (**Mahley et Weisgraber.,1974**) en chylomicrons, lipoprotéines de très faible densité (VLDL), lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), lipoprotéines de faible densité (LDL), lipoprotéines de haute densité (HDL) ;(**Havel et Kane., 1995**), récemment leur classification repose sur la composition en apolipoprotéines .(**Alaupovic, 2003**).

Les apolipoprotéines ont un rôle structural et métabolique, elles constituent les protéines les plus abondantes du plasma, en particulier l'apo A-I et les apoB et sont indispensables à la solubilisation des lipides dans le plasma. (**Babin ,1987**).

De nombreuses apolipoprotéines de taille et de structures variables ont été caractérisées dans le plasma des mammifères.Elles sont classées selon leurs capacité à être échangées d'une lipoprotéine à une autre. On distingue ainsi des apolipoprotéines échangeables (A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III et E) et des apolipoprotéines non échangeables (apo B). (**Balanos-Garcia et Miguel., 2003**).

Les apolipoprotéines exercent trois rôles fondamentaux, elles assurent la cohésion structurale des lipoprotéines grâce à leur organisation en alpha- hélice amphipatique qui leur permet d'interagir à la fois avec les lipides et le milieu plasmatique. C'est le cas d'apo B48, protéine de structure des chylomicrons, apo B100 protéine de structure des VLDL et LDL, apo AI protéine de structure des HDL. (**Segrest et al., 1992**).

Une fonction d'effecteur enzymatique, l'apo CII et CIII contrôlent l'efficacité de la dégradation des triglycérides. L'apo CII est un co-activateur, l'apo CIII est un inhibiteur de la lipoprotéine lipase (LPL) et une fonction de reconnaissance de récepteurs membranaires spécifiques, particulièrement pour l'apoB et l'apoE. (**Mahley et al., 1984**)

L'apo A –VI impliquée dans la stabilisation des lipoprotéines est la seule apolipoprotéine dont la synthèse est stimulée par l'absorption des lipides. (**Tso et al., 2001**).

Cependant, l'organisme peut régler les concentrations de lipoprotéines plasmatiques en augmentant ou diminuant leur taux d'anabolisme et de catabolisme ceci peut se

concevoir en deux courants opposés : le premier conduit le cholestérol des lieux de synthèse (foie, intestin) vers les tissus utilisateurs et le second permet l'élimination du cholestérol par le foie (**Nuoffer, 2005**). (Figure 5 et 6). Ce métabolisme est réglé par des apoprotéines spécifiques, récepteurs, enzymes lipolytiques et des protéines de transfert. (**Alberts et Johnson., 2002 ; Berglund, 2006**).

Le transport des lipides exogènes est assuré par les chylomicrons qui sont des lipoprotéines riches en triglycérides (LRT) de très grande taille. Composés de 95% de triglycérides et de faibles quantités de cholestérol et de phospholipides, et caractérisées par la présence d'apo B48. Les autres LRT sont d'origine hépatique c'est-à-dire des VLDL (very low density lipoproteins) secrétées par le foie à jeun mais aussi pendant la digestion d'un repas. Les VLDL sont de grande taille riches en triglycérides et à un degré moindre en cholestérol et caractérisées par la présence d'apo B100. (**Lopez-Miranda et al., 2007**).

Les VLDL hydrolysées se convertissent en remnants de VLDL qui subissent une hydrolyse de triglycérides supplémentaires et deviennent des IDL (Intermediate-density lipoproteins) constituées principalement d'apo B100 et d'apo E. Les IDL sont converties en LDL constituées principalement d'apo B100 ou récupérées directement par le foie. (**Heeren et al., 2006**).

Les LDL potentiellement hétérogènes transportent le cholestérol endogène ou exogène et les triglycérides de leur lieu de sécrétion vers les tissus périphériques. (**Zambon et al., 2003 ; Despres et Lemieux ., 2006**) (Figure 6).

Les HDL protectrices synthétisées par le foie et l'intestin grêle sont des HDL naissantes sous forme de particules discoïdales constituées principalement en apo A-I et en phospholipides (**Gurr et Hardwood., 1991**) se convertissent en HDL 3 de forme sphérique qui s'enrichissent en esters de cholestérol et deviennent des particules HDL2 ou des HDL matures qui transportent le cholestérol et les acides gras des tissus périphériques au foie pour leur dégradation. Ce transport est appelé transport reverse. (**Rader, 2006**) (Figure 6).

Absorption et transport des lipides exogènes

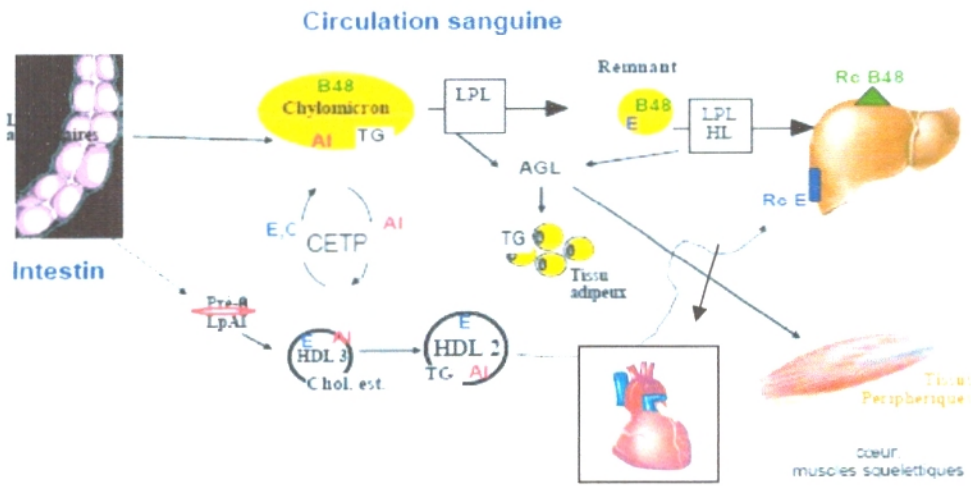


Figure 5. Métabolisme des chylomicrons. (Claude Bendavid, 2010).

Transport des lipides du foie vers les tissus périphériques:
voie endogène d'apport et voie de retour

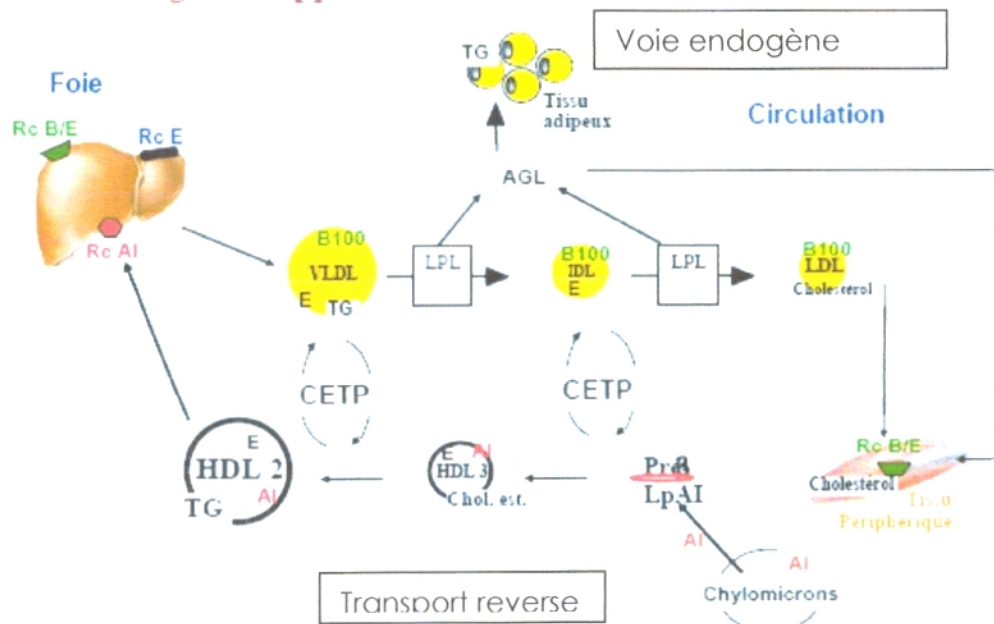


Figure 6. Métabolisme des LDL et HDL. (Claude Bendavid, 2010).

La majeure partie des triglycérides emmagasinés dans le tissu adipeux provient de l'alimentation. Lorsqu'ingérée, les acides gras transportés dans l'intestin grêle par les micelles se complexent à des molécules de glycérol et forment les triglycérides, le cholestérol alimentaire est estérifié avec les acides gras formant le cholestérol estérifié par leur liaison à des protéines de l'intestin grêle ils forment les lipoprotéines. (**Tortora, 2001**).

Composés d'un cœur hydrophobe sphérique de cholestérol estérifié, de triglycérides entourés par l'apo B48, de cholestérol libre et de phospholipides formant les chylomicrons qui rejoignent la lymphe puis la circulation systémique ou ils acquièrent des HDL plasmatiques l'apo CII et l'apo E (Figure 5). Les chylomicrons matures rejoignent ensuite les lits capillaires du tissu adipeux ou muscle cardiaque et squelettique où ils sont hydrolysés en acides gras libres sous l'action de la lipoprotéine lipase(LPL) qui est activée par son cofacteur apo CII, selon la demande énergétique, les acides gras libres seront stockés dans les adipocytes ou transformés en ATP au niveau des cellules musculaires. Les remnants de chylomicrons (CE, apo E et apo B48) sont rapidement internalisés par le foie grâce aux chylomicrons remnants récepteurs.

De cette manière les chylomicrons délivrent les triglycérides alimentaires aux tissus et le cholestérol alimentaire au foie. (**Merkel et al., 2006 ; Lopez-Miranda et Perez-Martinez., 2006**). (Figure5).

La voie exogène (Figure5) active la synthèse des VLDL, IDL et LDL. Les VLDL sécrétés par le foie vers la circulation sanguine où ils acquièrent l'apo C et apo E transportent les triglycérides endogènes aux tissus périphériques (tissu adipeux et cellules musculaires pour le stockage ou la régénération d'énergie). Les TG des VLDL sont hydrolysés par la phospholipase (PL). Ce processus est couplé à la perte d'apo C et à la conversion des VLDL en remnants de VLDL. (**Jin et al., 2002 ; Stein, 2003**).

Les remnants des VLDL subissent une hydrolyse supplémentaire des TG et se convertissent en IDL (dépourvues de triglycérides). Le foie récupère les remnants des VLDL et IDL par les VLDL ou LDL- récepteur (médiateur de l'endocytose), ces interactions exigent la présence d'apo E. (**Tacke et Hofker., 2001 ; Heeren et al., 2006**). (Figure 6)

Les remnants des IDL sont transformés en LDL par l'action de la lipase hépatique(LH)(Figure 06).La majorité des LDL-TG sont hydrolysées et les apos sont transférées aux autres lipoprotéines sauf l'apo B100.Les LDL cholestérol représentent 70% de cholestérol plasmatique leur récupération se produit d'une manière prédominante dans le foie par le LDL récepteur (interaction qui exige la présence d'apo B100).les LDL- cholestérol récupérées par les cellules périphériques sont internalisées dans les lysosomes ou les apos sont dégradées et le cholestérol est libéré dans les cellules.(**Edge et Hoeg.,1985 ;Badellino et Rader.,2004**).

Les LDL peuvent être converties, par l'action de la lipase hépatique en LDL petites et denses possédant des propriétés athérogeniques, qui ont une plus grande capacité d'incorporation à la paroi vasculaire et sont d'avantage susceptibles à l'oxydation (**Zambon et al., 2003 ;Despres et Lemieux.,2006**).

Le métabolisme spécifique du cholestérol s'effectue dans le foie .Le cholestérol des cellules périphériques est transporté au foie et secrété dans la bile via aux HDL c'est ce qu'on appel le transport reverse (Figure 6).Les HDL naissantes sont synthétisées par le foie et l'intestin grêle. Les HDL sont vidées de cholestérol libre et estérifié mais contiennent des phospholipides (principalement la lécithine) et apoA1. Les HDL naissantes acquièrent le cholestérol non estérifié et phospholipides des tissus périphériques via l'action de la membrane ATP binding cassette protein A1(ABCA1).Une protéine plasmatique la lécithine cholestrol acyl transférse (LCAT)convertit le cholestérol libre en cholestérol estérifié, qui est séquestré par la HDL , ainsi les HDL naissantes deviennent des HDL 3. (**Santamarina-Fojo et Gonzalez-Navaro., 2004 ; Zannis et al., 2006**).

Le cholestérol au niveau des HDL est par la suite dégradé selon une voie directe ou indirecte. Par la voie directe les particules de HDL y sont internalisées dans le foie par endocytose après avoir été reconnues par des récepteurs apparentés au R-LDL grâce à leur apo E. (**Rader, 2006**).

Par la voie indirecte les HDL 3 reçoivent les apolipoprotéines après lipolyse des chylomicrons et VLDL. La HDL-cholestérol est transportée aux hépatocytes. Les particules d'HDL3 acquièrent des molécules de triglycérides grâce a l'action de l'enzyme «cholesteryl ester transfert protein»(CETP) qui catalyse le transfert de molécules d'ester de cholestérol des HDL3 aux lipoprotéines riche en apo B100

VLDL et LDL avec un échange réciproque de molécules de triglycérides. (**Inazu et al.,2000 ; Barter et al.,2003**).

Une autre enzyme plasmatique la « phospholipid transfer protein » catalyse le transfert de molécules de phospholipides des VLDL et LDL vers les particules HDL3. L'acquisition de ces molécules de phospholipides, substrat de la LCAT permet l'enrichissement des HDL3 en ester de cholestérol qui deviennent des HDL2 ou HDL mature. (**Rader, 2006**).

Les molécules de cholestérol libre et estérifié contenues dans les particules de HDL matures peuvent être captées sélectivement par le foie par l'intermédiaire de récepteurs tels que les scavenger-receptor BI, qui interagissent avec l'apo AI des particules. (**Rader ,2006**).

I. Matériel végétal

Notre travail expérimental a porté sur l'introduction d'une huile végétale (huile d'olea oléastre ou *Olea Sylvestris*) de la région Nord-ouest d'Algérie «Tlemcen» dans le régime alimentaire à des sujets sains.

L'olivaision de 100Kg d'olive sauvage est faite manuellement pendant 3 jours du mois de Novembre 2009.

L'extraction d'huile est effectuée par un moulin moderne employant le principe de centrifugation continue à trois phases à l'huilerie de Beni Snous.

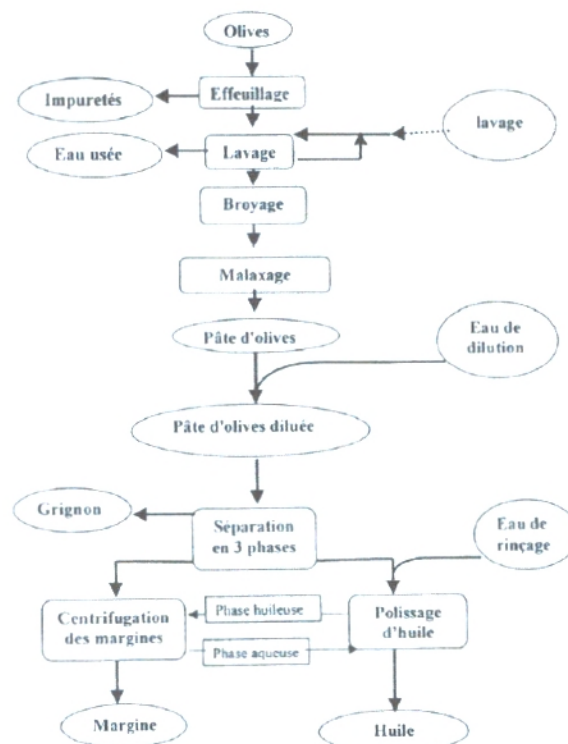


Figure 7. Procédé d'extraction d'huile d'olive à trois phases (Nefzaoui, 1987).

II. Étude physico-chimique de l'huile.

II.1. Détermination des indices physico-chimiques (Lion, 1955).

II.1.1. Indice de densité d_{20} : (Annexe)

Consiste à déterminer le rapport de la masse d'un volume donné d'huile à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température, en utilisant un pycnomètre muni d'un thermomètre gradué et étalonner à 20°C.

II.1.2. Indice de réfraction N_d^t : (Annexe)

L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un réfractomètre à la température ambiante puis ramené à 20°C.

II.1.3. Indice d'acide I_A : (Annexe)

Il consiste à déterminer le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser l'acidité due aux acides gras libres (AGL) contenus dans un gramme de corps gras.

II.1.4. Acidité :

Elle correspond à la teneur en pourcentage d'acide gras (exprimée en acide oléique) présent dans l'huile d'olive et représente un paramètre important dans l'évaluation de sa qualité.

II.1.5. Indice de saponification I_S : (Annexe)

Il consiste à déterminer le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour saponifier un gramme d'ester.

II.1.6. Indice d'iode I_I : (Maestri et al., 1989) (Annexe)

Il consiste à mesurer le nombre de double liaison afin de déterminer le degré d'insaturation de l'huile.

II.1.7. Composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse couplée au Spectre de masse (CPG/SM) (AOCS, Official Method Ce 2-66, 1989) :

Ce dosage a été réalisé à l'UMR A 408 INRA-UAPV, Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale Université d'Avignon et des pays de Vaucluse sous la direction de M le Professeur F. CHEMAT.

- **Principe**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique de séparation des substances chimiques qui repose sur des différences de comportement de séparation entre une phase mobile courante et une phase stationnaire pour séparer les composants d'un mélange. Si les conditions d'équilibre thermodynamique sont remplies de façon idéale, les molécules du

soluté se dispersent de façon gaussienne et leur distribution à la sortie de la colonne peut être figuré par une courbe de Gauss, qui est un pic spécifique à chaque élément à analyser du fait de temps de rétention spécifique dans la colonne en fonction de leur affinité pour celle-ci.

Cette méthode permet donc l'analyse de la composition des lipides en acides gras après estérification et permet la détermination exacte de la composition des lipides par comparaison avec des standards.

- **Mode opératoire**

La méthode d'analyse des acides gras repose sur une réaction de saponification de la fraction lipidique permettant de libérer des esters de glycérol. Les acides gras sont ensuite substitués par un groupement méthyle (-CH₃), ce qui les rends plus volatils.

- *Préparation des méthyl-esters des acides gras**

150 mg d'échantillon sont mélangés avec 5 mL du réactif BF₃-méthanol (125 g de BF₃ dans 1 L de méthanol), le mélange est agité pendant 2 min. on agite encore 1 min après avoir ajouté 3 mL d'heptane et 15 s vigoureusement après avoir ajouté 15 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium (NaCl). A la fin, une quantité suffisante de NaCl saturé est additionnée afin que la solution d'heptane contenant les méthyl-esters des acides gras vient flotter à la surface, et facilitera par la suite pour transférer 1 mL de solution obtenue dans un tube avec une petite quantité de sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄). Maintenant cette solution est prête pour être injecté directement dans le chromatographe.

- *Analyse par la CPG/SM**

Les esters méthyliques, récupérés dans l'heptane, sont ensuite séparés, identifiés par CPG/SM. Les échantillons ont tout d'abord étaient filtrés (filtre de cellulose de 0.2 µm) ensuite quantifiés par un système constitué d'un chromatographe en phase gazeuse modèle Shimadzu QP2010 (Kyoto, Japan) équipé d'une colonne capillaire (30 m (longueur) x 0,32 mm (diamètre externe) x 0,5 µm (diamètre interne), CP-WAX) couplé à un détecteur de type spectromètre de masse, fonctionnant en mode impact électronique (IE) à 70 eV. La température de la colonne est programmée de 80 à 200°C et celle de l'injecteur est de 250°C. Le gaz vecteur étant de l'hélium avec un débit 47 cm/s. La température du four a augmenté de 60°C (1 min) à 180°C à raison de 20°C/min, puis de 180°C à 230°C à un débit de 4°C/min jusqu'à une température de 230°C pour y rester 15 min ; injection : 2 µL mode split (1 :15). Les différents acides gras ont été identifiés par l'intégration des chromatogrammes obtenus à *NIST'98 (US National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD, USA) mass spectral database*. Chaque expérimentation est répétée trois fois et les résultats sont exprimés sous forme de moyenne.

II. 2. Dosage des polyphénols totaux :(Annexe)

La méthode appliquée pour extraire les composés phénoliques est celle de l'extraction liquide- liquide selon **Pirisi et al. (2000)**. Le principe est basé sur la solubilisation d'huile d'oléaster dans une solution du n-hexane et du méthanol, et la séparation par centrifugation.

L'extraction des polyphénols totaux à partir de l'huile d'*Olea oléastre* est suivie par un dosage spectrophotométrique en utilisant la méthode de **Singleton et Rossi (1965)** reportée par **Dogyan et al. (2005)**. La réaction est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique du réactif *Folin-Ciocalteu* (un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles acides contenant du molybdène et tungstène) par les polyphénols en milieu alcalin. Elle se traduit par le développement d'une coloration bleu foncée due à la formation d'un complexe molybdène tungstène mesuré au spectrophotomètre.

III. Population étudiée.

L'étude est réalisée sur 28 volontaires sains, (14hommes et 14 femmes), dont les âges étaient compris entre 20 et 40 ans, tous les participants ont été choisis aléatoirement, non fumeurs, exemptes de toutes maladies métaboliques (hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie, diabète, hypertension). Ils ont le même comportement physique, et suivent le même style de vie. Parmi ces volontaires, 14personnes (femmes et hommes) consommaient en moyenne 23g de l'huile d'olive sauvage (l'ingestion de trois cuillères à soupe) par jour dans leur régime alimentaire pendant un mois (groupe de consommateurs), et 14 personnes(femmes et hommes) ne l'ont jamais consommé (groupe de non consommateurs). Le choix de cette dose suit les travaux cités dans la Federal Drug Administration de USA en 2004.

Quelques caractéristiques de ces sujets sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau 01.Caractéristiques de la population étudiée.

	Non Consommateurs (7hommes et 7 femmes)	consommateurs (7hommes et 7 femmes)
Nombre	14	14
Age (ans)	29.66±2.95	30.16± 2.43
IMC (kg/m²)	22.65±0.78	22,68 ± 0,49
Glycémie (mg/dl)	84± 1.9	85± 3
TAS (mmHg)	120.8± 4.7	118.8± 4.15
TAD (mmHg)	76 ± 2.89	79.4± 2.4

Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard (ES).

IMC: Index de Masse Corporelle = poids / taille².

TAS : Tension artérielle systolique (mmHg).

TAD: Tension artérielle diastolique (mmHg).

IV. Enquête nutritionnelle.

Tous les participants complètent un questionnaire qui comporte des notions sur le comportement alimentaire, dans lequel ils ont noté la qualité et la quantité des aliments consommés pendant le jour, avant le prélèvement sanguin, incluant spécifiquement la prise de notre huile d'olive sauvage (pour le groupe consommateurs). Cette enquête est réalisée par la technique du rappel des 24 heures.

L'utilisation d'un logiciel intégrant la composition des aliments consommés (REGAL PLUS) permettra de connaître:

- L'apport énergétique quotidien ;
- La consommation journalière globale de protéines, de lipides et de glucides et leur répartition en glucides lents et rapides ;
- La répartition des acides gras saturés, mono insaturés, poly insaturés, et la détermination du rapport des acides gras insaturés / saturés ;
- L'apport en vitamines liposolubles et hydrosolubles ;
- La consommation de fibres alimentaires et de minéraux.

V. Etude biochimique.

V.1. Prélèvements sanguins.

A j0, j15 et j30, les prélèvements sanguins sont effectués par ponction veineuse au pli du coude chez tous les sujets à jeûn. Une quantité de sang prélevé est récupérée dans des tubes héparinés et l'autre partie est recueillie dans des tubes secs.

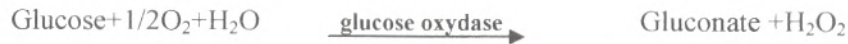
Les échantillons prélevés sur des tubes héparinés sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Le plasma est prélevé pour le dosage des paramètres plasmatiques (glycémie, lipides et protéines) et la vitamine C.

Les échantillons prélevés sur les tubes secs ont servi pour le dosage des lipoprotéines (LDL et HDL- Cholestérol).

V.2. Détermination de la glycémie :(kits BioSystems) :(Annexe)

Le glucose présent dans l'échantillon donne, selon les réactions couplées un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. (Kits Biosystems).

Le dosage de la glycémie s'effectue selon les réactions suivantes :

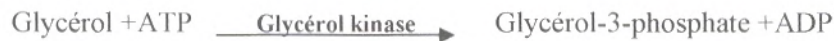


La concentration en quinoneimine colorée est proportionnelle à la quantité de glucose contenue dans l'échantillon. la lecture de l'absorbance s'effectue à une longueur d'onde $\lambda=500\text{nm}$. Le taux de glucose est exprimé en g/l.

V.3. Détermination des teneurs en triglycérides : (Annexe).

Les triglycérides sont dosés par méthode spectrophotométrique entièrement enzymatique (Kits BioSystems) sur le plasma et les différentes fractions de lipoprotéines.

Grâce à l'action de la lipase spécialisée, la lipoprotéine lipase, les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acides gras libres. Le glycérol est en suite transformé selon les réactions décrites ci-dessous :



La concentration en quinoneimine colorée est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides.

La lecture de l'absorbance s'effectue à une longueur d'onde $\lambda=500\text{nm}$. Le taux de triglycérides est exprimé en g/l.

V.4. Détermination des teneurs en cholestérol total : (Annexe).

Le cholestérol total est dosé par méthode enzymatique;(Kits Biosystems), sur le plasma et les différentes fractions lipoprotéiques. Les esters du cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol ester hydrolase en cholestérol et acides gras. Le cholestérol libre produit et celui préexistant sont oxydés par un cholestérol oxydase en cholesténone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase, oxyde la chormogène (Amino 4 phynazone/phénol) en un composé coloré en rouge.

La révélation du Cholestérol total s'effectue selon les réactions suivantes:



La concentration en quinonéimine colorée est proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon. la lecture de la densité optique s'effectue à une longueur d'onde $\lambda=500\text{nm}$. Le taux de cholestérol est exprimé en g/l.

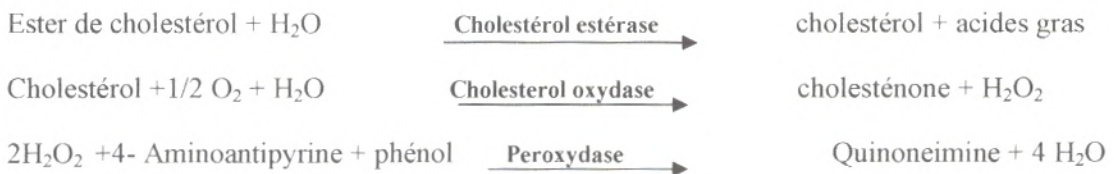
V.5. Détermination des teneurs en lipoprotéines sériques :

1. Après précipitation des (VLDL et LDL) par le réactif précipitant (Dextran + ions magnésium) on dose le cholestérol -HDL du surnageant par méthode enzymatique (kits Biosystems).

Precipitat : 200 μl de sérum + 20 μl de réactif HDL precipitat. (15 minutes d'incubation).

Centrifugation de precipitat 4000 tr/15 min.

Dosage de cholestérol- HDL du surnageant par la même méthode enzymatique du dosage de cholestérol total (kits Biosystems).



La concentration en quinonéimine colorée est proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon. la lecture de la densité optique s'effectue à une longueur d'onde $\lambda=500\text{nm}$.

2. La détermination de cholestérol-LDL s'effectue par le calcul proposé par (Friedewald et al., 1972) selon l'équation suivante :

$$\text{Cholesterol LDL} = \text{cholesterol T} - (\text{cholesterol HDL} + \text{TG}/5) \text{ g/l.}$$

V.6. Détermination des teneurs en cholestérol libre :(Annexe)

Le cholestérol libre est dosé directement par la méthode de Girard et Assous (1962), on utilise la réaction au chlorure ferrique, applicable sans déprotéinisation ni extraction. En opérant sur du plasma en présence d'acide acétique, dans une solution de chlorure ferrique et d'acide sulfurique dilué par l'acide acétique, le cholestérol libre développe à 20°C une coloration rouge violacée. A cette température, les esters de cholestérol n'interviennent pas.

V.7. Détermination des teneurs en protéines totales : (Annexe)

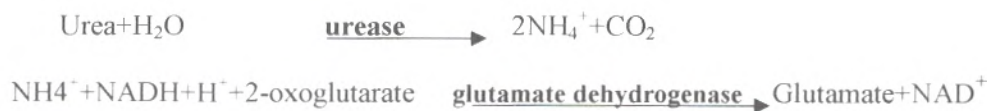
Les protéines totales sont dosées sur le plasma, par la méthode de Biuret. (kits Biosystems).

En milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu^{2+} et les groupements thyrosine et tryptophane des protéines, est réduit par le réactif de Folin. Il se développe un complexe coloré bleu quantifiable par spectrophotométrie et proportionnel à la quantité des protéines de l'échantillon ; celle-ci résulte à la fois de la réaction de Cu^{2+} sur les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phosphotungsto-molybdique pour la thyrosine, le tryptophane et la cystéine. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 650 \text{ nm}$.

V.8. Détermination des teneurs en urée : (Annexe)

L'urée plasmatique est quantifiée par spectrophotométrie (Kits Biosystems).

L'urée présente dans le plasma consomme du NADH, selon les réactions couplées décrites ci-dessous :



La mesure de l'absorbance à 340 nm s'effectue en deux temps après 30 secondes de l'insertion de la cuve dans le photomètre (A1) ensuite à 90 secondes (A2).

La concentration en urée plasmatique est exprimée en mg/dl.

V.9. Dosage de la vitamine C : (Annexe)

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de **Jacota et Dani (1982)** utilisant le réactif de Folin et une gamme étalon d'acide ascorbique.

Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (TCA) et centrifugation, le surnageant est incubé en présence du réactif de coloration folin ciocalteau dilué. La vitamine C présente dans le plasma réduit le réactif de folin donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C à une longueur d'onde de 769 nm présente dans l'échantillon. La concentration est déterminée à partir de courbe étalon obtenu grâce à une solution d'acide ascorbique.

VI. Traitement statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes plus ou moins l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre les consommateurs et les non consommateurs est réalisée par le teste « t » de Student, après analyse de la variance. Tous les calculs sont réalisés à l'aide d'un programme statistique informatisé (logiciel STATISTICA).

I. Analyses physico-chimiques de l'huile

I.1. Les valeurs des indices physico-chimiques de l'huile d'olea oléastre : (Tableau 2)

Les résultats de la détermination des indices de densité, de réfraction, d'acide, acidité, de saponification et d'iode de l'huile d'olea oléastre donnent des valeurs estimées respectivement à 0,926 ; 1,4663 ; 4,84 ; 2.42 ; 182, 914, 94.53%.

I.2. Les valeurs moyennes des acides gras de l'huile d'olea oléastre (Tableau3)

La composition centésimale des esters méthyliques des acides gras analysés par CPG/SM, montre que l'acide oléique représente 74,38% de l'huile d'olive sauvage. C'est l'acide gras majoritaire, il est mono insaturé et de type oméga 9. Le second acide gras rencontré dans l'huile d'olea oléastre est l'acide palmitique dont le nom systématique est l'Acide hexadécanoïque; il est présent à 9,55%. C'est un acide gras saturé courant chez les animaux et les plantes le premier acide produit au cours de la lipogenèse c'est un excellent aliment énergétique mais sa consommation augmenterait le risque de maladie cardiovasculaire. Le troisième acide gras rencontré dans l'huile d'olea oléastre est l'acide linoléique présent à une hauteur de 8,70%. C'est un acide gras poly insaturé et de type oméga-6. Ces trois acides gras composent donc à eux seuls plus de 90% des acides gras de l'huile d'oléastre. Parmi les acides gras minoritaires, l'acide stéarique est de 2,69%, c'est un acide gras saturé et l'acide vaccénique qui est un acide polyinsaturé trans avec une proportion de 2,53%, c'est le produit intermédiaire qui se forme lors de la transformation des acides gras insaturés en acides gras saturés.

Tableau 2. Les valeurs des indices physico-chimiques de l'huile d'Olea oléastre.

Indices physicochimiques	Valeurs
Densité relative à 20°C	0,926
Indice de réfraction	1,4663
Indice d'acide	4,84
acidité	2.42%
Indice de saponification	182,914
Indice d'iode	94.53%

Tableau 3. Les valeurs moyennes des acides gras de l'huile d'Olea oléastre.

Acides gras	Teneurs en % d'huile
Acide palmitique C _{16:0}	9,55±0,46
Acide palmitoléique C _{16:1n-7}	0,71 ± 0,03
Acide stéarique C _{18:0}	2,69 ± 0,19
Acide oléique C _{18:1n-9}	74,38 ± 0,62
Acide vaccénique C _{18:1n-7}	2,53 ± 0,14
Acide linoléique C _{18:2n-6}	8,70 ± 0,08
Acide α-linolénique C _{18:3n-3}	0,85 ± 0,02
Acide arachidique C _{20:0}	0,28 ± 0,03
Acide gondoïque C _{20:1n-9}	0,27 ± 0,03
Acide oléique/acide linoléique	8.55

- La teneur en polyphénols totaux de l'huile d'olea europaea oléastre est de 420mg/kg.

II. Etude nutritionnelle :

II.1. Consommation journalière moyenne des nutriments (Tableau 4) :

L'estimation de la ration alimentaire chez les consommateurs et les non consommateurs d'huile d'oléastre, est réalisée grâce aux enquêtes nutritionnelles basées sur le rappel de 24 heures.

L'apport énergétique total représente la moyenne quotidienne d'apport énergétique par rapport à un mois d'expérimentation, exprimé en Kcal/jour ; cet apport est isocalorique contenant une forte proportion en lipides d'origine végétale (huile de tournesol) et poissons tout au long de l'étude chez tous les participants. Aucune différence significative n'est notée pour l'apport en protéines, en glucides totaux, et en fibre, exprimés en gramme, entre les deux groupes.

On remarque une différence significative dans l'apport des glucides complexes chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux témoins.

On note une différence hautement significative de lipides totaux chez les consommateurs par opposition aux témoins.

L'apport en acides gras saturés(AGS) et poly insaturés(AGPI) est similaire pour les deux groupes, par contre on note une augmentation significative en acides gras mono insaturés(AGMI) chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux témoins.

II.2. Apport journalier en micronutriments (Tableau 5):

La quantité de micronutriments ingérée durant le mois d'expérimentation présente des différences hautement significatives en (Sodium, Phosphore et Potassium) chez les consommateurs d'huile d'oléastre en l'occurrence aux témoins. L'huile d'oléastre a conféré une légère augmentation de la vitamine E (α -tocophérol) mais ne présentant aucune différence significative.

Tableau 4. Consommation journalière moyenne des macronutriments chez les non consommateurs et les consommateurs d'huile d'*Olea europaea* oléastre.

Nutriments	Non consommateurs	consommateurs
Energie (k cal)	2178.83±123.45	2433.1±84,78***
Protéines totales (g)	77.875 ± 1.68	75,875±0.89
Glucides totaux (g)	171.475 ± 3.91	174.875±3.25
Sucres simples (g)	84.525 ± 2.70	76,7 ±2.61
Sucres complexes (g)	86.95 ± 5.36	98,175±5.53***
Fibres (g)	11.825 ± 0.4	16±0.7
Lipides totaux (g)	131.27 ± 5.24	158,9 ±3.65***
AGS(g)	29.59 ± 0.984	34,175 ± 0,88
AGMI(g)	36.37 ± 1.69	57,5± 1.39***
AGPI(g)	65.31 ± 3.82	67,225 ± 2.62
Cholestérol (mg)	249 ± 30.80	252,5±26.30

- Chaque valeur représente la moyenne ±ES.
- La comparaison des moyennes entre les consommateurs et les non consommateurs est effectuée par le test«t»de Student.
- ***p<0.001 différence hautement significative en énergie, sucres complexes, lipides totaux et acides gras monoinsaturés entre les consommateurs et les non consommateurs d'huile d'oléastre.

Tableau 5. Consommation journalière moyenne des micronutriments chez les non consommateurs et les consommateurs d'huile d'*Olea europaea* oléastre.

Micronutriments	Non consommateurs	consommateurs
Vitamine E (mg)	20.36 ± 4.67	22,66 ± 3,45
Vitamine C (mg)	104.41 ± 16.39	113.89 ± 17.81
Vitamine A (µg)	258.29 ± 28.55	308 ± 35.72
β-Carotène (µg)	1609.54 ± 225.04	1824.62 ± 245.37
Sodium (mg)	1779.66 ± 60.10	1371,425±34.21***
Magnésium (mg)	488.33 ± 18.09	564,6 ± 17.36
Phosphore (mg)	1158.45 ± 28.69	1308,425±12.52***
Potassium (mg)	5254 ± 192.79	5576,15±89.74***
Calcium (mg)	753.96 ± 57.13	678.21 ± 74.25
Fer (mg)	10.26 ± 0.25	15 ± 0.32

- Chaque valeur représente la moyenne ±ES.
- La comparaison des moyennes entre les consommateurs et non consommateurs est effectuée par le test«t» de Student.
- ***p<0.001 différence hautement significative en micronutriments chez les deux groupes de participants.

On remarque que le régime est riche en lipides chez les deux groupes de participants. La proportion moyenne en protéines et glucides ingérés durant le mois d'expérimentation pour les deux groupes de volontaires n'est pas significative, en outre il ya une différence significative dans l'apport lipidique chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux témoins. (Figure 8a, b).

Les proportions en glucides simples chez les deux groupes ne sont pas significatives par contre il ya une différence significative en apport des glucides complexes chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux témoins. (Figure 9).

L'élévation du taux des lipides est proportionnelle à la richesse de l'huile d'oléastre en acide oléique, cette élévation en acide gras monoinsaturé est significative chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux témoins.

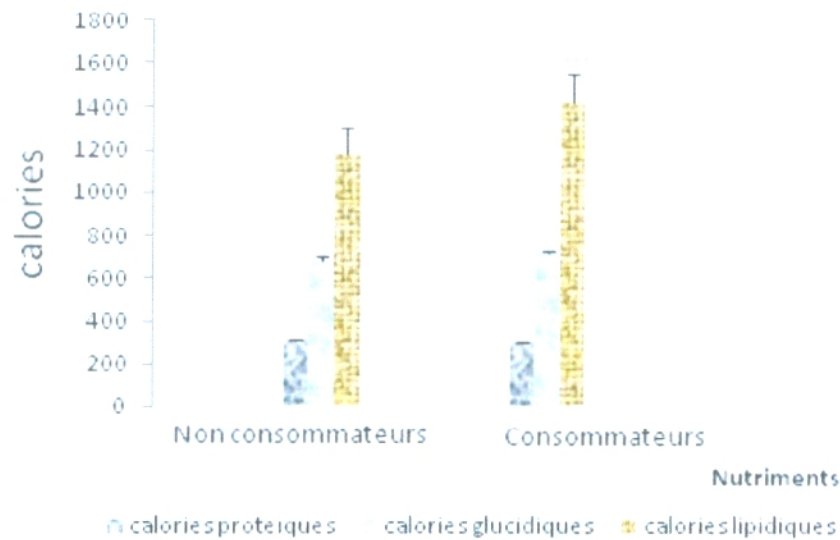


Figure 8a. Histogramme représentant la répartition des macronutriments consommés chez les deux groupes de volontaires.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.
- ❖ La comparaison des moyennes entre les consommateurs et les non consommateurs d'huile d'oléastre est effectuée par le test «t» de Student.
- ❖ *** $p < 0.001$ différence hautement significative en lipides totaux entre les non consommateurs et les consommateurs d'huile d'oléastre.

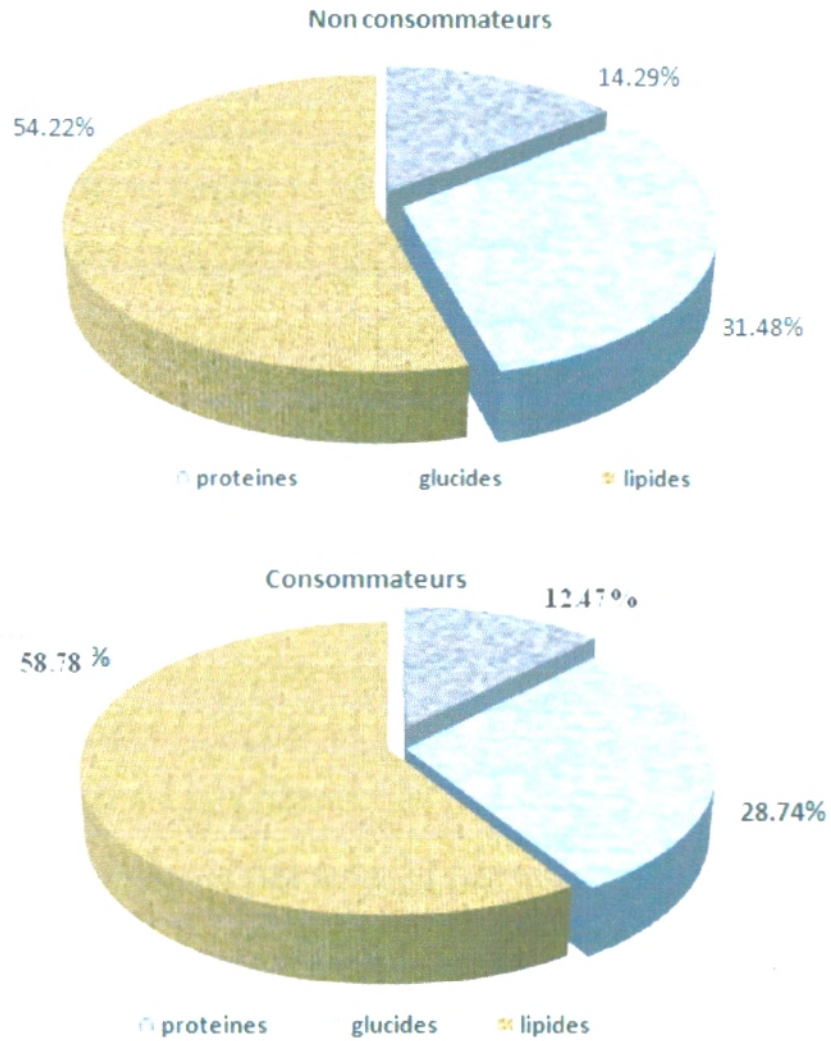


Figure 8b. Secteurs représentant les proportions des macronutriments consommés chez les deux groupes de volontaires.

- ❖ Chaque valeur représente le pourcentage
- ❖ *** $p < 0.001$ différence hautement significative en lipides totaux chez les non consommateurs versus les consommateurs d'huile d'oléastre.

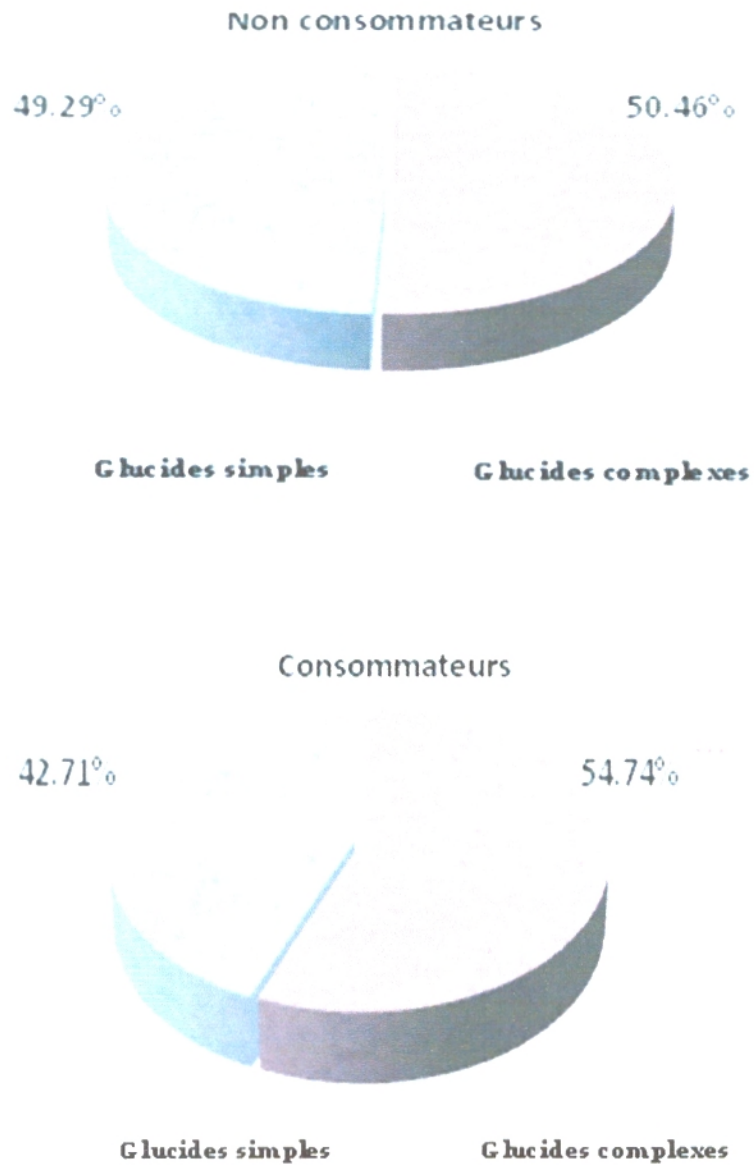


Figure 9. Secteurs représentant les proportions des glucides simples et composés consommés chez les volontaires.

- ❖ Chaque valeur représente le pourcentage.
- ❖ *** $p < 0.001$ différence hautement significative en glucides complexes des consommateurs d'huile d'oléastre versus non consommateurs.

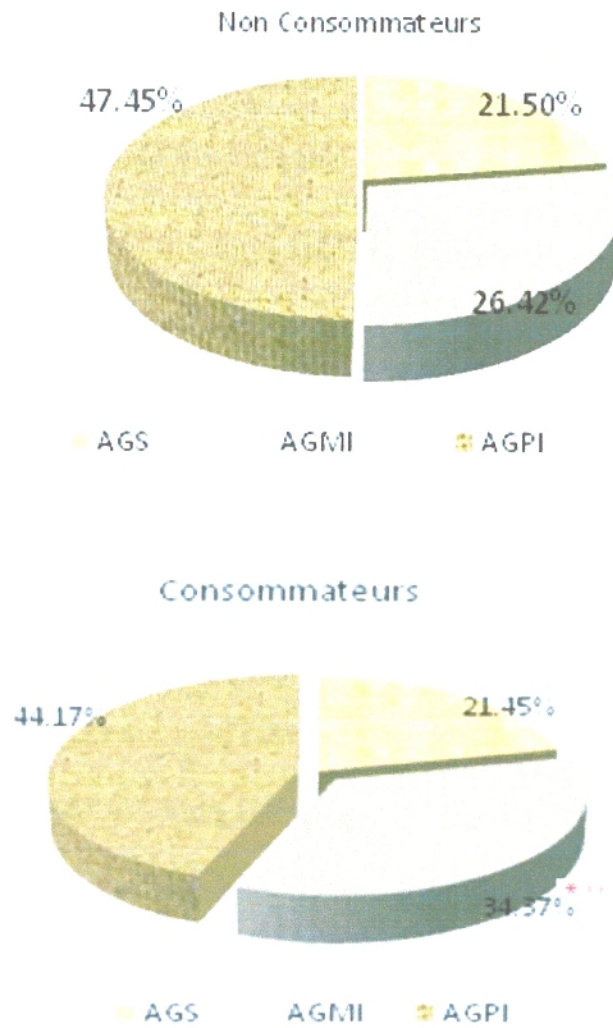


Figure 10. Secteurs représentant les proportions des acides gras saturés, mono insaturés, polyinsaturés dans la ration lipidique consommée chez les volontaires.

- ❖ Chaque valeur représente le pourcentage.
- ❖ *** $p < 0.001$ différence hautement significative en AGMI des consommateurs d'huile d'oléastre versus non consommateurs.

III. Etude biochimique.

III.1. Détermination des paramètres glucidiques, lipidiques et protéiques au niveau du plasma et des lipoprotéines.

Les teneurs en glycémie au niveau plasmatique ne présentent aucune différence significative durant l'expérimentation, mais en l'occurrence aux consommateurs à J_0 l'huile d'oléastre a suscité une diminution du taux de glucose sanguin de 1.45% à J_{15} et de 1.79% à J_{30} . Par rapport aux témoins on note une diminution à J_{15} et à J_{30} de la glycémie proportionnelles à 14% et 14.3% respectivement.

Les teneurs en triglycérides au niveau plasmatique chez les consommateurs d'huile d'oléastre diminuent de 13.28% à J_{15} et de 20.85% à J_{30} par rapport à J_0 mais ne présentant aucune différence significative.

Les teneurs en cholestérol total plasmatique ont régressé significativement de 7,17% à J_{15} chez les consommateurs d'huile d'oléastre par opposition à J_0 .

Les teneurs en cholestérol libre différent significativement chez les consommateurs à J_{15} par rapport aux témoins et aux consommateurs à J_0 , cependant l'huile d'oléastre a entraîné l'abaissement de la proportion du taux de cholestérol libre de 10.38% à J_{15} et de 13.63% à J_{30} .

Les teneurs en cholestérol estérifié ont diminué significativement de 12.57% à J_{15} pour les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport à J_0 , parallèlement chez les consommateurs d'huile d'oléastre on a noté une diminution du taux de cholestérol estérifié à J_{30} qui est de 17.20% mais ne présente aucune différence significative entre les témoins et les consommateurs d'huile d'oléastre à J_0 et à J_{15} .

Le contenu des différentes fractions de lipoprotéines en cholestérol total varie comme suit :

On remarque une différence en cholestérol -LDL entre les témoins et les consommateurs d'huile d'oléastre à J_0 et à J_{15} proportionnelles à 24.76%,33.46% respectivement.

On note une diminution significative de cholestérol -LDL chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux consommateurs à J₀ qui est proportionnelle à 11,55% à J₁₅ et une diminution hautement significative de 22,44% à J₃₀.

Par ailleurs on note une élévation significative du taux de cholestérol- HDL chez les témoins par rapport aux consommateurs à J₀ qui est de 29.09% et une augmentation significative à J₃₀ de cholestérol -HDL proportionnelle à 12.72% chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux consommateurs à J₀.

Les teneurs en protéines totales plasmatiques chez les consommateurs d'huile d'oléastre diminuent de 2.59% à J₁₅ et de 4.82% à J₃₀ par rapport à J₀ et de 10.46% à J₁₅ et de 12.5% à J₃₀ par rapport aux témoins mais ne présentent aucune différence significative.

Les teneurs en urée plasmatiques diminuent de manière non significative pour les consommateurs d'huile d'oléastre de 6.02% à J₁₅ et de 13.35% à J₃₀.

Les teneurs en vitamines C plasmatiques augmentent de 6.5 % à J₁₅ et de 12.4% à J₃₀ chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

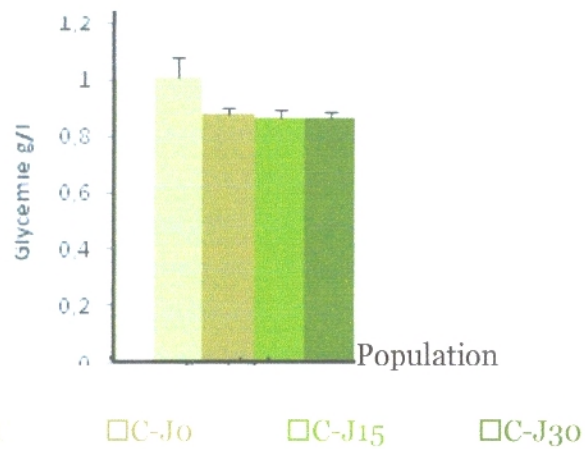


Figure 11. Teneurs plasmatiques en glycémie chez les consommateurs d'huile d'Olea europaea oléastre et les témoins.

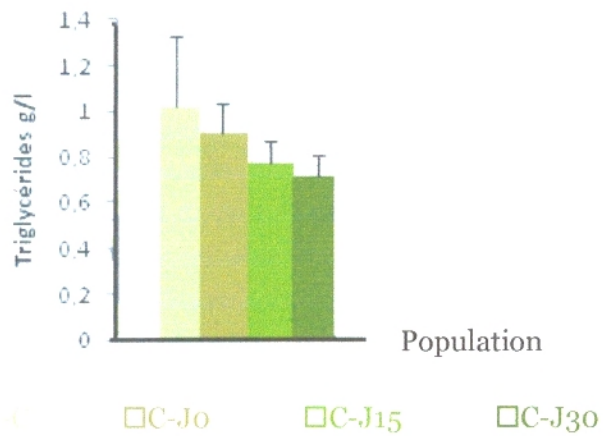


Figure 12. Teneurs en Triglycérides plasmatiques chez les consommateurs d'huile d'Olea europaea oléastre et les témoins.

- Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.
- La comparaison des moyennes entre les consommateurs et non consommateurs est effectuée par le test «t» de Student.

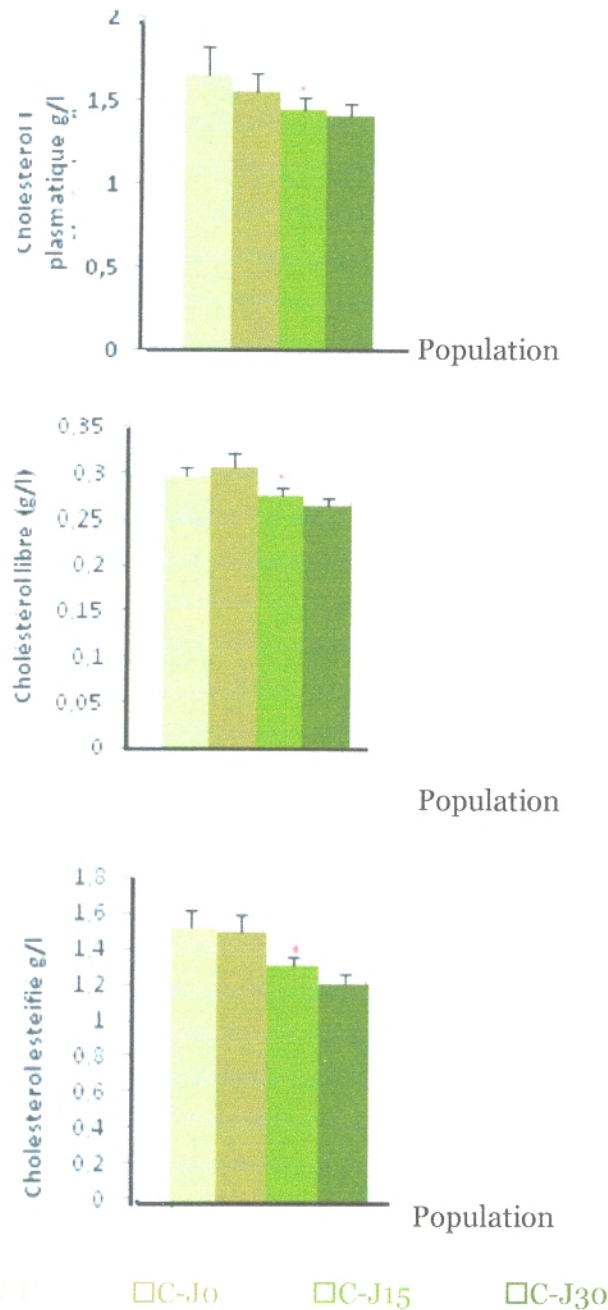


Figure 13. Teneurs plasmatiques en cholestérol total, en cholestérol libre et en esters de cholestérol chez les consommateurs d'huile d'*Olea europaea* Oléastre et les témoins.

- Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.
- La comparaison des moyennes entre les consommateurs et non consommateurs est effectuée par le test «t» de Student.
- *(P<0.05) Différence significative en cholestérol total et en cholestérol libre entre les consommateurs à J₁₅ et non consommateurs d'huile d'oléastre à J₀.
- *(P<0.005) Différence significative en cholestérol estérifié entre les consommateurs à J₁₅ et non consommateurs d'huile d'oléastre à J₀.

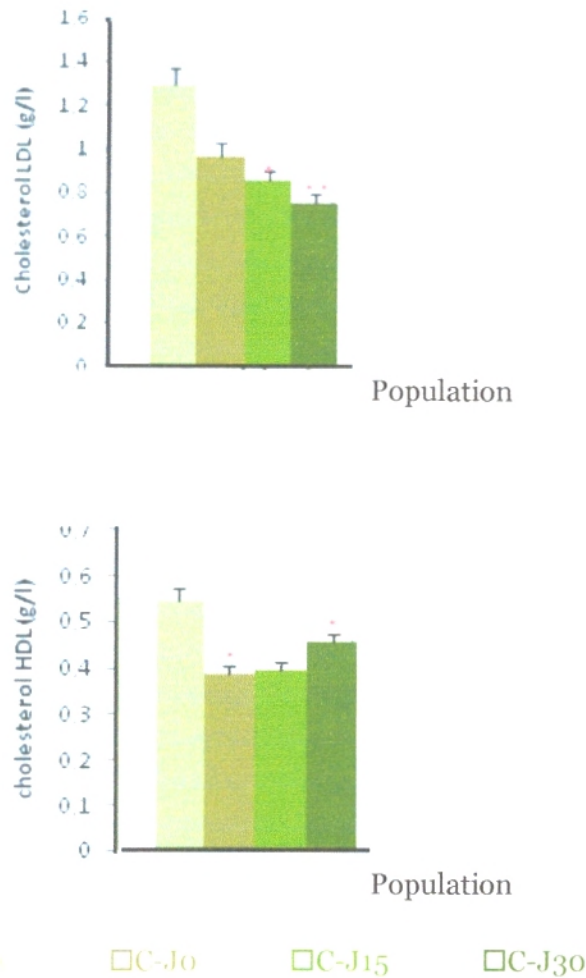


Figure14. Teneurs en cholestérol total au niveau des différentes fractions des lipoprotéines chez les consommateurs d'huile d'*Olea europaea oléastre* et les témoins.

- Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.
- La comparaison des moyennes entre les consommateurs et non consommateurs est effectuée par le test «t» de Student.
- *($P < 0.005$) Différence significative en cholestérol-LDL entre les consommateurs d'huile d'oléastre à J₁₅ et J₀.
- ** ($P < 0.001$) Différence hautement significative en cholestérol-LDL entre les consommateurs à J₃₀ et J₀ et aux non consommateurs d'huile d'oléastre.
- *($P < 0.05$) Différence significative en cholestérol-HDL entre les consommateurs à J₀ et non consommateurs d'huile d'oléastre.
- *($P < 0.05$) Différence significative en cholestérol-HDL entre les consommateurs à J₃₀ et les consommateurs d'huile d'oléastre à J₀.

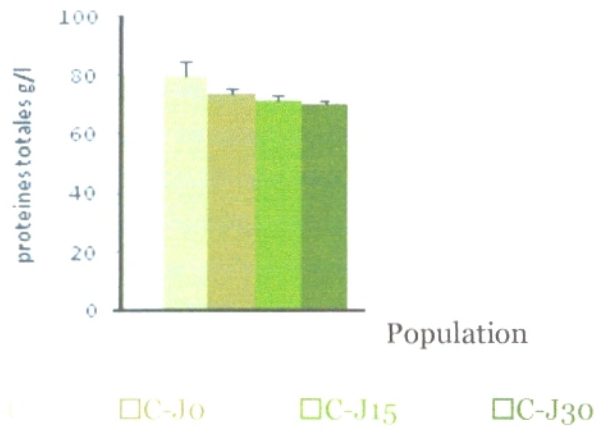


Figure15. Teneurs plasmatiques en Protéines totales chez les consommateurs d'huile d'*Olea europaea* oléastre et les témoins.

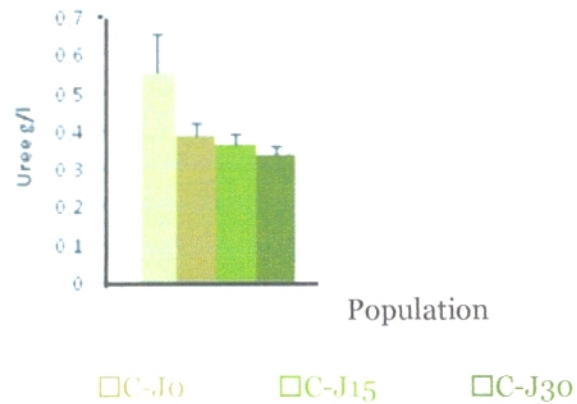


Figure16. Teneurs plasmatiques en urée chez les consommateurs d'huile d'*Olea europaea* oléastre et les témoins.

- Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.
- La comparaison des moyennes entre les consommateurs et non consommateurs est effectuée par le test «t» de Student.

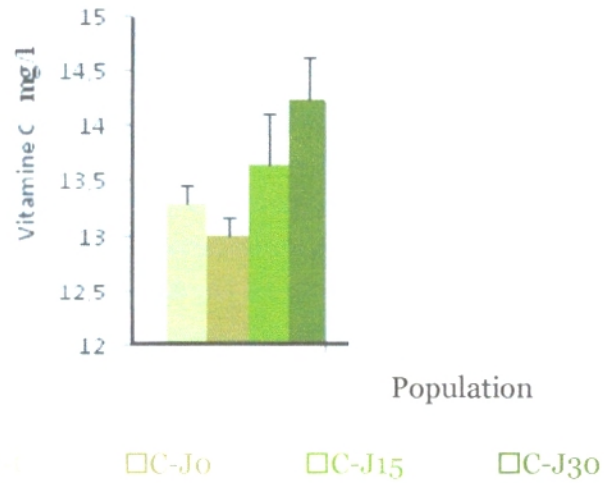


Figure17: Teneurs plasmatiques en Vitamine C chez les consommateurs d'huile d'Olea europea oléastre et les témoins.

- Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.
- La comparaison des moyennes entre les consommateurs et non consommateurs est effectuée par le test «t» de Student.

L'huile d'olive est la principale source de lipide dans l'alimentation méditerranéenne via ses caractéristiques qualitatives «arome, gout, couleur et propriétés nutritives» par rapport aux autres huiles végétales. (**Gutiérrez et al., 1999**).

Cependant, la valeur nutritionnelle de l'huile d'olive réside dans la présence de teneurs élevées en acide oléique et des composés mineurs tels que les composés phénoliques. (**Kiritsakis, 1998 ; Angerosa, 2002**).

La qualité d'huile d'olive est influencée par une combinaison de facteurs «variété, méthodes de récolte et processus d'extraction». (**Pinatel et al., 2004 ; Tsimidou et al., 2005**). Le climat exerce une grande influence sur la maturation du fruit donc sur la composition chimique et sur la qualité de l'huile (**Ryan et al., 1998**).

De ce fait, l'analyse de l'ensemble des caractéristiques physiques, chimiques et sensorielles, permet de la qualifier et de la classer en différentes catégories conformément aux définitions de la norme commerciale adoptée par le conseil oléicole international COI (**1994**).

L'indice de densité est considéré comme un critère physique qui permet le contrôle de la pureté de l'huile extraite. La valeur de l'indice de densité de l'huile d'oléastre est estimée à 0.926 diverge avec celui de l'indice de densité de l'huile d'olive qui est de 0.901- 0.911. (**Ollé, 2002**) mais se rapproche avec l'huile de coton et l'huile de pépins de raisin dont les valeurs sont estimées respectivement entre (0.918-0.926) et (0.923-0.926). (**UICPA, 1995**).

L'indice de réfraction est très influencé par l'oxydation et l'acidité. (**Wolff, 1968**). Il dépend de la composition chimique de l'huile et de la température (**Karleskind, 1992**). Le résultat de la détermination de l'indice de réfraction (indice physique) de l'huile d'oléastre donne une valeur de 1.4663. Ce résultat est supérieur pas à celui de l'huile d'olea cuspidata (olivier sauvage d'Asie) dont la valeur se situe entre (1.331-1.372). (**Kiritsakis et Markakis., 1984**).

L'indice de réfraction qui est également un critère important de pureté de l'huile est proportionnel au poids moléculaire des acides gras. Il augmente de façon intéressante selon le degré d'insaturation des lipides et il peut nous donner une idée sur la prédominance d'un tel acide gras insaturé dans l'huile (**ollé, 2002**). Selon l'indice de

réfraction on peut déduire que l'huile d'olive sauvage est de type oléique, et converge beaucoup plus avec l'huile de gland de chêne vert qui est de 1.466-1.468

(Belarbi,2003) ainsi qu'avec l'huile de coton qui est de 1.466.(UICPA,1995), l'huile d'olive et l'huile d'arachide dont les valeurs se situent respectivement entre (1.4677-1.4705), (1.468-1.472) (Linden et Lorient,1994).

Les corps gras sont des composés altérables, la présence d'eau peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse (ollé, 2002).La connaissance d'indice d'acide d'un corps gras est considérée comme un bon moyen pour déterminer son degré d'altération. Il s'agit d'un critère chimique de fraîcheur et de pureté de l'huile.

La teneur en acide gras libre ou l'indice d'acide est un indicateur de l'activité de la lipase ainsi que de la qualité du fruit, du temps de stockage et de la stabilité de l'huile (Ryan et al., 1998).

L'évaluation de l'indice d'acide de l'huile d'oléastre a donné une valeur estimée à 4.84 mg de KOH/g d'huile et une acidité de 2.42%. Nos résultats corroborent avec les normes de CODEX STAN (1989), qui limite l'indice d'acide entre (2.2 - 7.26mg de KOH/g d'huile) et qui estiment que l'indice d'acide de l'huile d'olive vierge est de 6.6mg de KOH /g d'huile.

L'acidité de l'huile d'oléastre est de 2.42% inférieure à la norme de l'huile d'olive vierge qui est de 3.3% (Boskou, 1996)

L'indice d'acide de l'huile d'oléastre simule selon codex (1992) à celui de l'huile de *Tetracarpidium conophorum* (kaso) qui est de 4.84mg KOH/g d'huile.

L'indice de saponification renseigne sur la longueur de la chaîne carbonée des acides gras qui constituent les triglycérides, il est d'autant plus élevé que la chaîne des acides gras est courte (ISO NF, 2003).

Notre résultat sur la détermination de l'indice de saponification de l'huile d'oléastre a donné une valeur égale à 182.914 qui correspond à celui de l'indice de saponification de l'huile d'olive de la région d'El Milia qui se situe entre (182,36 - 201,05). (Benabid, 2009), on peut déduire que cette huile est composée d'acides gras à chaînes moyenne.

La détermination de l'indice d'iode permet de déterminer le degré d'instauration global des huiles.

L'indice d'iode calculé de l'huile d'oléastre est de 94.53g/100 g d'huile, il correspond approximativement à l'indice d'iode de l'huile d'olive qui est entre 75-95 (**Codex Alimentarius, 1989**). L'indice d'iode est inférieur à 100 ce qui permet de classer l'huile d'oléastre parmi les huiles végétales d'assaisonnement non siccatives (**Rakipov, 1986**).

L'étude de la composition chimique de l'huile d'oléastre en acides gras montre que ceux ci sont à plus de 74% de type oléique.

On note la présence d'une faible teneur en acide α -linoléique, stéarique, palmitoléique, vaccénique et acide gondoïque (0,85% ; 2,69% ; 0,71% ; 2,53% ; 0,27%) respectivement.

Le pourcentage en acide linoléique paraît plus important comparativement aux autres acides gras insaturés, ceci peut être expliqué par la présence de l'enzyme, l'Oléate desaturase qui transforme l'acide oléique en acide linoléique au cours de la maturation (**Gutiérrez et al, 1999**).

Ces résultats convergent moins avec ceux de **Kristaskis et al., 1998** qui ont évalué la composition en acides gras de cinq huiles d'oléastre de différentes régions de Tunisie et dont les valeurs en acide gras mono insaturés étaient entre (70,8% et 73,9%), l'acide palmitique (9,14% et 15,4%), l'acide linoléique de (6,4% à 14,9%).

En comparant la composition en acides gras de l'huile d'oléastre de la région de Tlemcen extraite par la méthode de centrifugation triphasique et dont le rendement est de 10% avec l'huile extraite des oléastres de Tunisie et Italie par soxhlet selon **Allen et Good., 1971** et dont le rendement est de 8% à 15%. On remarque que l'huile d'oléastre extraite par soxhlet est constituée de (47% à 71,5%) d'acide oléique et de (11,8% à 18,7%) d'acide palmitique, tandis que l'huile d'oléastre extraite de manière traditionnelle est composée de 74% d'acide oléique et de 9.55% d'acide palmitique. Seule la proportion en acide stéarique qui est de 2.69% de notre huile est corrélée à l'intervalle de l'acide stéarique de l'huile extraite par le soxhlet qui est de (1,7 % à 4,3%) (**Pinatel et al., 2004**).

Les travaux de **Hanachi, 2007** montrent que l'huile d'oléastre est moins riche en acide gras saturé (stéarique et palmitique) et plus riche en acide oléique par rapport à l'huile d'olive des oliviers cultivés (Chetoui, Chemlali et Gerbouli).

Cependant, nos résultats sont conformes aux résultats de **Shirati, 1999** et **Baccouri, 2007** qui ont estimé que dans l'huile d'olive vierge extraite par centrifugation triphasique à partir des fruits d'oléastre de Tunisie est composée essentiellement d'acide gras monoinsaturé «acide oléique» qui est l'acide gras majoritaire dont les proportions se situent entre (71,1% à 78,4%) et d'acides gras polyinsaturés dont l'acide linoléique et l'acide α -linoléique avec des proportions qui sont respectivement de (6,4% à 14,2%), (0,4% à 0,8%).

Les proportions en acides gras saturés, stéarique et palmitique sont de (1,5% à 3,5%) et (8,7% à 11,9%) respectivement.

Sur ce plan physico-chimique on a constaté que l'huile d'oléastre est constituée essentiellement par des acides gras de chaînes moyenne C_{16} et C_{18} ce qui confère à l'huile une viscosité et une bonne fluidité (**Flanzy, 1978**).

Le rapport acide oléique/acide linoléique renseigne sur la stabilité de l'huile (**Roda, 1997**) il est de 8,55 supérieur à la valeur minimale qui est de 7. (**Kiritsakis et al., 1998**) ce qui indique que l'huile d'oléastre est stable.

Si les acides gras représentent la très grande majorité de la composition de l'huile d'oléastre en terme de masse, les composés mineurs tels que les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et pour leur intérêt nutritionnel (**Visioli, 1998 ; Brenes, 2002**). L'huile d'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui augmentent sa stabilité et lui confère des propriétés antioxydantes et modulent sa saveur (**Fadeli, 1977**).

La composition en polyphénols est un paramètre important dans l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive, elle reflète sa qualité organoleptique (**Visioli et al., 2000**) et contribue fortement au goût piquant. (**Brenes, 2000**).

Cependant, les composés phénoliques confèrent à l'huile l'amertume, l'astringence (**Kallithraka et al., 1997**) et la stabilité (**Gutierrez-Rosales et Arnaud., 2001 ; Abaza et al., 2005**).

Ils exercent une forte activité bactéricide contre l'helicobacter pylori qui est la cause de certain type de cancer gastrique (**Romero et al ., 2007**).

Le taux de polyphénols dans l'huile d'oléastre de Tlemcen est de 420 mg/kg correspond à la teneur de l'huile d'Oléastre de Tunisie qui est de 182 à 430 mg /kg. (**Baccouri ,2007**).

Le niveau alimentaire a des conséquences importantes sur le profil hormonal et métabolique des êtres vivants. (**Chilard et al., 1998**).

En effet, les besoins en nutriment donné sont définis comme la quantité nécessaire pour assurer l'entretien, le fonctionnement métabolique et physiologique d'un individu en bonne santé, comprenant les besoins liés à l'activité physique et à la thermorégulation, et les besoins supplémentaires nécessaires pendant certaines périodes de la vie telles que la croissance, la gestation et la lactation. (**ANC, 2001**).

Pour cette raison, l'apport énergétique total quotidien est estimé à 2000 Kcal pour les femmes et de 2500 Kcal pour les hommes. (**Luc, 1991**).

Suite à ce procédé, les dernières recommandations de l'AFSSA (**2001**), ont conseillé pour chacune des catégories d'aliment énergétique un apport quotidien estimé entre 11% à 15% de protéines, 30 à 35% de lipides, 55% de glucides.

C'est dans ce contexte que l'enquête nutritionnelle réalisée par l'établissement d'un questionnaire aux volontaires permet d'évaluer le statut nutritionnel par la mesure des apports en macronutriments et micronutriments (indicateurs diététiques), dans le but d'estimer la prise d'énergie habituelle des individus qui est évaluée grâce aux calculs des coefficients de conversion établis par **Atwater et Benedict., 1899** : 4 kcal/g pour les glucides et les protéines, 9 kcal/g pour les lipides.

Cependant, l'apport énergétique total quotidien chez les volontaires est dans les normes puisqu'il est de 2178.83 Kcal chez les non consommateurs et de 2433.08 Kcal chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

Par contre, les apports quotidiens en macronutriments chez les volontaires montrent une différence dans les proportions glucidiques et lipidiques par rapport aux apports conseillés par l'AFSSA. Chez les non consommateurs d'huile d'oléastre la répartition pour chacune des macronutriments est de 14.29% pour les protéines, 31.48% pour les glucides et 54.22% des lipides. Chez les consommateurs d'huile d'oléastre la répartition pour chacune des macronutriments est de 12.47% pour les protéines, 28.74% pour les glucides et 58.78% des lipides.

L'apport protéique journalier doit être de 12% à 16% de l'apport énergétique total quotidien (**Patureau-Mirand et al., 2001**), il est dans les normes chez les deux groupes de volontaires puisqu'il est proportionnel à 14.29% chez les non consommateurs d'huile d'oléastre et à 12.47% chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

L'apport glucidique journalier est estimé à 55%, de l'apport énergétique total quotidien selon L'AFSSA (**2001**) dont au maximum 10% pour les glucides simples (**Charles, 2004**).

Cependant, il ya une diminution d'apport en glucides totaux chez les deux groupes de volontaires qui sont proportionnelle à 31.48% dont (15.51% glucides simples, 15.96% glucides complexes) chez les non consommateurs d'huile d'oléastre et à 28.74% dont (12.60% glucides simples, 16.14% glucides complexes) chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

L'apport journalier en lipide est estimé de 30 à 35% de l'apport énergétique total quotidien dont (15% acides gras monoinsaturés, 7% acides gras polyinsaturés et 8% acides gras saturés). (**Legrand et al., 2001**).

En effet, on note un apport élevé en énergie lipidique chez les volontaires qui est de 54.22% de l'énergie totale chez les non consommateurs d'huile d'oléastre dont (15.02% AGMI, 26.97% AGPI et 12.22% AGS), et de 58.78 % chez les consommateurs d'huile d'oléastre dont (21.26% AGMI, 24.86% AGPI, 12.64%AGS).

Les apports alimentaires exogènes moyens en cholestérol sont estimés entre 200 mg/j et 300 mg/j. (**Olivier, 2004**).

Cependant, l'apport quotidien moyen en cholestérol alimentaire chez les non consommateurs est de 249 mg/j et de 252.5 mg/j chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

L'apport journalier conseillé en fibre est de 20 à 30g (**Lairon et al., 2001**). Alor que chez les volontaires, sa consommation journalière est de 11.828g chez les non consommateurs d'huile d'oléastre et de 16g chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

L'apport nutritionnel quotidien conseillé en tocophérols (vitamine E) est de 12mg/j, elles sont absorbées par la muqueuse intestinale, par voie passive, à partir des micelles amenées au foie par la lymphe, puis redistribuées aux tissus périphériques, essentiellement le tissu adipeux. La principale propriété de la vitamine E est sa capacité à piéger les radicaux libres peroxy formés à partir des AGPI par l'action de l'oxygène et à empêcher leur propagation aux structures lipidiques, telles que les membranes ou les lipoprotéines. On admet qu'une molécule d' α -tocophérol peut inhiber l'oxydation de 1 000 molécules d'AGPI (**Azaïs-Braesco et Grolier., 2001**). En effet, leurs apports quotidien moyen est élevé chez les volontaires par rapport à l'apport nutritionnel conseillé, il est de 20.36 % chez les non consommateurs d'huile d'oléastre et de 22.66mg/j chez les consommateurs d'huile d'oléastre, par contre il est dans l'intervalle des apports nutritionnels conseillés a titre de prévention contre les infections qui sont de 20mg/j et 50mg/j. (**Chandra et al.,1992 ; Chango et al., 2000**).

Les apports nutritionnels conseillés en vitamine C sont de 110 mg/j pour l'adulte homme et femme de moins de 60 ans, son absorption se fait dans l'iléon, par transport actif, puis diffusion passive aux fortes doses, saturable cependant au-dessus de 3 g. (**Birlouez-Aragon et al., 2001**).Cependant, l'apport en vitamine C chez les non consommateurs d'huile d'oléastre est de 104.41mg/j et de 113.89 mg/j chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

Les besoins minimaux en vitamine A chez l'adulte sont de 400 μ g, l'apport moyen est de 750 μ g/j. La vitamine A se répartit dans l'alimentation entre la vitamine A préformée (rétinol et rétinyl esters d'origine animale) et les caroténoïdes provitaminiques A (α - et β -carotènes, β -cryptoxanthine), essentiellement présents dans les produits végétaux. Le β -carotène comprend deux cycles de β -ionone et quatre unités isoprénoïques, ce qui explique pourquoi son clivage enzymatique par la β -carotène dioxygénase (entérocytaire ou hépatique) peut aboutir à la vitamine A, en fonction des besoins, avec un coefficient de conversion admis de 6 (6 mg de β -carotène équivalant à 1 mg de rétinol) : son absorption et sa conversion sont en fonction de plusieurs facteurs, dont le niveau global de vitamine A, qui peut avoir une fonction inhibitrice en cas de saturation. En revanche, la consommation quotidienne de 2,1 mg de β -carotène représente la moitié des ANC moyens en vitamine A, est conseillée, d'autant qu'elle représente une consommation de fruits et légumes. (**Sauberlich et al., 1974**).

Cependant, l'apport quotidien en vitamine A et β carotène chez les non consommateurs est respectivement de (258.29mg et 1609mg) et de (308mg et 1824.62mg) chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

Les apports nutritionnels conseillés en sodium sont de 2 à 3.5g/j. (ANC, 2001), il est absorbé par le tube digestif et presque totalement réabsorbé dans les tubules rénaux, sous le contrôle du système rénine-angiotensine aldostérone et du système neurovégétatif, en particulier son absorption est stimulée par le glucose et les acides aminés. Il est indispensable à la conduction de l'influx nerveux et c'est un facteur essentiel de l'équilibre hydroélectrolytique, par son rôle dans la pression osmotique des liquides extracellulaires, où il représente 95 % de la totalité des cations. C'est pourquoi son homéostasie y est maintenue de façon très précise, à une valeur située entre 135nmol/l et 145 nmol/l, sept fois supérieure à la concentration intracellulaire. Les échanges constants entre les deux compartiments à travers les membranes s'exercent principalement par le moyen de la Na^+/K^+ ATPase, système utilisant l'énergie de l'ATP. (Druëke et Lacour., 2001).

En effet, l'apport quotidien moyen en sodium est moyennement bas chez les non consommateurs d'huile d'oléastre qui est de 1779.66 mg et de 1371.425*** mg chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

L'apport nutritionnel conseillé comme limite supérieur en magnésium aux états-Unis est de 350mg/j, et de 700mg/j en France., il est engagé en tant que cofacteur dans plus de 300 systèmes enzymatiques (phosphorylation oxydative, glycolyse, transcription de l'acide désoxyribonucléique [ADN] et synthèse protéique) et dans la stabilisation membranaire. En effet, l'excès d'apport en magnésium alimentaire ne présente pas de risque toxique étant donné l'efficacité de l'élimination rénale. (Rayssiguier et al., 2001).

Cependant, l'apport quotidien moyen en magnésium chez les non consommateurs d'huile d'oléastre est de 488.33 mg/j et de 564.6 mg/j chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

Les apports nutritionnels conseillés en potassium sont entre 2g/j et 6 g/j. (Cynober et al., 2001). Il est essentiel dans l'établissement du repos membranaire et dans la phase de repolarisation des potentiels d'action des tissus nerveux et musculaire, qui permet

notamment au tissu cardiaque son fonctionnement normal. Il permet aussi la sécrétion acide de l'estomac. Au niveau cellulaire, c'est le système Na/K-ATPase qui fait entrer le potassium dans la cellule. (**Beaufrère et al., 2001**).

Cependant, l'apport quotidien moyen en potassium chez les non consommateurs d'huile d'oléastre est de 5254 mg et de 5576,15mg chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

L'apport quotidien conseillé en calcium est évalué à 400 mg /jour pour les adulte (**Guéguen, 2001**). En outre, l'ingestion excessive de calcium, de façon prolongée, peut conduire à l'hypercalciurie, à la lithiase urinaire et à la néphrocalcinose, entraînant aussi l'inhibition de l'absorption digestif d'autres éléments minéraux notamment le magnésium, le zinc et le fer. (**Hallberg et al., 2001**).

Le calcium de l'organisme se trouve, pour 99 % du total, dans le squelette, dont il est le principal constituant. Il assure la rigidité, sous la forme d'hydroxyapatite cristallisée et de phosphate calcique amorphe fixés sur du collagène, dans un rapport Ca/P voisin de 2. Le 1% restant est sous forme ionisée libre et participe à l'excitabilité neuromusculaire, la conduction nerveuse, la contraction musculaire, la coagulation sanguine. (**SENECA investigators, 1996**).

En effet, l'apport quotidien en calcium chez les non consommateurs d'huile d'oléastre est de 753.96 mg et de 678.21 mg chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

Les apports nutritionnels conseillés en fer sont de 9 mg/j pour les hommes adultes et les adolescents, 16 mg/j pour les femmes adultes non ménopausées et les adolescentes, à 7 mg/j pour les enfants de 1 à 3 ans, et à 20 mg/j pour les femmes enceintes. Outre sa position centrale dans la molécule d'hémoglobine qui détermine sa forte teneur dans l'organisme, participe entre autres, en tant que cofacteur d'oxydoréduction, aussi bien au transport d'électrons dans la mitochondrie qu'au métabolisme des catécholamines et à la synthèse de l'ADN. (**Coudray et Hercberg., 2001**).

Cependant, l'apport quotidien moyen en fer est de 10.26mg chez les non consommateurs (hommes et femmes) d'huile d'oléastre et de 15mg chez les consommateurs (hommes et femmes) d'huile d'oléastre.

Entre autre, le but de notre étude est de connaître l'action de l'ingestion de l'huile d'oléastre sur les paramètres plasmatiques : glucidique, protéique et lipidique.

L'alimentation constitue l'une des pierres angulaires de la prévention et du traitement des maladies cardio-vasculaires. (**Luc, 1991**)

Cependant, la composition du régime méditerranéen influe sur le métabolisme lipidique ainsi que l'insulinémie (**Harris et al., 1997 ; Brown et al., 1999**), grâce à l'usage abondant d'huile d'olive qui est la principale source de lipide (**Serra-Majem et al., 2004**). Des études épidémiologiques démontrent que le régime méditerranéen, riche en huile d'olive, est associé à une diminution des valeurs de la pression artérielle. (**Costa, 2002**)

L'indice de masse corporelle ainsi que la tension artérielle systolique et diastolique n'ont pas changé durant le mois d'expérimentation chez le groupe des consommateurs d'huile d'oléastre.

En fait, après l'enquête nutritionnelle du régime des volontaires participant à notre étude «non consommateurs et consommateurs d'huile d'oléastre» on a évalué un apport élevé en acides gras polyinsaturés qui reflète la consommation accrue de poisson et d'huile végétale (soja, tournesol).

Les acides gras polyinsaturés sont importants en nutrition humaine, car leur consommation réduit les risques des maladies cardiovasculaires, athérosclérose et cancers (**Connor, 2000; Dommels et al., 2002**).

Cependant, les triglycérides plasmatiques ainsi que le cholestérol total, la LDL-cholestérol et la HDL-cholestérol des non consommateurs d'huile d'oléastre étaient dans les normes et ne présentaient aucune anomalie. Ces effets hypotriglyceridémiant sont dû probablement à la consommation des huiles végétales (soja) qui sont composées des acides gras de la série n-3 ainsi que la consommation des poissons qui apportent les dérivés des n-3 (acides eicosa-pentaénoïque et docosahexaénoïque), l'effet hypocholestérolémiant est induit par la consommation d'huile de tournesol qui est riche en acides gras de la série n-6 en particulier l'acide linoléique (C18: 2 n-6). (**Katan, 1995**).

En plus de l'apport élevé en acides gras polyinsaturés il y avait une augmentation de l'apport en acide gras monoinsaturé et une diminution de l'apport en glucides chez les consommateurs d'huile d'oléastre.

Cependant, plusieurs études de **Garg et al (1992)** ; **Chen et al (1995)** ont été consacrées à la comparaison de régimes à teneur glucidique élevée de 55% à 65 % de calorie ou faible 35% à 40 % de calorie. Dans les régimes à teneur glucidique faible, les calories glucidiques manquantes sont remplacées par des graisses monoinsaturés qui représentent 25% à 32 % de l'apport calorique total et plus de la moitié de l'apport lipidique quotidien. Toutes les études convergent pour démontrer que les régimes à faible teneur glucidique et enrichis en graisses monoinsaturés entraînent des résultats meilleurs que les régimes à haute teneur glucidique en matière d'équilibre glycémique et de lipides plasmatiques (diminution des triglycérides, du LDL-cholestérol et augmentation du HDL-cholestérol). La réponse hormonale (insulinémie postprandiale et glucagonémie) est plus faible avec les régimes à faible teneur glucidique et enrichis en monoinsaturés et enfin, ils ont montré que les régimes à forte teneur glucidique induisent l'altération du métabolisme des triglycérides par augmentation de la production hépatique des VLDL-triglycérides et réduction du catabolisme fractionnel des triglycérides plasmatiques. (**Chen et al., 1995**).

Les triglycérides plasmatiques et la glycémie ont diminué mais non significativement par rapport aux non consommateurs d'huile d'oléastre. Ces résultats corroborent à ceux de **Esposito et al. (2004)** qui ont suggéré que la consommation d'huile d'olive diminue les taux sanguins de triglycérides et de glucose.

De même, il a été montré que chez l'homme l'apport d'oméga-3 réduit la viscosité du sang par une réduction des triglycérides et des VLDL (**Clark et al., 1993**).

Le cholestérol total, le cholestérol libre et estérifié ont diminué significativement à J₁₅ chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport à J₀ et aux non consommateurs cependant la HDL-cholestérol a augmenté significativement à J₃₀/J₀ et la LDL-cholestérol a diminué significativement à J₁₅/J₀ et à J₃₀/J₀ et aux non consommateurs d'huile d'oléastre. Ces résultats correspondent à ceux de la consommation d'huile d'olive (**Kris-Etherton et Pearson., 1999**).

Ces effets, sont dû à l'impact des acides gras polyinsaturés et aux acides gras monoinsaturés, car des études ont montrés que les régimes enrichis en graisses monoinsaturés s'accompagnent d'une augmentation du rapport HDL-cholestérol/cholestérol total, parallèlement une baisse de ce rapport est en général observée avec des régimes pauvres en graisses saturées ou avec les régimes enrichis en graisses polyinsaturées. D'autre part, l'enrichissement de la ration quotidienne en graisses monoinsaturés aboutit à une augmentation de la teneur en acide oléique des lipoprotéines circulantes qui deviennent moins sensibles à l'action des radicaux libres et aux phénomènes de peroxydation lipidique. (**Parthassarathy et al., 1990**).

Cependant les études de (**Gardner et Kraemer ., 1995**) ont montrés que l'acide oléique possède le potentiel d'abaisser les taux de cholestérol total et de cholestérol-LDL (« mauvais » cholestérol) dans le sang lorsqu'il remplace les acides gras saturés dans l'alimentation est qu'il est lié à la diminution du risque de maladies cardiovasculaires (**Hu et Stampfer., 1997**). De plus, il pourrait également augmenter les taux de cholestérol-HDL (« bon » cholestérol) lorsqu'il remplace une partie des glucides de l'alimentation. (**Mensink et Katan ., 1992**).

L'étude de (**Charbonnier, 1996**) a démontré que la consommation de l'huile d'olive induit l'augmentation de HDL-cholestérol et que chaque augmentation de 1% de ce « bon » cholestérol diminue le risque coronarien de 3%.

Cependant l'ingestion de l'huile d'oléastre a induit l'augmentation de 12.72% de HDL-cholestérol soit la diminution de 38.16% de risque coronarien.

Le taux de protéines totales plasmatiques chez les non consommateurs et les consommateurs d'huile d'oléastre se situe dans les normes de **Wane (1985)** qui sont de 6.2 g/dl à 8.4 g/dl pour les hommes et de 6.3g/dl à 8.4 g/dl pour les femmes et ne montre pas une différence durant l'expérimentation.

L'urée provient de la dégradation des acides aminés. Sa production dépend de l'importance du catabolisme protidique. Son élimination est assurée par le rein. L'urée est filtrée par le glomérule et une fraction d'environ 70% est réabsorbée par les cellules tubulaires par un mécanisme de diffusion passive. (**Crespeau, 1989**)

La concentration plasmatique de l'urée, à l'état physiologique est comprise entre 0,2g/l et 0,5 g/l (**Morailon et al., 1994**).

Cependant les concentrations en urée plasmatiques chez les consommateurs d'huile d'oléastre et non consommateurs demeuraient dans la fourche physiologique.

En l'occurrence, l'urée peut varier pour de nombreuses raisons autres que celle d'une atteinte rénale, elle peut varier de façon physiologique suivant l'apport alimentaire azoté (régimes hypoprotéique ou hyperprotéique), suivant le métabolisme protéique (exercice physique violent ou stimulations du catabolisme ou de l'anabolisme par des médicaments) ou suivant l'apport d'eau (prise de boisson, sudation). (**Willard et al., 1989**)

En cas d'obstruction, il se produit également rapidement des complications rénales. Lors d'une atteinte rénale, l'urémie augmente tardivement quand les deux tiers au moins du parenchyme rénal ne sont plus fonctionnels (**Osborne et al., 1972**).

Une urémie normale n'exclut pas une atteinte rénale ; à l'inverse, une augmentation n'implique pas forcément des lésions rénales (**Willard et al., 1989**).

Les concentrations en vitamines C plasmatiques présentent une augmentation à J₁₅ et à J₃₀ chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport à J₀ et aux témoins.

Pour des apports de 200 mg à 1 g en une prise, les concentrations plasmatiques atteignent progressivement la saturation ; à partir de 1 g, la quasi-totalité de la vitamine C est excrétée par voie urinaire sans modification, à la suite d'une saturation des transporteurs intestinaux et réabsorption rénale de la vitamine C. (**Birlouez-Aragon et al., 2001**). Les réserves sont estimées à 1,5g jusqu'à 2 g, situées principalement dans le foie et les muscles, bien que la teneur par gramme de l'hypophyse, de l'œil, des corticosurrénales, des plaquettes et des globules blancs soit plus élevée. (**Le Grusse et Watier., 1993**)

En tenant compte des fonctions de la vitamine C liées à son pouvoir antioxydant, on peut estimer que la concentration plasmatique de 10 mg/l est optimale par rapport aux risques de développement de maladies dégénératives (maladies cardiovasculaires, cancers, cataracte et maladies neurodégénératives). On peut corréliser cette élévation de la vitamine C plasmatique à la consommation en fer qui est plus élevée chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport aux témoins, or le fer active l'absorption intestinale de la vitamine C.

L'alimentation est à l'origine de l'équilibre ou le déséquilibre métabolique. Ces dans ce sens que notre étude préliminaire est de déterminé la ration journalière en macronutriments et micronutriments chez des volontaires n'ayant aucune pathologie « sains » après analyses sanguins, et d'introduire l'huile d'oléastre pendant un mois dans le régime d'un groupe de volontaires afin de contrôler les paramètres plasmatiques glycémiques, protéiques et lipidiques.

Les analyses physico-chimiques de l'huile d'oléastre extraite à l'huilerie de Beni Snous 'Wilaya de Tlemcen' en Novembre 2009 montrent que l'huile est pure, non siccative, stable, et est classée parmi les huiles d'olives vierge. La composition de l'huile d'oléastre en acide gras montre qu'elle est composée de chaînes moyennes d'acide gras dont l'acide gras majoritaire est l'acide oléique.

Après enquête nutritionnelle on s'est aperçu que le régime des non consommateurs d'huile d'oléastre et les consommateurs d'huile d'oléastre était très abondant en acides gras polyinsaturés via la consommation de poissons et d'huile de tournesol.

Cependant, les non consommateurs d'huile d'oléastre avaient des paramètres plasmatiques normaux. On a corroboré ces résultats à l'effet hypotriglyceridémiant et hypocholestérolémiant des acides gras polyinsaturés n-3 et n-6.

Chez les consommateurs d'huile d'oléastre il y avait une diminution de la glycémie et de la triglyceridémie à J₁₅ et à J₃₀ de et une diminution significative de cholestérol total, de LDL-cholestérol à J₁₅ et à J₃₀ par rapport leur taux initiaux à J₀ et aux témoins. On a noté aussi une augmentation significative de la HDL-cholestérol à J₃₀ chez les consommateurs d'huile d'oléastre par rapport à J₀.

Cependant, l'ingestion pendant un mois d'expérimentation de 690g d'huile d'oléastre qui est constituée essentiellement d'acide gras monoinsaturé «acide oléique » a induit la diminution de la glycémie, la triglyceridémie, le cholestérol total, la LDL-cholestérol (athérogène), et l'augmentation de la HDL-cholestérol.

A propos les lipides qu'ils soient d'origine animale ou végétale, par leur composition en AGS, AGMI, AGPI assurent plusieurs fonctions physiologiques et doivent être apportés à l'organisme régulièrement avec des apports suffisant, toute diminution provoque des altérations métaboliques pareillement un excès d'acides gras saturé induit l'apparition de plusieurs pathologies telles que les maladies coronarienne, athérosclérose, cancer, obésité.

De ce fait, cette étude nous a permis de conclure que l'huile d'oléastre vierge a effectivement comme l'huile d'olive des effets hypoglycémiant, hypotriglyceridémiant et hypocholestérolémiant.

01. **Abaza L., Taamalli W., Ben Temime S., Daoud D., Gutierrez F., Zarouk M. (2005)** Natural antioxidant composition as correlated to stability of some Tunisian virgin olive oils. *Riv .Ital.Sostanze Grasse.*82:12-18.
02. **AFSSA. (2001)** Conditions pour un enrichissement satisfaisant pour la nutrition et la sécurité des consommateurs.
03. **Alaupovic P. (2003)** The concept of apolipoprotein-defined lipoprotein families and its clinical significance. *Curr Atheroscler Rep.* 5: 459-67.
04. **Alberts B., Johnson A. (2002)** *Molecular Biology of the Cell.* 4^{ième} Ed Garland Publishing. NewYork.
05. **Al Mallah K., Asma O.J., Abu Lail N.I. (2000)** Olive mills effluent (OME) wastewater posttreatment using activated clay. *Separ. Purif. Technol.*20: 225-234.
06. **Allain C.C., Poon L.S., Chan C.S.G., Richmond W., Fu P.C. (1974)** Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.*20:470-475.
07. **Allen P., Good C. (1971)** Acyl lipids in photosynthetic System. In clouvic S.P. Kaplan N.O. Ed *Methods in enzymology.* Academic Press. New York. 523-547.
08. **ANC (2001).** Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier.
09. **Andersson P., Brink. (2006)** Knowledge about cardiovascular risk factor among obese individuals. *European Journal of cardiovascular Nurs.*166:16-876.
10. **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): 639–660.
11. **Aparicio M., Luna G. (2002)** Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Sci. Technol.*104:614-637.
12. **Atwater W.O., Benedict F. G. (1899)** *Bull.U.S. Dep. Agric.* 69.
13. **Azaïs-Braesco V., Grolier P. (2001)** Vitamine A et caroténoïdes provitaminiques. In : Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier. 221-228.
14. **Babin P. J. (1987)** Plasma lipoprotein and apolipoprotein distribution as a function of density in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Biochem Journal.* 246:425-9.

15. **Baccouri B.,Zarrouk W.,Krichene D.,Nouairi I.,Ben Youssef N.,Daoud D.,Zarrouk M.(2007)** Influence of fruit ripening and crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected oleasters (*Olea europaea* L.).*Journal of Agronomy*.6(3):388-396.
16. **Badellino K.O., Rader D.J. (2004)** The role of endothelial lipase in high-density lipoprotein metabolism. *Curr Opin Cardiol*. 19: 392-395.
17. **Barter P.J.,Brewer H.B.,Chapman M.J. (2003)** Cholesteryl ester transfer protein: a noveltarget for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.2:160-167.
18. **Beaufrère B., Briend A., Ghisolfi J., Goulet O., Putet G., Rieu D. (2001)** Nourrissons, enfants et adolescents. In : Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier. 255-291
19. **Belarbi M. (2003)** Etude des composés nutritionnels et antinutritionnels des glands de chêne et l'efficacité nutritionnelle de leurs protéines chez le rat Wistar en croissance. Thèses pour l'obtention du Doctorat d'Etat en Sciences naturelles. Université Tlemcen.
20. **Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuño A., Del Rio J.A. (2000)** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*.
21. **Berezia G.,Enllan P.(1999)** Lipides : leur exploitation chez l'homme E.M.C Endocrinolgy Nutrition.10 : 368-378.
22. **Berglund L. (2006)** Lipoprotein metabolism: a well-tried tool to characterize dyslipidemicmechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 26: 1201-1203.
23. **Bervillé A., Besnard G., Baradat P.H., Khadari B., Breton C. (2001)** Origine et domestication de l'olivier. In: Actes des 1ères Rencontres Internationales de l'olivier (19 et 20 octobre 2000).L'olivier dans l'espace et dans le temps. Institut du monde de l'olivier,Nyons .8–9.
24. **Besnard G., Khadari B., Villemur P., Berville A. (2000)** Cytoplasmic male sterility in the olive (*Olea europaea* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 100: 1018–1024.
25. **Besnard G., Baradat P., Breton C., Khadari B., Berville A. (2001)** Olive domestication from structure of oleasters and cultivars using RAPDs and mitochondrial RFLP.*Genet.,Select., Evolut*. 33: S251–S268.

26. **Besnard G., Baradat P., Chevalier D., Tagmount A., Berville'A** .(2001)Genetic differentiation in the olive complex (*Olea europaea*) revealed by RAPDs and RFLPs in the rRNA genes. *Genet Resour Crop Evol.* 48:165–182.
27. **Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Tork M.,Trotin F.**(1980) Plantes médicinales des régions tempérées. Ed Maloine S.A.263.
28. **Birlouez-Aragon I., Fieux B., Potier De Courcy G., Herberg S.** (2001) Vitamine C. In : Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier. 3. 215-220.
29. **Bolanos-Garcia V. M., Miguel R. N.** (2003) On the structure and function of apolipoprotéines.more than a family of lipid-binding proteins.*Prog Biophys Mol Biol.* 83: 47-68
30. **Boscou D.** (1996) Olive Oil Composition. In *Olive Oil: Chemistry and Technology.* AOACS Press, USA.52-83, 85-127.
31. **Boukef M.K.** (1986) Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne, médecine traditionnelle et pharmacopée- agence de coopération culturelle et technique.
32. **Brenes M., Garcia A., Rios J. J., Garcia P., Garrido A.** (2002) Use of acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *The International Journal of Food Science and Technology.* 37 (6): 615-625.
33. **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):715-720.
34. **Breton C.,Besnard B.,Bervillé A.**(2006) Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography in M.A Zeder. D.Decker-Walters, DBradley. BSmith.Ed Documenting Domestication.New genetic and A rchaeological paradigms,Smithsamian Press.Washington DC.141-148.
35. **Breton C., Tersac M., Berville' A.** (2006) SSR genetic diversity in wild olive (*oleaster, Olea europaea L.*) suggests several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin and gene flow with olive. *Journal of Biogeography* 33:1916–1928.

- 36. Breton C., Guerin C., Ducatillon J., Médail F., Kull., Bervillé A. (2008)** Taming the wild and 'wilding' the tame. Tree breeding and dispersal in Australia and the Mediterranean, *Plant Sci.* 175:197–205.
- 37. Brown L., Rosner B., Willett W.W., Sacks F.M. (1999)** Cholesterol lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *American Journal of Clin Nutr.* 69:30-42.
- 38. Brun J.P. (2004)** Archéologie du vin et de l'huile de la préhistoire à l'époque Hellénistique. Paris. Ed Errance.
- 39. Bucolo G.,David H.(1973)**Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes .*Clin Chem.*19:476-482.
- 40. Caravaca F.,Figueroa D.,AzcónAguillar C.,Barea J.M ,Roldan A.(2003)** Mediam-term effects of mycorrhial inoculation and composted municipale waste addition on the establishment of two mediterranean shrub species under semiarid field condition .*Agriculture Ecosystems et Environment.*97:95-105.
- 41. Centi G., Perathoner S., Torre T., Verduna M.G. (2000)** Catalytic wet oxidation with H₂O₂ of carboxylic acids on homogeneous and heterogeous Fenton type catalysts. *Catal. Today.* 55: 61-69.
- 42. Chamkha M., Patel B.K.C., Garcia J.L., Labat M. (2001)** Isolation of Clostridiumbiofermentants from oil mill wastewater converting cinnamic acid to 3-phenylpropionicacid and emendation of species. *Anaerobe.* 7:189-197.
- 43. Chandra R.K. (1992)** Effect of vitamin and trace-element supplementation on immune responses and infections in elderlysubjects. *Lancet.* 340: 1124-1127.
- 44. Chango A., Potier de Courcy G., Boisson G., Guiland J.C.,Barbé F., Perrin M.O. (2000)** 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) common mutations on folate statusand homocysteine distribution in healthy french adults of the SU.VI.MAX cohort. *Britanic Journal of Nutr.* 84: 891-896.
- 45. Charbonnier A. (1996)** L'huile d'olive, aliment santé. Ed Frison Roche.282.
- 46. Charles A.,Guy L., Miclo L.(2004)** Biochimie alimentaire .5^{ème}Ed de l'abrégé.Généralité sur la composition des aliments .01.
- 47. Chatzissavidis C. (2002)** Study of boron toxicity in olive plants. Ph D thesis, School of Agriculture, Aristotle University, Thessaloniki, Greece. 379.
- 48. Chazau-gilling. (1994)** The civilization of the olive tree and cereals *olivae.*53:14-22.

49. **Chen Y-D.I., Couiston A.M., Zhou M., Holienbeck C.E., Reaven G.M. (1995)** Why do low-fat high-carbohydrate diets accentuate post prandial lipemia in patients with NIDDM. *Diabetes Care*.18:10-16.
50. **Chillard Y.,Bocquier F.,Doreau M.(1998)** Digestive and metabolic adaptation of ruminants to undernutrition, and consequence on reproduction. *Reprod Nutr*.38 :131-152.
51. **Ciferri R., Breviglieri N.(1942)** Introduzione ad una classificazione morfologica dell'olivo coltivato in Italia. *L'Olivocoltore*.19:1-7.
52. **Claude Bendavid. (2009)** Lipoprotéines et bilan lipidique.Risque cardiovasculaire et athérome.PCEM2.Coeur et Vaisseaux. Biochimie.Rennes.
53. **Clark W.F., Parbtani A., Naylor C.D., Levinton C.M., Muirhead N., Spanner E. (1993)** Fish oil in lupus nephritis: clinical findings and methodological implications. *Kidney Int*. 44 (1): 75-86
54. **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).
55. **C.O.I. (1990)** Amélioration de la qualité de l'huile d'olive. Conseil Oléicole International-Madrid.
56. **C.O.I. (1994)** Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive–COI/T.15/ n°2/corr.1.17.
57. **Codex Stan. (1989)** Norme Codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignon d'olive raffinée Codex Stan 33-1981 (Rév. 1-1989) .1-6.
58. **Connor D.J. (2005)** Adaption of olive (*Olea europaea* L.) to water-limited environments. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56:1181–1189.
59. **Connor E.W. (2000)** Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition* .7:171S-175S.
60. **Cossu R., Blakey N., Cannas P. (1993)** Influence of codisposal of municipal solid waste and olive vegetation water on anaerobic digestion of sanitary landfill. *Water Sciences Technology*. 27: 261-271.
61. **Costa F. (2002)** Non-pharmacological treatment of hypertension in women. *Journal of hypertension*. 02: 57-61

62. **Coudray C., Hercberg S. (2001)** Fer. In : Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier.150-155.
63. **Crespeau F. (1989)** Etude histologique du rein du chien. P.M.C.A.C. 24 (3): 269-80.
64. **Cuvelier C.,Cabaraux JF.,DufrasseL.,Hornick J.L.(2004)** Acides gras nomenclature et sources alimentaires, Ann.Med.vegetal.148 :133-140.
65. **Cynober L., Alix E., Arnaud-Battandier F., Bonnefoy M., Brocker P., Cals MJ. (2001)** Personnes âgées. In : Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier.307-335.
66. **Dany G., Patricia P., Laugurette F., Philippe B. (2006)** Physiologie de la nutrition, école Nationale de Biologie Appliqué et alimentation.
67. **Darrigol J.L. (2001)** Cholestérol: prévention de l'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires Ed Dangles.256.
68. **De Lalla O.F.,Gofman J.W. (1954)** Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins. Methods Biochem Anal.1:459-78.
69. **Despres J.P.,LemieuxI.(2006)**Abdominal obesity and metabolic syndrome. Nature.444: 881-887.
70. **Dichio B., Xiloyannis C., Angelopoulos K., Nuzzo V., Bufo S. A.,Celano G. (2003)** Drought-induced variations of water relations parameters in *Oleo europaea* L. *Plant Soil*.25:381–389.
- 71.**DiGiovacchino L.,Constantini N.,Serraiocco A.,Surrichio G.,Basti C.(2001)**Natural antioxidants and volatile compounds of virgin olive obtained by two or three phase centrifugal decanters. European Journal of Lipid Sci.Technol.103:279-285.
72. **Dogyan S.,Turan Y.,Ertuerk H.,Arslan D.(2005)** Characterisation and purification of polyphénols oxidase from artichoke(*Cyanara Scolymus*L.).Journal of Agricultural .Food Chem.53:776-785.
73. **Dommels Y.E.M., Alink G.M., Bladeren P.J.V., Ommen B.V. (2002)** Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and colorectal carcinogenesis: result from cultured colon cells, animal models and human studies. Environmental Toxicology and Pharmacology.11:297-308.

74. **Duclos M. (2002)** Service Sport Santé. L'apparition des maladies, Obésité, atteinte vasculaire.
75. **Duffy D., Rader D.J. (2006)** Emerging therapies targeting high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport. *Circulation*. 113: 1140-1150.
76. **Dupont F., Guignard J.L. (2007)** Botanique systématique moléculaire. 14^{ème} Ed Elsevier Masson. 165-167.
77. **Duran Grande M., Izquierdo Tamayo A. (1964)** Study on histological structure of the *Olea europaea* L. fruit. I. Cv. Zorzalena (O.E. Argentata). *Grasas Aceites*. 15:72-85.
78. **Druëke T.B., Lacour B. (2001)** Sodium, potassium, chlore. In :Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier.120-131.
79. **Duvillard L., Pont F. (2000)** Inefficiency of insulin therapy to correct apolipoprotein A-I metabolic abnormalities in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 152:229-237.
80. **Duvillard L., Pont F., Florentin E.(2000)** Significant improvement of apolipoprotein B containing lipoprotein metabolism by insulin treatment in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia*. 43: 27-35.
81. **Edge S.B., Hoeg J.M. (1985)** Apolipoprotein B synthesis in humans: liver synthesizes only apolipoprotein B-100. *Metabolism*.34: 726-730.
82. **Edward F., Gilman.,Associate professor Environmental Horticulture Departement Dennis G., Watson.,Associate professor AgriculturalEngineering Departement.(1993)** Sciences.University of florida .Gainseville.3:26-11.
83. **El Hajjouji H., Fakharedine N., Ait Baddi G., Winterton P., Bailly J.R., Revel J.C., Hafidi M. (2007)** Treatment of olive mill waste-water by aerobic biodegradation. An analytical study using gel permeation chromatography, ultraviolet-visible and Fourier transform infrared spectroscopy. *Bioresource Technology*. 98:3513-3520.
84. **Ellstrand N.C. (2003)** Dangerous liaisons? When cultivated plants mate with their wild relatives.In : Schneider SS,Ed. Synthesis in Ecology and Evolution. Baltimore; London: The Johns Hopkins University Press.
85. **Eonamene A., Grundy. (1988)**Effect of dietary Stearic acid an plasma and lipoprastein level a. N English Journal of Med.318:1244-1248.

86. **Ernest J Schaefer. (2002)** Lipoproteins, nutrition and heart disease. *The American Journal of Clinical Nutr.* 75:191-212.
87. **Esposito K., Marfella R., Ciotola M., Di Palo C., Giugliano F., Giugliano G. (2004)** Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* .292:1440.
88. **Estevinho L., Bento A., Pereira J.A. (2007)** Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L) leaves. *Molecules* .12:1153–1162.
89. **Fadeli E. (1977)** Lipids of olives. *Process Chemistry of Fats and other lipids.* 15:57-74.
90. **Farinelli D., Tombesi A.M., Boco M., Pill M. (2002)** Influence of canopy density on efficiency of trunk shaker olive mechanical harvesting. *Acta Hort.* 586: 291–294.
91. **Farinelli D., Boco M., Tombesi A. (2002)** Intensity and growth period of the fruit components of olive varieties. *Acta Hort.* 568: 607–610.
92. **Fernandez J.E., Moreno F., Giron I.F., Blazquez O.M. (1997)** Stomatal control of water use in olive tree leaves. *Plant Soil.* 190:179–192.
93. **Feunekes G.I., Van Staveren W.A., De Vries J.H., Burema J., Hautvast J.G. (1993)** Relative and biomarker-based validity of a food frequency questionnaire estimating intake of fats and cholesterol. *American Journal of Clin Nutr.* 58:489-496.
94. **Fiestas Ros de Ursinos J.A., Navarro Gamero R., Leon Cabellero R., Gacia Buendia A.J., Maestro Juan Saez de Jauregui G.M. (1982)** Depuración anaerobia del alpechín como fuente de energía. *Grasa y aceites*, 33(5):265.
95. **Fiestas Ros de Ursinos J.A., Borja Padilla R. (1992)** Use and treatment of olive mill wastewater. Current situation and prospects in Spain, *Grasas Aceit.* 43: 101-106.
96. **Flanzy J. (1978)** Colloque « Images de la chimie». 73-77.
97. **Flora L. J., Matore M. A. (1993)** Stachyose and mannitol transport in olive (*Olea europaea* L.). *Planta.* 189:484–490.
98. **Fontanazza G. (1996)** Genetic Aspects and propagation Techniques for intensive cultivation. *World Olive Encyclopedia IOOC.* Madrid. 114-144.
99. **Fossati P., Prencipe L. (1982)** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem.* 28:2077-2080.

100. **Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. (1972)** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 18: 499-502.
101. **Galili E., Stanley D.J., Sharvit J., Weinstein-Evron M. (1997)** Evidence for earliest olive oil production in submerged settlements of the Carmel coast, Israel'. *Journal of Archaeological Science.* 24: 1141–50.
102. **Galli C., Visioli F. (1999)** Antioxidant and other activities of phenolics in olives/oliveoil. Typical components of the Mediterranean diet. *Lipids.* 34: 23–26.
103. **Galli E., Pasetti L., Fiorelli F., Tomati U. (1997)** Olive-mill waste water composting. Microbiological aspect. *Waste Management and Research.* 15:323-330.
104. **Ganino T., Bartolini G., Fabbri A. (2006)** The classification of olive germplasm – a review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology.* 81(3): 319–334.
105. **Gardner C.D., Kraemer H.C. (1995)** Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* November. 15(11):1917-27.
106. **Garg A., Grundy S.M., Unger R.H. (1992)** Comparison of effects of high and low carbohydrate diets on plasma lipoproteins and insulin sensitivity in patients with mild NIDDM. *Diabetes.* 41:1278-1265.
107. **Ghedira K. (2008)** L'olivier. *Pharmacognosie. Phytothérapie.* 06: 83-89.
108. **Gimeno E., Fit M., Lamuela-Raventós R.M., Castellote A.I., Covas M., Farré M. (2002)** Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56: 114-120.
109. **Girard J. (2000)** Acides gras. insulinosecretion et lipotoxicité. *Med Ther Endocrinol.* 12:29-36.
110. **Girard M.L., Assous E.F. (1962)** Méthodes de dosage direct de cholestérol libre et total. *Ann. Bio. Clin.* 20:335-345.
111. **Giron M.V., Ruiz-Jimenez J., Luque de Castro M.D. (2009)** Dependence of fatty-acid composition of edible oils on their enrichment in olive phenol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 57: 2797-2802.
112. **Giuspina I., Iogna N., Togna A.R. (2003)** Olive oil isochromans inhibit human platelet reactivity. *American Society for nutritional Sciences.* 2532-2536.
113. **Gornall A.G., Bardawill C.S., David M.M. (1949)** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biol Chem.* 177:751-766.

114. **Green P.S. (2002)** A revision of *Olea* L. (Oleaceae), Kew Bull. 57: 91–140.
115. **Grundy S.M. (1999)** The optimal ratio of fat to carbohydrate in diet. *Nutr.* 15:325-341.
116. **Grundy S.M. (2004)** Obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Journal of Clin Endocrinol. Metab.* 89:2595-2600.
117. **Guéguen L. (2001)** Calcium, phosphore. In : *Apports nutritionnels conseillés*. Paris : Tec et Doc. Lavoisier. 131-146.
118. **Gurr M.I., Harwood J.I. (1991)** *lipid Biochemistry. An Introduction*. 4^{ème} Ed Chapman and Hall London. 406.
119. **Gutiérrez 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 picual and hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural. Food. Chem.* 47: 121-127.
120. **Gutierrez-Rosales F.T., Arnaud T. (2001)** Contribution of polyphenols on the oxidative stability of virgin olive oil. 24th World Congress ISF, Berlin, Proceedings .61–62.
121. **Gutmann I., Bergmeyer H.U. (1974)** *Methods of enzymatic analyses* .Ed Bergmeyer H.U. Academic Press .4:1794-1798.
122. **Hadjisavas S. (1992)** *Olive Oil Processing in Cyprus from the Bronze Age to the Byzantine Period*. Goteborg: P. A ströms Forlag.
123. **Hafidi M. (2007)** Treatment of olive mill waste-water by aerobic biodegradation, An analytical study using gel permeation chromatography, ultraviolet-visible and Fourier transform infrared spectroscopy. *Bioresource Technology*. 98:3513-3520.
124. **Hallberg L., Rosander-Hulten L., Brune M., Gleerup A. (1992)** Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. *European Journal of Clin Nutr.* 46: 317-32
125. **Hamilakis Y. (1999)** Food technologies/technologies of the body. The social context of wine and oil production and consumption in Bronze Age Crete. *World Archaeology*. 31: 38–54.
126. **Hanachi H. (2007)** *Etude de l'Olivier et de l'oléastre au Nord de Tunisie* .Thèse de doctorat Université de Tunis.

127. **Hansen J. (1988)** Agriculture in the prehistoric Aegean. Data versus speculation American Journal of Archaeology. 92: 39–52.
128. **Harris W.S., Rothrock D.W., Fanning A., Inkeles S.B., Goodnight S.H., Illingworth D.R. (1990)** Fish oils in hypertriglyceridemia: a dose-response study. American Journal of Clin Nutr. 51 (3): 399-406.
129. **Hartmann H.T. (1949)** Growth of the olive fruit. Proceedings of the American Society of Horticultural Science. 54:86–49.
130. **Harwood J., Sanchez J. (2000)** Lipid biosynthesis in olives. In: Harwood J.L., Aparicio R. Ed Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, USA. 61–77.
131. **Hattenschwiler S., Vitousek P.M. (2000)** The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. TREE. 15:238-243.
132. **Havel R.J., Eder H.A, Bragdon J.H. (1995)** The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in Human serum. Journal of Clin. 34:1345-1353.
133. **Heeren J., Beisiegel U., Grewal T. (2006)** Apolipoprotein E recycling: implications for dyslipidemia and atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 26: 442- 448.
134. **Hu F.B., Stampfer M.J. (1997)** Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. N English Journal of Med. 337(21):1491-9.
135. **Hutchings A., Scott A.H., Lewis G., Cunningham A. (1996)** Zulu Medicinal Plants. An Inventory. University of Natal Press, Pietermaritzburg. 235–236.
136. **Inazu A., Koizumi J., Mabuchi H. (2000)** Cholesteryl ester transfer protein and atherosclerosis. Curr Opin Lipidol. 11: 389-396.
137. **ISO NF3657. Norme Française des Corps gras. (2003)** Corps gras d'origine Animale-Végétale .Détermination de l'indice de saponification (indice de classement :TGO-206) Journal On°290 du 16Decembre 2003. Texte n°118 paru au Journal F/LD. 21429.
138. **Jacota S.K., Dani H.M. (1982)** A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. Analytical Biochemistry. 172:178-182.
139. **Jean Pagnol. (1996)** L'Olivier. 5^{ème} Ed AUBANEL. Préface de P. Bonnet Président de la Fédération Internationale d'Oléiculture. 15.

140. **Jean Pagnol.**(1996) L'Olivier.5^{ème}Ed AUBANEL. Préface de P. Bonnet Président de la Fédération Internationale d'Oléiculture. 17.
141. **Jin W., Marchadier D., Rader D.J. (2002)** Lipases and HDL metabolism. Trends Endocrinol Metab. 13: 174-178.
142. **Johnson LAS. (1957)**Areview of the family *Oleaceae*. Contr New SouthWales Nat Herbar. 2:397–418.
143. **Kallithraka S.,Bakker J.,Clifford M.N.(1997)** Effect of pH astringency in model solutions of wines .Journal of Agricultural .Food chem..415:2211-2216.
144. **Karleskind A. (1992)** Manuel des corps gras. Tome 2.Ed Tec et Doc. Lavoisier.Paris.1571-1578.
145. **Katan M.E. (1995)** Fish and heart disease. N English Journal of Med. 332:1024- 1025.
146. **Katsouyanni K., Rimm E.B., Gnardellis C., Trichopoulos D., Polychronopoulos E., Trichopoulou A. (1999)** Reproducibility and relative validity of an extensive semiquantitativefood frequency questionnaire using dietary records andbiochemical markers among Greek schoolteachers. Int .Journal of Epidemiol .26:S118–27.
147. **Khan M.Y., Panchal S., Vyas N., Butani A., Kumar V. (2007)** Olea europaea: a phyto-pharmacological review. Pharmacognosy Reviews. 1:114–118.
148. **Kiritsakis A.P., Markakis. (1984)** Effect of Olive Collection Regime on Olive Oil Quality.Journal of Sci Food Agric. 35:677–680
149. **Kiritsakis,A. K., Nauos, G. D., Polymenoupoulos Z., Thomai T., Sfakiotakis,E. Y. (1998)** Effect of fruit storage conditions on olive oil quality. Journal of American Oil Chemists Society. 75: 721–724.
150. **Kiritsakis A. K. (1998)** Flavor components of olive oil – a review. Journal of the American Oil Chemists Society. 75(6): 673–681.
151. **Kratz M., Cullen P. (2002)** Effects of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low-density lipoprotein. European Journal of Clin Nutr January.56 (1):72-81.

152. **Kris-Etherton P.M., Pearson T.A. (1999)** High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *American Journal of Clin Nutr* .70(6):1009-1015.
153. **Kubo A., C.S. Lunde., Kubo I., Agric J. (1995)** *Food Chem.* 43:1629.
154. **Lagarde M., Lafont H. (2007)** Acides gras d'intérêt nutritionnel métabolisme et rôle. *L'athérosclérose –Physiologie, diagnostics thérapeutiques.*12:45-60.
155. **Lairon D.,Pay B., Jourdheuil-Rahmani D.(2007)** digestible and indigestible carbohydrates :interactions with postprandial lipid metabolism .*Journal of Nutr Biochem.*18 :217-27.
156. **Legrand P., Bourre J.M., Descomps B., Durand G., Renaud S. (2001).**Lipides.In : Apports nutritionnels conseillés.Paris : Tec et Doc. Lavoisier.64-82.
157. **Lee O.H., Lee B.Y., Lee H.D., Son J.Y., Park C.S.,Shetty K.,Kim Y.C.(2009)** Assessment of phenolics enriched extract and fractions of Olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Thecnolgy.* 100:6107-6113.
158. **Le Grusse J., Watier B. (1993)** Les vitamines. Données biochimiques, nutritionnelles et cliniques. Neuilly-sur-Seine. CEIV Produits Roche.
159. **Levi-Minzi R., Saviozzi R., Riffaldi A.R., Falzo L. (1992)** L'épandage au champ des Margines. Effets sur les propriétés du sol. *Olivae.* 40:20-25.
160. **Lichten Stein A.H.,Kennedy E., Barrier P.,Danford D.,Ernest N.D.,Grundy S.M.,Leville G.A.,Van Horn L.,Williams C.L.,Booth S.L.(1998)** Dietary fat consumption and health . *Nutrition Review.*56:3-28.
161. **Linden G., Lorient D. (1994)** Biochimie agroindustrielle, Valorisation alimentaire de la production agricole. Ed Masson.75.
162. **Lion P.H. (1955)** Travaux pratiques de chimie organique. Ed Dunod. Paris.
163. **Lopez-Miranda J., Perez-Martinez P. (2006)** Postprandial lipoprotein metabolism, genes and risk of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.*17: 132-138.
164. **Lopez-Miranda J.,Williams C., Lairon D.(2007)** Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism.*Br Journal of Nutr.*98(3) :458-73.

165. **Luaces P., Pérez A.G., Sanz C. (2003)** Role of olive seed in the biogenesis of virgin olive oil aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.51: 4741-4745.
166. **Luc G. (1991)** Cholestérol et athérosclérose Ed Masson. 210.
167. **Lumaret R., Ouazzani N. (2001)** Ancient wild olives in Mediterranean forests, *Nature*. 413- 700.
168. **Macheboeuf M., Rebeyrotte P. (1951)** Study of lipoprotein acid precipitable fractions of horse serum by salting out, electrophoresis and ultracentrifugation. *Bull Soc Chim Biol (Paris)*. 33:998-1002.
169. **MADR/DSASI/SDSA (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural/Direction des Statistiques et des Systèmes d'Informations/Sous-Direction des Statistiques Agricoles). (2003)** Superficies et Productions .Série (A) et (B). 2002.
170. **Maestri D.M., Labuckas D.O., Meriles J.M., Lamarque A.L., Zygadlo J.A., Guzman C.A. (1998)** Seed Composition of soybean cultivars evaluated in different environmental conditions. *Journal of Sci Food Agric*. 77:494–498.
171. **Mahley R.W., Weisgraber K.H. (1974)** Canine lipoproteins and atherosclerosis. I. Isolation and characterization of plasma lipoproteins from control dogs. *Circ Res*. 35: 713-721.
172. **Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C J.r., Weisgraber K.H. (1984)** Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function.*J Lipid Res*. 25: 1277-94.
173. **Martina. (2001)** Diet and Stroke *Nutr health aging*.51:67-72.
174. **Medeiros M.D. (2001)** Olive oil and health benefits. In R.E.C. Ed Wildman. *The handbook of nutraceutical and functional foods*. 261- 267.
175. **Meiattini F.,Prencipe L.,Bardelli F., Giannini G., Tarli P.(1978)** The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone chromogenic system used in the enzymic determination of serum cholesterol. *Clin Chem*.24: 2161-2165.
176. **Mensink R.P., Katan M.B. (1992)** Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins.A meta-analysis of 27trials.*Arterioscler Thromb* August.12 (8):9-11.
177. **Merkel M., Eckel R.H., Goldberg I.J. (2002)** Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *Lipid Res*. 43: 1997-2006.
178. **Minguez-Mosquera M.I., Garrido-Fernandez J. (1989)** Chlorophyll and carotenoid presence in olive fruit (*Olea europaea*). *Journal of Agricultural Food Chemistry*.37(1) : 1–7.

- 179. Morailon R., Legeay Y., Fourrier P., Lapeire C. (1994)** Dictionnaire pratique de thérapeutique canine et féline. 3^{ème} Ed. Paris, Masson. 526.
- 180. Moreaux S. (1999)** L'olivier Arles: Acte Sud. 96.
- 181. Nefzaoui A. (1987)** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par la valorisation optimale des sous-produits, séminaire sur l'économie de l'olivier. Tunis, 20-22 Janvier. Science et Technique, Olivae n° 19.
- 182. Nefzaoui A. (1988)** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. In: Ed Allaya M. L'économie de l'Olivier. Options méditerranéennes. CIHEAM, Paris. 153–173.
- 183. Nuoffer J.M. (2005)** Athérosclérose et hyperlipidémies primaires –un problème de pédiatrie. 16 (6).
- 184. Olivier M. (2004)** Biochimie, bases biochimiques de la diététique Ed tec et doc. 4 :13.
- 185. Ollé M. (2002)** Direction de la concurrence .de la consommation et de répression des fraudes interrégionales de Montpellier. Dossier P3325.Technique d'analyse Vol papier n° :TA₄.
- 186. OMS. (2007)** Maladies et préventions brevet du 12/03/07.
- 187. Osborne C.A., Low D.G., Finco D.R.(1972)** Canine and Feline Urology. Philadelphia,WB Saunders . 23-84.
- 188. Pansiot F. P., Rebour H. (1961)** Improvements in Olive Cultivation. Rome: FAO.40-1.
- 189. Parthassarathy ., Khoo J.C., Miller E., Earnett J., Witzum JL., Steinberg D. (1990)** Low density lipoprotein rich in oleic acid la protected against oxidative modification: implicationa far dietary prevention ot stheroacloeroais. Proc Nati Acad Sci USA. 87 : 3894-3898.
- 190. Patureau-Mirand P., Beaufrère B., Grizard J., Obléd C., Arnal M. (2001)** Protéines et acides aminés. In : Apports nutritionnels conseillés. Paris : Tec et Doc. Lavoisier. 37-62.
- 191. Pereira J.A., Ferreira I.C.F.R.,Barros L.,Elisa Soares M.,Lourdes BastosM.(2007)** Antioxidant activity and phenolic content of Olea europaea L. Leaves sprayed with different copper formulations.food Chemistry.103 :180-195.
- 192. Piers L.S., Walker K.Z., Stoney R.M., Soares M.J., O'Dea K. (2003)** Substitution of saturated with monounsaturated fat in a 4- week diet affects body

I.1.3. Indice d'acide I_A :

- **Mode opératoire :**

L'acidité est déterminée par la méthode titrimétrique en utilisant une solution d'hydroxyde de potassium éthanolique à 0,1N.

-peser 0,5g d'huile.

-Les dissoudre dans 20ml d'éthanol ou de mélange éthanol/n-butanol(v/v).

-Mettre d'autre part dans un récipient témoin la même quantité du même solvant.

-Ajouter 03 gouttes de la solution éthanolique de phénophtaléine à 1% dans chaque récipient (échantillon et témoin).

-Titre chaque essai par une solution de potasse alcoolique à 0,1N.

L'indice d'acide est donné par la formule suivant :

$$I_A = (V_1 - V_0) \times M \times N \times f / m$$

V_1 : volume en ml de potasse alcoolique utilisé pour neutraliser les acides libres de la prise d'essai.

V_0 : volume en ml de potasse alcoolique utilisé pour le témoin.

M : masse molaire de KOH : 56,11g/mole.

N : normalité de la solution de potasse : 0,1N.

m : masse de la prise d'essai.

f : facteur de correction de la normalité de la solution de potasse.

I.1.4 Acidité : (Afnor, 1984).

$$\text{Acidité} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m} \text{ où :}$$

V : volume en ml de la solution titrée de KOH utilisé,

C : concentration exacte, en moles /litre, de la solution titrée de KOH utilisé,

M : poids molaire, en g/mole, de l'acide adopté pour l'expression du résultat (= 282),

m : prise d'essai en grammes.

I.1.5. Indice de saponification I_s :

- **Mode opératoire :**

-prendre 02 ballons à fond plat de 250ml.

-dans l'un peser 0,5 g à 1 g d'huile. Ajouter 10ml de la potasse alcoolique à 0,5 N.

-Dans l'autre, qui servira de témoin, placer seulement 10ml de la même solution de potasse mesurée exactement (à la pipette).

-Fermer chaque récipient avec un bouchon muni d'un long tube de verre et chauffer sur le même bain marie pendant 30min.

-Laisser refroidir et ajouter dans chaque récipient 2 ml d'eau distillée, si la solution qui contient l'ester se trouble, c'est qu'il reste de l'ester non saponifier (l'ester est en effet soluble dans l'eau)

-Ajouter exactement (avec la pipette) 10ml de potasse alcoolique à 0,5 N dans chaque récipient et remettre une demi-heure au bain marie.

-Laisser refroidir et ajouter à titre de sécurité 2ml d'eau distillée dans chaque récipient.

-Si le contenu du récipient ne se trouble plus par addition d'eau, ajouter 03 gouttes de phénophtaléine.

-Titrer par HCL à 0,5N.

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$I_s = (V_0 - V_1) \times M \times N \times f / m$$

V_0 : volume en ml de la solution d'acide chloridrique HCl à 0,5 N utilisé pour le témoin.

V_1 : volume en ml de la solution d'acide chloridrique HCl à 0,5N utilisé pour la prise d'essai.

M : Masse Molaire de KOH : 56,11 g/mole.

N : Normalité de la solution de potasse : 0,5N.

m : masse de la prise d'essai.

f : facteur de correction de la normalité de la solution de HCl.

I.1.6. Indice d'iode :

$$I_i = (\% \text{ acide palmitoleique} \times 1,001) + (\% \text{ linolenique} \times 2,737) + (\% \text{ oléique} \times 0,899) + (\% \text{ linoléique} \times 1,814).$$

II.1. Dosage des polyphénols totaux :

- **Mode opératoire :**

-Une quantité de 2 grammes d'huile a été pesée et solubilisée avec 1 ml de n-hexane et 2 ml de méthanol/l'eau (v/v, 60/40) dans un tube à centrifuger.

-L'ensemble est agité à son tour au vortex pendant 2 min.

-Le volume total subit une séparation par centrifugation à 3000tour/min.

-Les surnageants (phase n-hexane) vont subir 3 extractions successives à fin d'extraire le maximum, tout en répétant le processus de centrifugation.

-Les parties résiduelles récupérées sont lavées par le n-hexane et évaporé à sec sous pression réduite à température de 35°C.

-Le résidu obtenu après est dissout dans 5 ml d'eau distillée, puis 100µl de cette solution mère est dilué jusqu'à 3ml. Ensuite ajouté 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu.

-Laisser réagir pendant 3 minutes. Après, ajouter 2 ml de carbonate de sodium à 20%

-Vortexer le mélange et laisser incuber à l'obscurité pendant 1 heure.

-Lire l'absorbance à 650nm.

Pour chaque série de détermination, une gamme d'étalonnage est nécessaire, une solution mère (SM) de pyrocatéchol de concentration 0.015g/l (15mg/l).

-A partir de cette solution mère préparer des dilutions de différentes concentrations

-Prendre 3 ml de chaque concentration (2 essais pour chaque concentration) et ajouter 0,5 ml du réactif Folin Ciocalteu.

-Laisser réagir pendant 3 min.

-Après, ajouter 2 ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 20%.

III.DETERMINATION DES PARAMETRES GLYCEMIQUES, LIPIDIQUES ET PROTEIQUES

III.1. Dosage de glucose (Trinder et coll., 1969).

Réactifs utilisés :

- Kits BioSystems S.A.Costa Brava 30, Barcelona(Spain)
- Réactif/ : prêt à l'emploi (conservé à 2-8°C)
 - 100mmol/l Phosphate.
 - 5mmol/l phénol
 - >10U/ml glucose oxydase
 - >1U/ml peroxydase
 - 0.4 mmol/l 4-aminoantipyrine
 - pH à 7,5
- S.Etalon de Glucose/Urea/Creatinine : prêt à l'emploi. (Conservé à 2-8°C)
 - 100mg/dl Glucose
 - 50mg/dl urée
 - 2mg/dl Créatinine.
- **Mode opératoire :**
 - Pipeter dans des tubes à essais

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon(S)	–	10µl	–
Echantillon	–	–	10µl
Réactif (A)	1,0 ml	1,0ml	1,0ml

- Bien agiter et incuber les tubes pendant 15 minutes à température ambiante (16-25°C) ou pendant 5minutes à 37°C.
- Lire l'absorbance (A) de l'étalon et de l'échantillon face au blanc à 500nm.
- Calculs.

$$[C]_{\text{Echantillon}} = A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Etalon}} \times 100 \text{ mg/dl}$$

III.3. Dosage des triglycérides (Bucolo et al., 1973 ; Fossati et al., 1982)

Réactifs utilisés :

- Kits BioSystems S.A. Costa Brava 30, Barcelona (Spain)
- Réactif: prêt à l'emploi (conservé à 2-8°C)
 - 45mmol/L pipes
 - 5mmol/L chlorure de magnésium.
 - 6mmol/L 4-chlorophénol
 - >100 U/ml Lipase
 - >1,5 glycerol Kinase
 - >4U/ml glycérol3-phosphate oxydase
 - >0,8U/ml Peroxydase
 - 0,75mmol/L 4' Aminoantipyrine
 - 0,9 mmol/L ATP
 - pH à 7
- S. Etalon prêt à l'emploi (conservé à 2-8°C)
 - Glycerol equivalent à 200mg/dl (2.26mmol/L) de trioléine. Etalon primaire en solution aqueuse.
- **Mode opératoire :**

-Pipeter dans des tubes à essais :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon(S)		10µL	
Echantillon			10µL
Réactif (A)	1,0mL	1,0mL	1.0mL

-Bien agiter et incuber les tubes pendant 15 minutes à température ambiante (16-25°C) ou pendant 5 minutes à 37°C.

-Lire l'absorbance (A) de l'étalon et de l'échantillon face au blanc à 500nm.

-Calculs : $[C]_{\text{Echantillon}} = \frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Etalon}}} \times 200 \text{mg/dl}$.

III.4.dosage du cholestérol libre (Girard et Assous., 1962)

- solutions préparées :
 - acide acétique cristallisable
 - Solution de chlorure ferrique :-chlorure ferrique purifié sec 1g.
-acide acétique 100 ml.
 - Acide sulfurique concentré pur
 - Mélange d'acide acétique-acide sulfurique :-acide acétique 100 ml.
-acide sulfurique 100ml.
 - Solution d'étalonnage de cholestérol à 0,05% :-cholestérol pur à 0,025%
-acide acétique 50ml.
- Mode opératoire :

Il est nécessaire de faire un témoin pour chaque dosage et chaque étalon. Dans une série de tubes marqués D (dosage) et T (témoin).on introduit successivement :

	Gamme étalon (cholestérol en g/l)										Sérum	
	D	T	D	T	D	T	D	T	D	T	D	T
Solution d'étalonnage de cholestérol (ml)	0	0	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0	0
Sérum (ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0,1
Acide acétique (ml)	0,8	1	0,7	0,9	0,6	0,8	0,5	0,7	0,4	0,6	0,7	0,9
Solution de chlorure ferrique (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Placer tous les tubes au bain –marie à 20°C												
Mélanger l'acide acétique et l'acide sulfurique (ml)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

-Les tubes sont agités énergétiquement et sont maintenus 1 heure au bain –marie à 20°C. La lecture se fait au spectrophotomètre à 500nm.