

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT  
En Sciences

Option : Biochimie appliquée

THEME

**Caractérisation d'une huile d'olive vierge  
algérienne d'une variété cultivée dans la région de  
Skikda.**

Présentée par: Mr DJEDIOUI Abdallah

Directeur de thèse : Mme HENCHIRI Chérifa

Pr, Univ. Badji Mokhtar, Annaba

Membres de Jury:

Président : BOUTEBBA Aissa

Pr, Univ. Badji Mokhtar, Annaba

Examineurs : GRARA Nedjoud

Pr, Univ. 8 Mai 1945, Guelma

BOUDJELAL Amel

MCA, Univ. Mohamed Boudiaf, M'sila

Soutenue le 06 Décembre 2018

N° DBCH...../2018

Année universitaire : 2018/2019

## **REMERCIEMENTS**

الحمد لله الذي وفقنا لإتمام هذا العمل.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à ma directrice de thèse, Mme **HENCHIRI Chérifa** ; Professeur à l'université BADJI Mokhtar - Annaba d'avoir acceptée de diriger ce travail, je la remercie infiniment pour ses critiques constructives, pour sa patience et pour son aide tout au long de la préparation de cette thèse.

Je remercie M. **BOUTEBBA Aissa** ; Professeur à l'université BADJI Mokhtar - Annaba, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Je tiens à remercier également **GRARA Nedjoud** ; Professeur à l'université 8 Mai 1945 de Guelma , qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail .

Je tiens à remercier également Mme **BOUDJELAL Amel** ; Maitre de conférence à l'université Mohamed BOUDIAF de M'SILA, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail, ainsi que pour son aide.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus profonds à **DAHDOUH Faouzi** maitre de conférence a l'école normale supérieur d'enseignements technologiques –Azzaba-SKIKDA , ainsi **BAAROUR Chokri** Maitre de conférence à l'université Mohamed Chérif MESSAIDIA de SOUK AHRAS.

Mes profonds remerciements s'adressent à mon épouse **BOUSSADA DJALILA** Maitre de conférence à l'université BADJI Mokhtar – ANNABA- pour sa présence, son aide et son encouragement. Je ne pourrais oublier de remercier mes sœurs **Messouda** et **Nadia**, et mes frères **Ali**, **Mohamed** et **Hcen** pour leurs soutien tout au long de ce travail.

Je tiens à remercier Mme **OUAZOUAZ Meriem** Maitre de conférence à l'université BADJI Mokhtar – ANNABA- et **RAHAL Lynda** doctorante à l'université BENDJEDID Chadli –EL TAREF-.

Je tiens à remercier infiniment Mme **ATSAMENIA Hadjer** chef service du laboratoire de la société des corps gras -CGS- « LA BELLE » ANNABA pour son aide durant la réalisation des caractéristiques physicochimiques de l'huile.

Un grand merci a mon collègue **Meradji Youcef** (MPV/ SONELGAZ ANNABA) et la pharmacie **SLAMA. S** (Chaiba- Sidi Amar)

Je remercie infiniment les doctorantes : **TEBOUBE Imene**, **DERBEL Sara**, **BEKHAKECHE Manel**, **TLILIA Nafissa**, **HEROUM Imène** pour son aide au niveau de l'animalerie et durant le sacrifice des rats.

## Dédicace

*Je dédie cette thèse à :*

*La mémoire des mes chers parents*

*Ma femme « Djalila », et mes enfants"*

*Amir-eddine et Camellia"*

*Mes soeurs « Messaouda et Nadia »*

*Mes frères « Ali, Mohamed et*

*Boudjemaa –Heen- »*

*La famille de ma femme*

*Mes amis et collègues*

# SOMMAIRE

Resumé

Abstract

المخلص

Listes des tableaux et figures

Introduction.....01

## *Synthèse bibliographique*

### 1. OLIVIER

1-1 Description de l'olivier.....03

1-2 Position systématique de l'olivier.....03

• Cycles de l'olivier.....03

• Cycle végétatif annuel.....04

1-3 Description botanique.....05

1. Arbre.....05

2. Racines.....05

3. Feuilles.....06

4. Fleurs.....06

5. Fruits.....06

1-4 Répartition géographique.....07

1-4-1 Dans le monde .....07

1-4-2 En Algérie.....07

1-5 Exigences de l'olivier.....08

### 2. HUILE D'OLIVE

2-1. Définition.....09

2-2. Etapes du procédé de fabrication.....09

2-3. Classification des huiles d'olive.....11

2-4. Production mondiale et en Algérie.....12

2-5 Caractéristiques qualitatives des huiles.....14

2-5-1. Caractéristiques physico-chimiques.....14

2-6 Composition des huiles d'olive.....	15
2-6-1 Les composés majeurs	
• <i>Les acides gras</i> .....	16
• <i>Les triglycérides</i> .....	17
2-6-2 Les composés mineurs	
2-6-2-1. <i>Les composés phénoliques</i> .....	19
2-6-2-2. <i>Les tocophérols</i> .....	21
2-6-2-3. <i>Les composés aromatiques</i> .....	21
2-6-2-4. <i>Les pigments</i> .....	23
• Les chlorophylles.....	23
• Les caroténoïdes.....	23
• Stérols.....	24
2-7 Les effets associés à l'huile d'olive.....	24

## *Matériel et Méthodes*

1- Choix et présentation de la zone d'étude.....	27
1-1 Localisation géographique.....	27
1-2 Climat.....	28
2- Matériel végétal.....	29
2-1 Choix de la variété.....	29
2-2 Choix du verger et échantillonnage.....	29
2-3 Identification de la variété .....	29
2-3-1 Caractérisation morphologique.....	29
3- Détermination des caractéristiques physicochimiques.....	31
3-1. Acidité libre.....	31
3-2 Indice de peroxyde.....	32
3-3 Indice de saponification.....	33
3-4 La couleur.....	34
3-5 La teneur en eau et en matière volatile.....	34
3-6 Détermination des phosphatides.....	35
3-7 Détermination des mucilages.....	36

4	Extraction de l'huile.....	36
5	Composition biochimique.....	37
5-1	composition en acide gras.....	37
5-2	. composition en composé mineurs.....	38
5-2-1	Détermination des Polyphénols totaux.....	38
5-2-2	Détermination des Caroténoïdes.....	40
5-2-3	Détermination des Chlorophylles.....	40
6	Activités biologiques.....	41
6-1	Activité antioxydante.....	41
6-2	Activité antibactérienne.....	42
6-3	Activité antidiabétique.....	45
6-3-1	Animaux et régime.....	45
6-3-2	Induction du diabète.....	45
6-3-3	Protocole expérimental.....	46
6-3-4	Analyse des paramètres sanguins.....	46
6-3-5	Analyse statistique des résultats.....	48

### *Résultats et discussion*

1-	Caractérisation morphologique de la variété « Rougette ».....	49
1-1	Identification de la variété.....	49
1-2	Détermination des caractéristiques physicochimiques .....	50
•	Indice d'acidité.....	51
•	Indice de peroxyde.....	51
•	Indice de saponification.....	52
•	Humidité.....	52
•	Couleur.....	52
•	Phosphatides .....	52
•	Mucilage.....	53
2	Composition en acides gras de l'huile d'olive.....	53
2-1	Acides gras.....	53
2-2	composés mineurs.....	55

3	Activités biologiques.....	56
	3-1 Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile (Test au DPPH).....	56
	3-2 Activité antibactérienne.....	57
	3-2-1 Résultats de la détermination de la CMI sur milieu gélosé.....	57
	• Effet de l'huile d'olive sur les bactéries cocci à Gram positif.....	57
	• Effet de l'huile d'olive sur les bactéries à Gram négatif.....	57
	3-2-2 Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive par la méthode de diffusion sur disque.....	59
	• Effet de l'huile d'olive sur les bactéries cocci à Gram positif.....	59
	• Effet de l'huile d'olive sur les bactéries à Gram négatif.....	60
	3-3 Activité antidiabétique.....	61
	3-3-1 Effets de l'huile d'olive sur certains paramètres biologiques.....	61
	3-3-2 Analyse des paramètres sanguin.....	65
	3-3-3 Impact de l'huile d'olive sur le profile lipidique.....	70
	• Dosage du cholestérol total.....	70
	• Dosage des triglycérides.....	71
	• Dosage HDLc.....	73
	Conclusion.....	74
	Annexe	
	publication	

---

## RESUME

L'objectif de cette étude est de déterminer les caractéristiques morphologiques et physico-chimiques de notre huile d'olive de la variété locale «Rougette» ces caractéristiques sont : (acidité libre, indice de peroxyde, indice de saponification...etc) ces caractéristiques sont aux normes selon le **C.O.I** et qui classe parmi les huiles extra vierge ; ainsi la composition biochimique « composition en acides gras, détermination des polyphénols totaux, caroténoïdes et des chlorophylles », des activités biologiques ont été réalisées « activité antioxydante, activité antibactérienne et l'activité antidiabétique »,

Pour cela, des rats mâles albinos Wistar ont été divisés au hasard en 4 groupes. Les rats ont été rendus diabétiques par injection de streptozotocine. Tous les groupes ont reçu un régime standard de rongeurs. Groupe 1: le contrôle n'a reçu que ce régime, les deux groupes (2,4): non diabétiques et diabétiques ont reçu 2 ml d'huile d'olive extra vierge à jeun pendant 38 jours, groupe 3: diabétique non traité. À la fin de l'expérience, les poids corporels, la glycémie à jeun et le profil lipidique ont été mesurés.

Les résultats ont montré une augmentation du poids corporel, une diminution significative de la glycémie à jeun et des triglycérides (TG), une augmentation hautement significative des lipoprotéines de haute densité (HDL) et une diminution du cholestérol total (TC) chez les rats diabétiques. groupe traité avec de l'huile d'olive extra vierge (EVOO) par rapport au groupe diabétique non traité. Chez les rats témoins et en bonne santé traités avec de l'huile d'olive, aucune différence significative n'a été observée.

Pour déterminer l'activité antioxydante nous avons réalisés le test DPPH qui est un test simple, rapide avec une sensibilité et reproductibilité élevés, nous résultats sont remarquables et Cette activité antioxydante de l'huile d'olive serait due à sa richesse en antioxydants notamment en composés phénoliques qui peuvent exercer un effet antioxydant important. alors que pour les activités antibactériennes s'est avéré être que l'huile d'olive un bon agent antimicrobien vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase négatif et *Escherichia coli* ATCC 25922 avec un diamètre d'inhibition de 16 en comparaison avec d'autres souches bactérienne.

Mots clés: Diabète induit, profil lipidique, huile d'olive, Antioxydants, antibactérienne .

---



---

## ABSTRACT

The objective of this study is to determine the morphological and physicochemical characteristics of our olive oil of the local variety "Rougette" these characteristics are: (free acidity, peroxide index, saponification index ... .etc) these characteristics are according to I.O;C standards and which ranks among extra virgin oils; thus the biochemical composition "composition of fatty acids, determination of total polyphenols, carotenoids and chlorophylls", biological activities were carried out "antioxidant activity, antibacterial activity and antidiabetic activity",

For this, male Wistar albino rats were randomly divided into 4 groups. The rats were made diabetic by injection of streptozotocin. All groups received a standard rodent diet. Group 1: the control only received this diet, both groups (2,4): non-diabetic and diabetic received 2 ml of extra virgin olive oil fasting for 38 days, group 3: untreated diabetic . At the end of the experiment, body weights, fasting glucose, and lipid profile were measured.

The results showed an increase in body weight, a significant decrease in fasting blood glucose and triglycerides (TG), a highly significant increase in high density lipoprotein (HDL) and a decrease in total cholesterol (TC) in diabetic rats. . group treated with extra virgin olive oil (EVOO) compared to the untreated diabetic group. In control and healthy rats treated with olive oil, no significant differences were observed.

To determine the antioxidant activity we have carried out the DPPH test which is a simple, rapid test with a high sensitivity and reproducibility, we are remarkable results and this antioxidant activity of olive oil is due to its high antioxidant content especially in phenolic compounds that can exert a significant antioxidant effect.

whereas for the antibacterial activities turned out to be that olive oil a good antimicrobial agent to *Klebsiella pneumoniae carbapénémase négative* and *Escherichia coli* ATCC 25922 with an inhibition diameter of 16 in comparison with other bacterial strains.

**Key words:** Induced diabetes, lipid profile, olive oil, Antioxidants, antibacterial

---

## الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الخصائص المرفولوجية الفيزيائية والكيميائية لزيت الزيتون من الصنف المحلي "روجيت" مثل (الحموضة الحرة، البيروكسيد، رقم التصبن ... الخ) هذه الخصائص مطابقة وفقا لمعايير والتي تصنف زيت الزيتون من بين الزيوت البكر الإضافية؛ واما في ما يخص المكونات البيوكيميائية "مكونات الأحماض الدهنية، وتحديد البوليفينول الكلي، الكاروتينات والكلوروفيل" تم تنفيذ الأنشطة البيولوجية من "النشاط المضاد للأكسدة، مضاد للجراثيم والنشاط المضاد السكري"

لهذا ، تم تقسيم الفئران الذكور من نوع الويستر عشوائيا إلى 4 مجموعات. كانت الفئران مصابة بالسكري عن طريق حقن الستيروبوتوزوتوسين. حصلت جميع المجموعات على نظام غذائي قياسي للقوارض. المجموعة 1: تلقت الماء والغذاء فقط اما المجموعتين (2،4): غير المرضى بالسكري و المرضى السكري تلقوا "2 مل" من زيت الزيتون البكر الممتاز لمدة 38 يوما، مجموعة 3: الفئران المريضة بالسكري . في نهاية التجربة ، تم قياس أوزان الجسم ، الجلوكوز الموجود في الدم ، والشحوم.

أظهرت النتائج زيادة في وزن الجسم، وانخفاض ملحوظ في مستوى السكر في الصيام والدهون الثلاثية ، وهي زيادة كبيرة جدا في البروتين الدهني عالي الكثافة، وانخفاض في الكوليسترول الكلي في المصابة بداء السكري . في نهاية التجربة لم نسجل أي تغيير للمجموعة السليمة

لتحديد النشاط المضاد للأكسدة الذي أحرزناه اختبار DPPH

هو اختبار بسيط وسريع مع حساسية ومردودية عالية ، وتحصلنا على نتائج ملحوظة ويرجع هذا النشاط المضاد للأكسدة من زيت الزيتون لغناها بمضادات الأكسدة بما في ذلك مركبات الفينول التي يمكن أن تمارس تأثير مضاد للأكسدة.

في حين لأنشطة مضادة للجراثيم ثبت أن زيت الزيتون يعتبر من المضادات للجراثيم الجيدة وخاصة ضد كليبسيلا الرئوية كاربابيميناز السالب و ايشيريشيا كولي بقطر تثبيط 16 مقارنة مع غيرها من السلالات البكتيرية

الكلمات المفتاحية: داء السكري المستحث ، الملف الدهني ، زيت الزيتون ، مضادات الأكسدة ، مضاد للجراثيم

## LISTE DES FIGURES

N°	TITRE	PAGE
<b>01</b>	cycle végétatif annuel de l'olivier	<b>05</b>
<b>02</b>	Les composants de l'olivier	<b>06</b>
<b>03</b>	Évolution de la production mondiale	<b>14</b>
<b>04</b>	Réaction de formation des triglycérides	<b>18</b>
<b>05</b>	Les sécoïridoïdes de l'olive, des feuilles et de l'huile.	<b>19</b>
<b>06</b>	formules de quelques alcools, acides phénols et flavonoïdes	<b>20</b>
<b>07</b>	Les lignanes de l'huile d'olive	<b>21</b>
<b>08</b>	Structure chimique des composés volatiles majoritaires	<b>22</b>
<b>09</b>	Carte générale de la wilaya de Skikda	<b>27</b>
<b>10</b>	Zone d'étude	<b>28</b>
<b>11</b>	caractéristiques morphologiques de la feuille d'olivier ; de l'olive .	<b>30</b>
<b>12</b>	Système continu d'extraction avec centrifugation	<b>36</b>
<b>13</b>	photos montrant l'extraction d'huile avec la méthode traditionnelle	<b>37</b>
<b>14</b>	Protocole suivi pour le dosage des composés phénoliques	<b>39</b>
<b>15</b>	Protocole expérimental	<b>47</b>
<b>16</b>	photo montrant des feuilles et les fruits Rougette de Kerkera	<b>50</b>
<b>17</b>	Antibiogramme des souches de <i>S.aureus</i> ATCC 43300	<b>60</b>
<b>18</b>	suivi des poids corporels pendant la période d'expérimentation.	<b>62</b>
<b>19</b>	glycémies durant la période d'expérimentation.	<b>66</b>
<b>20</b>	comparaison des moyennes des glycémies à jeun.	<b>68</b>
<b>21</b>	évaluation des taux de cholestérol (CL) (mg/dl)	<b>71</b>
<b>22</b>	évaluation des taux de triglycérides (TG) (mg/dl).	<b>72</b>
<b>23</b>	évaluation des taux d' HDLc (mg/dl)	<b>73</b>

## LISTE DES TABLEAUX

N°	TITRE	PAGE
<b>I</b>	cycle végétatives de l'olivier	<b>04</b>
<b>II</b>	Classification des huiles	<b>15</b>
<b>III</b>	Composition en acide gras d'une huile d'olive	<b>17</b>
<b>IV</b>	composition stérolique des huiles d'olive	<b>24</b>
<b>V</b>	Caractéristiques morphologiques de la variété d'olivier	<b>49</b>
<b>VI</b>	Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive « Rougette ».	<b>50</b>
<b>VII</b>	composition en acides gras de l'huile	<b>53</b>
<b>VIII</b>	composition en composés mineurs de l'huile vierge de la variété Rougette	<b>55</b>
<b>IX</b>	Valeurs de l'effet de l'huile d'olive sur les Cocci à Gram positif	<b>57</b>
<b>X</b>	Valeurs de l'effet de l'huile d'olive sur les entérobactéries à lactose positif.	<b>58</b>
<b>XI</b>	Valeurs de l'effet de l'huile d'olive sur les entérobactéries à lactose négatif.	<b>58</b>
<b>XII</b>	Valeurs de l'effet de l'huile testée sur les entérobactéries à lactose négatif.	<b>59</b>
<b>XIII</b>	Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des Cocci à Gram positif traités par l'huile d'olive.	<b>59</b>
<b>XIV</b>	Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des entérobactéries à lactose positif traité par l'huile d'olive.	<b>61</b>
<b>XV</b>	Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des entérobactéries à lactose négatif traité par l'huile d'olive	<b>60</b>
<b>XVI</b>	Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des bacilles à Gram négatif non entérobactérie traité par l'huile d'olive.	<b>61</b>
<b>XVII</b>	poids relatifs des organes (foie et reins)	<b>64</b>
<b>XVIII</b>	variation de la glycémie	<b>66</b>

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**A.H. A** : American Heart Association

**C.O.I.** : Conseil oléicole international

**CNUCED** : Conférence des Nations Unies sur le Commerce Et le Développement

**DIAB**: lot des rats diabétiques

**DIABO** : lot des rats diabétique reçoit 02 ml d'huile d'olive

**FAO** : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

**HDL** : high density lipoprotein

**H.O**: huile d'olive

**H.O.E.V**: huile d'olive extra vierge

**LDL** : low density lipoprotein

**NDIABO**: lot des rats non diabétique reçoit 02 ml d'huile d'olive

**STZ** : streptozotocine

**TC** : cholestérol total

**TG** : triglycéride

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

L'olivier (*Olea europaea L*) est un arbre qui se trouve autour du bassin méditerranéen et appartient à la famille des oléacées, caractérisé par son fruit, l'olive et une huile issue de celui-ci. L'huile d'olive est riche en acides gras monoinsaturés, représenté majoritairement par l'acide oléique C18 :1 ω9, et en composés mineurs tels que les tocophérols, composés phénoliques, stérols et composés aromatiques (**Ghedira, 2008**).

Il est important de signaler que l'huile d'olive « vierge extra » est la seule huile possédant de telles vertus car elle est issue directement de la pression du fruit, sans raffinage ni lavage. Elle conserve donc les qualités nutritionnelles propres de l'olive et ces composants tels que les polyphénols (**Doveri et al., 2007**).

L'huile d'olive présente essentiellement des propriétés antioxydantes, antihypertensive, antiagrégantes plaquettaires responsables d'effets préventifs des maladies cardiovasculaires (**Ghedira, 2008**).

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (**Drouin et al., 1999**).

Le traitement du diabète est de cibler le contrôle glycémique normal que possible tout en évitant l'hypoglycémie. Le glimépiride, sulfonylurée orale, indiqué pour le traitement du diabète de type 2, agit en stimulant la libération de l'insuline dans les cellules β des îlots pancréatiques. Cette action n'est pas dépendante du glucose, elle peut entraîner une hypoglycémie. La stimulation se produit en fermant les canaux potassiques de la membrane cellulaire β, permettant l'ouverture des canaux calcium et l'entrée du calcium dans la cellule, stimulant ainsi la sécrétion d'insuline. Le glimépiride augmente également le nombre de molécules actives de transport du glucose, la sensibilité du tissu extra-pancréatique (adipocytes, myocytes) est alors augmentée et la vitesse d'action du glucose a ralenti. Enfin, il diminue l'absorption d'insuline par le foie en inhibant la gluconéogenèse (**Davis SN., 2004**).

De nombreux antioxydants naturels sont utilisés dans le traitement du diabète. Chez des patients diabétiques, ils réduisent les effets néfastes dus au stress oxydant et aux radicaux libres (**Lean et al., 1999 ; Asgary et al., 2002**).

L'huile d'olive est riche en antioxydants qui fait partie du régime méditerranéen considéré par de nombreuses études qui ont montré qu'il joue un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires, (**Martinez-Gonzalez et al., 2004 ; Estruch et al., 2006**). Certains auteurs suggèrent également qu'il pourrait protéger contre le diabète. Les caractéristiques de protection comprennent un apport élevé en fibres (**Schulze et al., 2007**) et l'utilisation abondante d'huile d'olive vierge, (**Perez-Jimenez et al., 2005**). Les diètes riches en acides gras monoinsaturés améliorent les profils lipidiques et le contrôle glycémique chez les personnes atteintes de diabète, suggérant qu'une consommation élevée de ces diètes, améliore la sensibilité à l'insuline (**Ros, 2003; Paniagua et al., 2007**).

De même, d'auteurs suggèrent que la consommation de l'huile d'olive vierge jouerait un rôle dans la baisse de la glycémie chez des diabétiques.

Pour notre part, nos objectifs d'étude sur une huile issue d'une variété d'olivier locale «Rougette», cultivé à l'Est Algérien, dans la région Kerkera wilaya de Skikda et de déterminer les caractéristiques physico-chimiques (acidité libre, indice de peroxyde, indice de saponification....etc) ; ainsi la composition biochimique (composition en acides gras, détermination des polyphénols totaux, caroténoïdes et des chlorophylles).

Des activités biologiques ont été réalisées « activité antioxydante, activité antibactérienne et l'activité antidiabétique»

Notre thèse est divisé en :

- Une partie « synthèse bibliographique » qu'on décrit l'olivier et l'huile d'olive et ses bienfaits sur la santé ;
- Une partie : « matériels et méthodes » où sont décrites les méthodes et les techniques utilisées dans ce travail.
- Une partie « résultats et discussion » qui résume les résultats obtenues de notre partie expérimental et leur discussion à la lumière d'une bibliographie récente.

Et à la fin une conclusion générale et des perspectives.



**SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. OLIVIER

### 1-1 Description de l'olivier

L'olivier est un arbre cultivé, appartient à la famille des Oléacées comme le Lilas, la troène, le jasmin et le frêne (Breton et al., 2006). L'olivier est un arbre à feuillage persistant, qui peut atteindre une taille adulte d'un maximum de 15 mètre et une propagation de 9 mètre. L'olivier a une longévité qui dépasse de très loin celle du cèdre, sa durée de vie dépasse généralement plus de 500 ans, certains arbres âgés de plus de 2.000 ans ont été enregistrés (Bartolini et al., 2008). Dans les meilleures conditions, après plantation, les fruits n'apparaissent qu'après la septième année (Avenard., 2008).

### 1-2 Position systématique de l'olivier : (Cronquist.A., 1988)

Noms vernaculaires de l'olivier	Systématique
Arabe : <u>chajaret azzeitoun (zeitouna) شجرة الزيتون</u>	Embranchement : <u>Magnoliophyta</u>
Français : <u>olivier (olive)</u>	Sous embranchement : <u>Magnoliophytina</u>
Anglais : <u>olivetree (olive)</u>	Classe : <u>Magnoliopsida</u>
Espagnol : <u>olivo (aceituna)</u>	Sous classe : <u>Asteridae</u>
Italien : <u>ulivo (olivo)</u>	Ordre : <u>Scrophulariales</u>
Portugais : <u>oliveira (azeitona)</u>	Famille : <u>Oleaceae</u>
Allemand : <u>Olbaum (Olive)</u>	Genre : <u>OleaL.</u>
	Espèces : <u>Oleaeuropaea L.</u>
	Sous-espèces : <u>Oleaeuropaea L. ssp. SativaHoffm. et Link (=O. europaea L. ssp. Europaea),</u>
	<u>Oleaeuropaea L. ssp. OleasterHoffm.e Link (=O. europaea L. ssp.</u>

#### ❖ Cycles de l'olivier

Dans la vie de l'olivier on peut distinguer quatre grandes périodes. Selon Millard ( Millard r., 1975), ces périodes suivent les conditions suivantes:

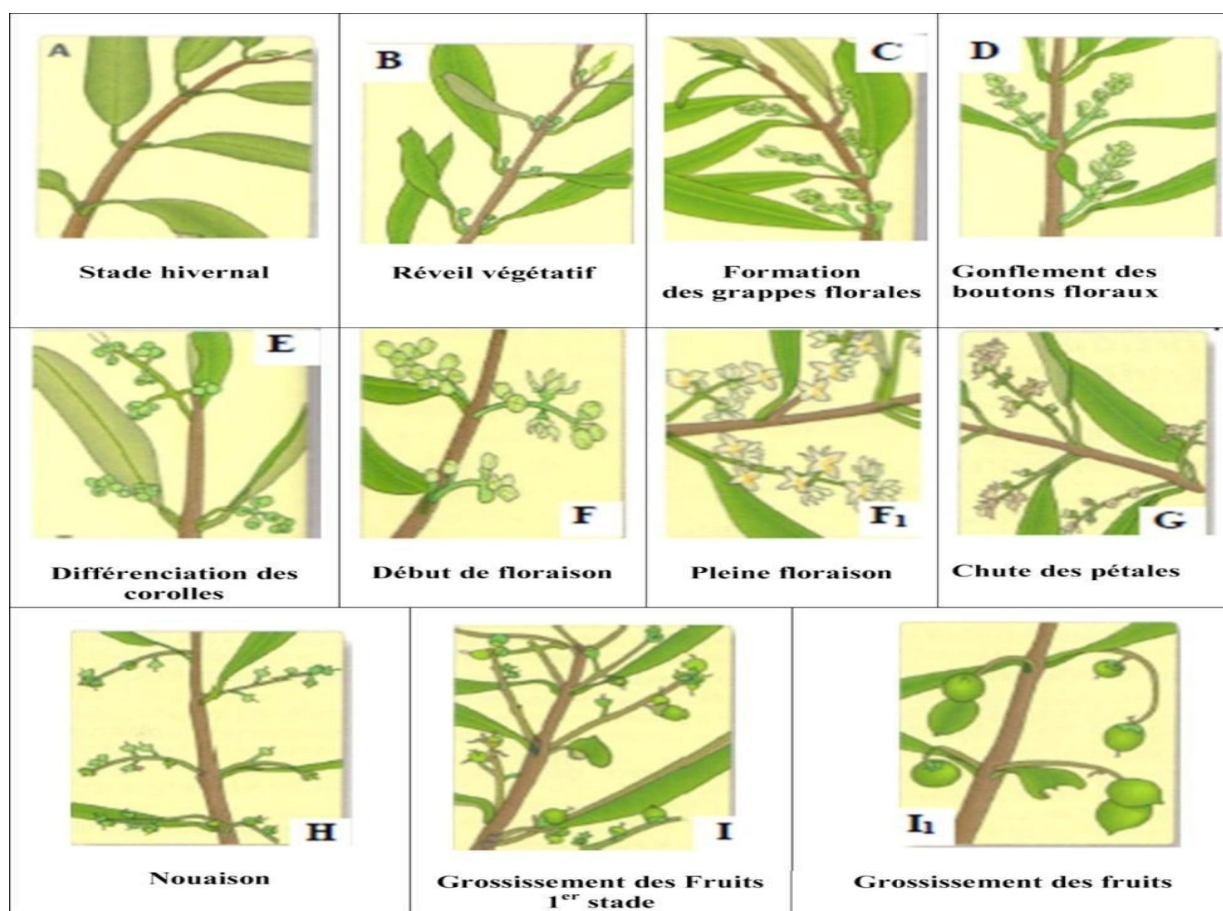
- **période de jeunesse** : de 1à7 ans ; installation improductives.
- **période d'entrée en production** : de 7à 35 ans ; croissance avec augmentation progressive de la production.
- **période adulte** : de 35à 150 ans ; maturité et plaine production.
- **période de sénescence** : au de-là de 150 ans ; sénescence, rendement décroissants et inconstants, alternance marquée des récoltes, réduction progressive de la charpente.

- **Cycle végétatif annuel**

Le cycle biologique de l'olivier est caractérisé par le chevauchement de deux fonctions physiologique qui sont la floraison et la fructification de l'année en cours qui se manifestent sur les rameaux d'un an ainsi la croissance végétative de nouvelles ramifications qui naissent sur les rameaux d'un an ou sur d'autres rameaux d'âges différents (**Boulouha, 1995**) (**Tableau I, Figure 1**).

**Tableau I** : cycle végétatives de l'olivier

Phases Végétatives	Début	Durée	Manifestations
Repos végétatif	décembre-janvier	1-3 mois	Activité germinative arrêtée ou ralentie.
Induction florale	février	.	Les fruits se développeront sur le bois poussé l'année précédente (> taille).
Reprise de la végétation	fin février	20-25 jours	Émission d'une nouvelle végétation de couleur claire.
Apparition de boutons floraux	mi-mars	18-23 jours	Inflorescences de couleur verte, blanchâtres à maturité.
Floraison	de début mai à mi-juin	7 jours	Fleurs ouvertes et bien apparentes, pollinisation et fécondation.
Fructification	fin mai-juin	.	Chute des pétales, hécatombe précoce des fleurs et des fruits.
Développement des fruits	seconde moitié de juin	3-4 semaines	Fruits petits mais bien apparents.
Durcissement du noyau	Juillet	7-25 jours	Fin de la formation des fruits devenant résistants à la coupe et à la section.
Croissance des fruits	Août	1,5-2 mois	Augmentation considérable de la taille des fruits et apparition des lenticelles.
Début de maturation	de mi-octobre à décembre	.	Au moins la moitié de la surface du fruit vire du vert au rouge violacé.
Maturation complète	de fin octobre à décembre	.	Fruits avec une coloration uniforme violette à noire.



**Fig. 1:** cycle végétatif annuel de l'olivier (Argenson et al, 1999).

### 1-3 Description botanique

#### 1-3-1. Arbre : aspect général

Très rameux, au tronc noueux, au bois dur et dense, à l'écorce brune crevassée, il peut atteindre quinze à vingt mètres de hauteur, et vivre plusieurs siècles. Les oliviers cultivés sont maintenus à une hauteur de trois à sept mètres afin de faciliter leur entretien et la récolte des fruits.

#### 1-3-2. Racines

Lors de la germination du noyau, le jeune plant développe une racine pivotante. Puis en croissant, l'olivier développe un système racinaire essentiellement peu profond 60 à 100 cm à développement latéral, dont les racines principales débordent peu l'aplomb du feuillage, alors que les racines secondaires et les radicelles peuvent explorer une surface de sol considérable. Le chevelu racinaire se limite en général au premier mètre de sol et est particulièrement développé dans les zones plus humides. Au-delà du premier mètre poussent des racines permettant l'alimentation de l'arbre en cas de sécheresse.

### 3. Feuilles

Les feuilles sont opposées, ovales allongées, portées par un court pétiole, coriaces, entières, enroulées sur les bords, d'un vert foncé luisant sur la face supérieure, et d'un vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure.

Le feuillage est persistant, donc toujours vert ; elles vivent en moyenne trois ans puis jaunissent et tombent, principalement en été. C'est grâce à sa feuille que l'olivier peut survivre en milieu aride.

### 4-Fleurs

Les fleurs sont blanches avec un calice, deux étamines, une corolle à quatre pétales ovales, et un ovaire de forme arrondie qui porte un style assez épais et terminé par un stigmate. Cet ovaire contient deux ovules. Les fleurs sont regroupées en petites grappes de dix à vingt, poussant à l'aisselle des feuilles au début du printemps sur les rameaux âgés de deux ans.

### 5- Fruits

Le fruit, l'olive est une drupe, dont la peau (épicarpe) est recouverte d'une matière cireuse imperméable à l'eau (la pruine), avec une pulpe (mésocarpe) charnue riche en matière grasse stockée durant la lipogenèse, de la fin août jusqu'à la véraison. D'abord vert, il devient noir à maturité complète. Le noyau très dur, osseux, est formé d'une enveloppe (endocarpe) qui se sclérifie l'été à partir de la fin juillet, et contient une amande avec deux ovaires, dont l'un est généralement stérile et non-fonctionnel.



**Fig 2** : les composants de l'olivier (Racines, feuilles, fleurs et fruits)

## 1-4 Répartition géographique

L'olivier est originaire des régions tropicales et chaudes, en particulier les zones côtières de la Méditerranée orientale, du Liban, parties maritimes de l'Asie Mineure, et le Nord de l'Iran jusqu'à l'extrémité sud de la mer Caspienne (FAO, 2013).

### 1-4-1 Dans le monde

La culture de l'olivier était utilisée depuis l'antiquité pour l'obtention d'olives et d'huiles d'olive.

L'oléiculture est concentrée dans la région méditerranéenne; avec 98% des oliviers assurant 90% de la production mondiale d'huile d'olives.

Le patrimoine mondial est évalué à 900 millions d'arbres avec des densités qui varient entre 17 à 400 arbres/ha (C.O.I., 2005)

Actuellement, on recense des centaines de variétés dans chacun des principaux pays oléicoles méditerranéens où sont encore cultivées de très anciennes variétés (Loussert et Brousse., 1978 ; Barranco et Rallo., 2005 ; Idrissi. A et Ouazzani. N., 2006).

Les variétés d'olivier se divisent en trois catégories :

- Les variétés à huile sont principalement destinées à l'extraction de l'huile et sont caractérisées par un rendement variable mais normalement non inférieur à 16- 18 %.
- Les variétés de table sont les variétés dont les fruits sont destinés à la consommation directe.
- Les variétés à double aptitude sont celles qui peuvent être utilisées tant pour l'extraction de l'huile que pour la production d'olives de table.

### 1-4-2 En Algérie

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus favorable à la culture de l'olivier où il constitue une des principales essences fruitières à l'échelle nationale (Benderradji et al., 2007 ; Babouche et Kellouche, 2012).

L'oléiculture algérienne est constituée d'environ 32 millions d'arbres (Bensemmane, 2009 ; Mendil, 2009), répartie sur une superficie d'environ 328.884 hectares (F.a.o.stat, 2013) soit 34,09% du verger arboricole national.

Selon **Chaux**, il se concentre notamment dans trois principales régions : la région du Centre (54%), la région de l'Est (29%) et la région de l'Ouest (17%).

Pour la région centre, l'essentiel du verger oléicole de cette zone (95%) est occupé par les wilayas de Béjaïa, Tizi-Ouzou et Bouira. Les wilayas de Guelma, Sétif, Jijel et Skikda détiennent (68%) du verger oléicole de la région Est ; et enfin, la région Ouest représente (71% ) du verger, est occupé par les wilayas de Mascara, Sidi Bel abbés, Rélizane et Tlemcen. Ces dernières années l'oléiculture a connue une extension très significative dans les régions sahariennes (El oued et Biskra).

### 1-5 Exigences de l'olivier

L'olivier craint l'humidité, mais supporte par contre des sécheresses exceptionnelles (apport de trente à quarante litres d'eau, une à deux fois en juillet et aout, et seulement la première année après la plantation et 450 et 600 mm/an, la production est possible à condition que le sol ait des capacités de rétention en eau suffisantes, ou que la densité de la plantation soit plus faible).

Les fortes hygrométries, la grêle et les gelées printanières sont autant de facteurs défavorables à la floraison et à la fructification.

les zones de plus grande diffusion de l'olivier sont caractérisées par des hivers doux, des températures rarement inférieures à 0o C et des étés secs avec des températures élevées soulignent que les sols les plus aptes pour l'olivier sont ceux caractérisés par un équilibre entre sable, limon et argile.

Les sols majoritairement sableux ont une faible capacité de rétention de l'eau et des minéraux mais permettent une bonne aération du terrain et constituent un avantage pour l'olivier lorsque l'eau est disponible, à condition qu'une fertilisation pertinente soit assurée pour satisfaire les exigences nutritionnelles en éléments minéraux.

Les quantités d'argile ne doivent pas être excessives car elles pourraient constituer un obstacle à la circulation de l'air et à la conduite du sol (**Loussert et Brousse 1978**)



## 2. HUILE D'OLIVE

### 2-1 Définition

Selon le COI, **L'huile d'olive** est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (COI, 2015)

### 2-2. Etapes du procédé de fabrication

Description du processus d'élaboration de l'huile d'olive vierge

#### - Réception des olives

En vrac, en caisses, en matière plastique ou autre matériau autorisé pour l'alimentation, d'une contenance variable.

#### - Entreposage et conservation des olives

Conservation des olives sur des claies permettant une aération suffisante, dans les caisses ouvertes ou fermées, ou sur un sol lisse et lavable, par couches peu épaisses.

#### - Effeillage et lavage des olives

l'élimination des feuilles, brindilles et autres matières végétales comme des matières minérales: terre, poussière, cailloux et pierres ;

le lavage des olives au moyen d'une circulation forcée d'eau potable et propre permettant l'élimination de substances solubles dans l'eau, boue, terre et pierres.

#### - Broyage des olives

En vue de rompre la structure végétale de l'olive et de libérer les gouttelettes d'huile des vacuoles. Au moyen de broyeurs à meules en granit ou de broyeurs métalliques, munis de cribles permettant de régler la granulométrie de la pâte ou dénoyant les olives.

#### - Malaxage de la pâte

L'objectif est de : Concentrer les gouttelettes d'huile dispersées dans la pâte broyée en gouttes de dimensions plus grandes et de les séparer des autres phases solide et liquide aqueuse. Ce processus est réalisé au moyen d'un équipement dénommé malaxeur, muni d'un système permettant le réchauffement contrôlé et adéquat de la pâte pendant un temps donné de brassage continu et lent.



### **Séparation solide-liquide des phases : huile, grignon phase aqueuse**

Ce processus peut être réalisé au moyen des systèmes suivants :

- ❖ percolation : au moyen d'un procédé qui utilise l'effet de la tension interfaciale de l'huile sur une lame ou une maille d'acier inoxydable séparant l'huile de la pâte malaxée ;
- ❖ pression : au moyen de l'effet de la pression hydraulique de la pâte malaxée préalablement distribuée manuellement ou mécaniquement sur des scourtins permettant l'écoulement du jus de l'olive (huile et eau de végétation) de la fraction solide ;
- ❖ centrifugation : au moyen de l'effet de la force centrifuge que génère le décanteur centrifuge horizontal (décanteur) qui permet de séparer les composants de la pâte d'olive malaxée en fonction de sa densité.

Il existe deux types de décanteur en fonction des produits issus de la centrifugation : dans le cas de la séparation intermittente donnant lieu à la production des trois composants « huile, grignon et margine », il est appelé à trois phases ; dans le cas de la séparation interne des trois composants produisant la sortie indépendante de l'huile et de l'ensemble grignon plus eau de végétation, il est appelé à deux phases.

#### **- Séparation liquide-liquide : huile et phase aqueuse**

- ❖ décantation naturelle : due à la différence de densité et de miscibilité des composants du jus de l'olive: huile, eau, fragments de matières solides dans les bacs à décantation.

- ❖ centrifugation : au moyen d'un processus utilisant la force centrifuge pour séparer l'huile de la fraction aqueuse, en utilisant un équipement appelé séparateur centrifuge vertical.

#### **- Décantation-classement avant le stockage en cuve**

- ❖ la production d'huile d'une période de temps donné (lot, service, jour) doit passer par la décantation afin d'homogénéiser la quantité produite, d'éliminer la fraction air occlus de la centrifugation, atteindre une température adéquate, se débarrasser de la mousse à la surface, des fonds de décantation et permettre le classement de l'huile en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques.

#### **- Stockage - conservation de l'huile vierge au moulin**

- ❖ le stockage doit avoir lieu dans une zone séparée physiquement de la zone d'élaboration devant réunir un certain nombre de conditions en vue de diminuer au maximum, voire d'éliminer, les effets des oscillations de la température ambiante et de la lumière. Cette zone doit être facile à nettoyer. Les cuves où sera stockée et conservée l'huile préalablement classée doivent être conçues avec des matériaux inertes non absorbants, avec un fond conique

ou plan incliné, être hermétiques et dotés de systèmes auxiliaires permettant de remplir et vider l'huile par la partie inférieure et si possible d'un système efficace d'inertisation et de nettoyage intérieur.

- **Transvasement éventuel de l'huile**

Opération réalisée d'un réservoir à un autre afin d'éviter le risque d'altérations organoleptiques provoquées par la fermentation des lies se déposant au fond du réservoir.

- **Filtration éventuelle de l'huile avant son conditionnement pour la vente**

Opération réalisée au moyen de dispositifs ou d'équipements permettant la séparation de l'huile de toute particule solide ou liquide, au moyen de filtres utilisant des auxiliaires autorisés (terre de diatomée et cellulose et comme support de la maille en métal, papier ou toile).

**Annexe09.**

### 2-3. Classification des huiles d'olive

Une huile d'olive ne peut être obtenue que par des procédés physiques sans intervention de solvants. Cette définition est cependant incomplète et d'autres critères permettent de diviser les huiles en différentes sous-catégories (Conférence des Nations Unies sur le Commerce Et le Développement, (CNUCED, 2005 ; COI,2015).

- **Les huiles d'olive vierges** sont les huiles obtenues du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

✚ **Les huiles d'olive vierges** propres à la consommation en l'état comportent :

i) **l'huile d'olive vierge extra** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes.

ii) **l'huile d'olive vierge** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes.

iii) **l'huile d'olive vierge courante** : huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 grammes pour 100 grammes.

✚ **L'huile d'olive vierge** non propre à la consommation en l'état dénommée huile d'olive vierge lampante est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3,3 grammes pour 100 grammes. Elle est destinée aux industries du raffinage ou à des usages techniques.

- **L'huile d'olive raffinée**

- est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes.
- L'huile d'olive est l'huile constituée par le coupage d'huile d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes.

- **L'huile de grignons d'olive** est l'huile obtenue par traitement aux solvants ou d'autres procédés physiques, des grignons d'olive, à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après :

- **l'huile de grignons d'olive brute** est l'huile de grignons d'olive dont les caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme. Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine ou destinée à des usages techniques.

- **l'huile de grignons d'olive raffinée** est l'huile obtenue à partir de l'huile de grignons d'olive brute par des techniques de raffinage n'entraînant pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes.

- **l'huile de grignons d'olive** est l'huile constituée par le coupage d'huile de grignons d'olive raffinée et d'huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1 gramme pour 100 grammes.

Ce coupage ne peut, en aucun cas, être dénommé « huile d'olive ».

### 2-4. Production mondiale et en Algérie

Le bilan mondial de la **campagne 2016/17** montre des stocks de début de campagne de 549 500 t et une **production de 2 539 000 t**, soit une diminution de 20 % (- 637 500 t) par rapport à la **campagne 2015/2016**. **Figure 3**.

Les pays membres du COI enregistrent un total de 2 350 500 t, soit 93 % de la production mondiale. Les pays producteurs européens, avec 1 747 500 t, voient leur production diminuer de 25 % par rapport à la campagne antérieure.

L'Espagne arrive en tête, avec 1 286 600 t, suivie de la Grèce (195 000 t), de l'Italie (182300t), du Portugal (69400t) et des petits producteurs (Chypre : 6 000 t ; Croatie : 5 100 t ; France : 2 800 t ; Slovénie : 400 t).

La production diminue globalement de 10 % dans les autres pays membres du COI, notamment au Maroc : 110 000 t (- 15 %) ; en Tunisie : 100 000 t (- 29 %) ; en Algérie : 63 000 t (- 23 %) ; en Argentine : 21 500 t (- 10 %) ; en Jordanie : 20 000 t (- 32 %) ; en Palestine : 19 500 t (- 7 %) ; en Libye : 16 000 t (- 11 %) ; les autres pays membres atteignant des volumes inférieurs.

La production augmente en revanche en Turquie : 177 000 t (+ 18 %) ; en Égypte : 20 000 t (+ 21 %) et au Liban : 25 000 t (+ 9 %). La **(figure 2)** illustre l'évolution de la production mondiale par groupes de pays producteurs : pays producteurs européens membres du COI ; autres pays membres du COI ; pays non membres du COI. Quant à la **production mondiale d'huile d'olive de la campagne estimée 2017/18**, selon les derniers chiffres envoyés par les pays, elle serait supérieure de 14 % à celle de la campagne précédente. La production devrait en effet avoisiner les 2 894 000 t.

Les pays membres du COI enregistreraient une production totale de 2 717 000 t, dont 1 805 000 t au sein des pays producteurs européens, soit + 3 % par rapport à la campagne antérieure.

L'Espagne reste en tête, avec une production estimée de 1 090 500 t (- 15 %), suivie de l'Italie avec 320 000 t (+ 76 %) ; de la Grèce avec 300 000 t (+ 54 %) ; du Portugal avec 78 800 t (+ 14 %) et des autres pays producteurs européens avec des volumes plus faibles.

Dans les autres pays membres du COI, la production augmenterait fortement, de 51 %, par rapport à la campagne antérieure.

Les principales augmentations se vérifieraient en Turquie, avec 287 000 t, soit + 62 % ; suivie de la Tunisie, avec une production de 220 000 t (+ 120 %) ; du Maroc, avec 140 000 t (+ 27 %) ; de l'Algérie, avec 80 000 t (+ 27 %) ; de l'Argentine, avec 37 500 t (+ 74 %) ; de la Jordanie et de l'Égypte avec une production de 25 000 t (soit + 25 %) ; de la Libye avec 18 000 t (+ 12 %), alors que la production du Liban diminuerait de (8 %) , avec 23 000 t. Les autres pays enregistreraient des volumes inférieurs (**Newsletter – marché oléicole N° 121. 2017**).

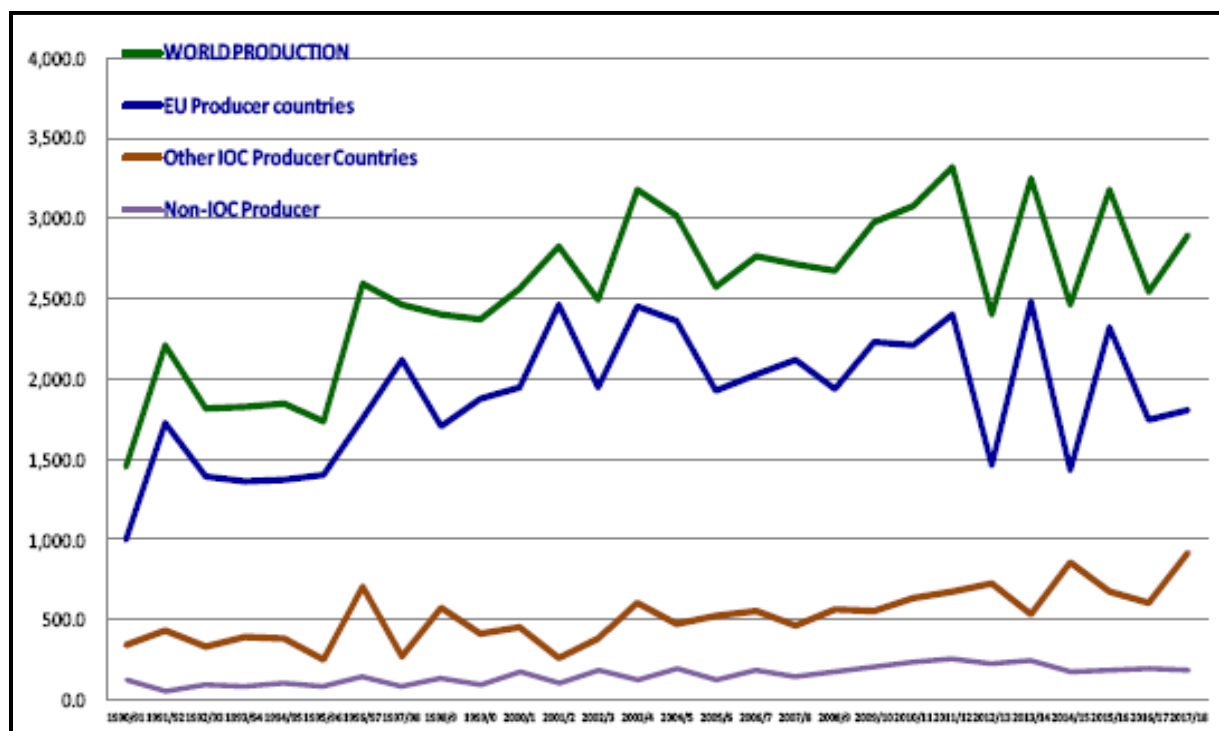


Fig. 3 : Évolution de la production mondiale.

## 2-5 Caractéristiques qualitatives des huiles

### 2-5-1. Caractéristiques physico-chimiques

Les données physico-chimiques de classification des huiles selon le Conseil Oléicole International (COI 2015 ) sont présentés sur le tableau II.

Le C.O.I propose une classification rapide des huiles en fonction de leur acidité libre (tableau 2). Cependant les critères de sélection ou d'exclusion d'une huile dans une catégorie sont très nombreux .

Ils peuvent être spécifiques à une catégorie d'huile ou plus généraux. Le suivi de ces différents critères est nécessaire car une dégradation de la qualité de l'huile peut avoir de nombreuses conséquences tant d'un point de vue nutritionnel que d'un point de vue risque sanitaire.

**Tableau II** : Classification des huiles selon les données physico-chimiques.(COI.2015)

	<b>Acidité (%acide oléique)</b>	<b>Indice peroxyde (meq O<sub>2</sub>/Kg)</b>	<b>Extinction spécifique à 270 nm E<sub>1cm</sub></b>
<b>Huile d'olive extra vierge</b>	≤ 0,8	< 20	< 0,25
<b>Huile d'olive vierge</b>	≤ 02	≤ 20	< 0,3
<b>Huile d'olive vierge ordinaire</b>	≤ 3,3	≤ 20	< 0,3
<b>Huile d'olive raffinée</b>	≤ 0,3	≤ 05	< 1,1
<b>Huile d'olive</b>	≤ 01	≤ 15	< 0,9
<b>Huile de grignon d'olive raffinée</b>	≤ 0,3	≤ 05	<0,20
<b>Huile de grignon d'olive</b>	≤ 1,0	≤ 15	<1,7

A la lecture du tableau 2, on peut remarquer que les huiles d'olives sont classées selon les quatre caractéristiques physico-chimiques : Acidité( % acide oléique), indice de peroxyde et extinction spécifique K<sub>270</sub>.

### 2-6 Composition des huiles d'olive

L'huile d'olive est un mélange complexe de deux groupes de substances:

- *saponifiables composés majeurs*, qui représentent près de 99% de l'huile tels que les triacylglycérols, glycérides, esters acides gras libres et les phosphatides;
- *insaponifiables ou composés mineurs*, qui représentent seulement environ 1% de toute l'huile d'olive tels que les phytostérols, les tocophérols, hydrocarbures, pigments, composés phénoliques, flavonoïdes ou composés volatils (Tripoli et al., 2005)

### 2-6-1 Les composés majeurs

- *Les acides gras*

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides. Ces lipides contiennent une fraction principale dite saponifiable.

Les acides gras sont des molécules organiques comprenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle(-COOH).

Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone, dans ce cas les acides gras sont dits « saturés AGS ».

Elle peut également contenir une double liaison (acides gras monoinsaturés AGMI) ou plusieurs doubles liaisons (acides gras polyinsaturés AGPI)

Pour les acides gras insaturés, ils sont souvent référencés selon la position de la première double liaison par rapport au groupement méthyle(CH<sub>3</sub>) terminal.

Il existe 2 grandes familles d'AGPI : la série en n-6 ( oméga 6) et la série n-3 ( oméga 3). Dans l'huile d'olive on trouve de l'acide linoléique (oméga 6) et de l'acide alpha-linolénique (oméga 3).

Ces acides gras sont dits « essentiels » car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et doivent donc être apportés par l'alimentation.

La composition en acide gras est très variable et dépend de la variété d'olives, la région de production et de l'année de la récolte (influence des conditions environnementales).

Des normes telles que celle du **CODEX ALIMENTARIUS** régulent cependant cette variabilité en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras (Tableau III).

Les acides gras présents dans l'huile d'olive se trouvent sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre.

Ce sont des monoacides linéaires à nombre pairs (majoritaires). Ils se composent en moyenne de 72% d'acides gras mono insaturés (C16 : 1 et C18/1), de 14% d'acides gras polyinsaturés (C18 : 2 ω6 et C18 :3 ω3)et de 14% d'acides saturés (C16 :0 ; C18 :0) (**Harwood J.L, 2000**).

La prédominance de l'acide oléique constitue la principale caractéristique de l'huile d'olive et lui confère l'appellation d'huile mono-insaturée.

**Tableau III** : Composition en acide gras d'une huile d'olive selon les résultats d'Ollivier *et coll.* (2003) et selon la norme du CODEX ALIMENTARIUS

Acide gras	Formule brute	Ollivier et coll. (%)	CODEX ALIMENTARIUS (%)
Acide myristique	C14:0	Tr	<0,1
Acide palmitique	C16:0	7,5-15,6	7,5-20
Acide sapiénique	C16:1n-9	0,1-0,2	0,3-3,5
Acide palmitoléique	C16:1n-7	0,3-1,9	
Acide margarique	C17:0	<0,3	<0,5
Acide margaroléique	C17:1n-8	<0,5	<0,6
Acide stéarique	C18:0	1,4-3,4	0,5-5
Acide oléique	C18:1n-9	60,9-82,1	55-83
Acide vaccénique	C18:1n-7	0,7-3,6	-
Acide linoléique	C18:2n-6	4,5-16,1	3,5-21
Acide $\alpha$ -linoléique	C18:3n-3	0,4-1,2	<1,5
Acide arachidonique	C20:0	0,3-0,5	<0,8
Acide gadoléique	C20:1n-9	0,2-0,5	-
Acide béhénique	C22:0	<0,2	<0,2
Acide lignocérique	C24:0	<0,1	<1

La variabilité en acides gras est relativement importante, mais en moyenne, l'huile d'olive vierge se compose à 72% d'acides gras monoinsaturés (AGMI), 14% d'acides gras polyinsaturés (AGPI) et 14% d'acides gras saturés (AGS) (**Harwood, 2000**).

L'acide gras majoritaire est l'acide oléique qui représente à lui seul près de 70% des acides gras. Les acides gras polyinsaturés représentent une fraction non négligeable de l'huile et sont majoritairement composés d'acide linoléique. Les acides gras insaturés sont généralement de configuration *cis*.

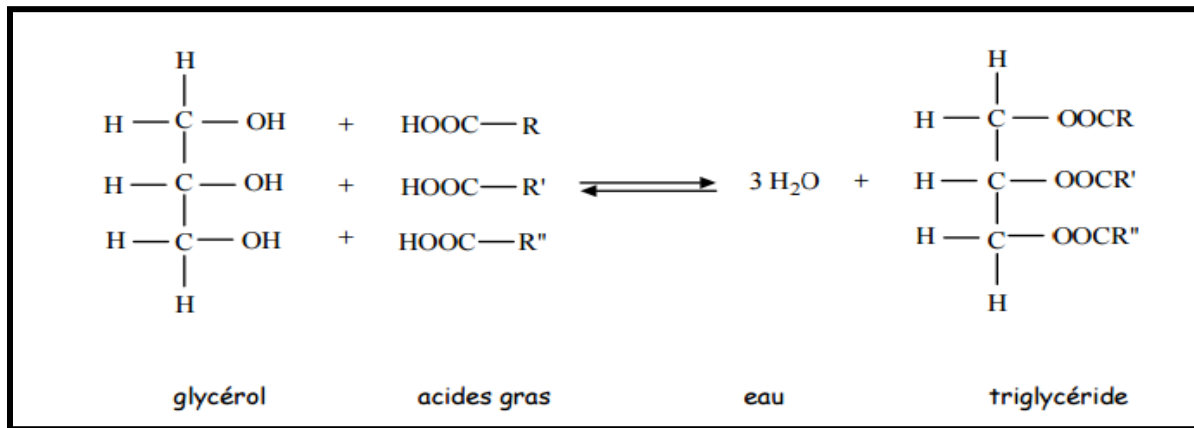
- **Les triglycérides**

Les corps gras sont constitués par des mélanges d'esters appelés mono-, di- ou triglycérides (ces derniers étant prépondérants) selon le nombre de fonctions alcools du glycérol estérifiées par les acides gras. Le nombre élevé des acides gras présents dans un lipide, ainsi que les multiples possibilités de leur combinaison avec le glycérol font des corps gras des mélanges très complexes dont les structures et les propriétés varient de façon significative.

Deux corps gras renfermant qualitativement et quantitativement les mêmes acides gras auront, si les acides gras sont répartis de manière différentes dans les triglycérides, des caractéristiques physiques, chimiques ou physiologiques différentes. Chaque huile est caractérisée par la composition en acides gras de l'espèce végétale dont elle est extraite.



Les triglycérides, qui représentent 98 à 99 % de l'huile végétale raffinée, résultent de l'union de trois acides gras au glycérol suivant la réaction d'estérification présentée sur *la figure 4*



**Fig. 4** : Réaction de formation des triglycérides.

Remarque : R, R' et R'' peuvent être identiques ou différents.

Les composés majeurs sont essentiellement les triglycérides ou triacylglycérols. La teneur en triacylglycérols de l'huile d'olive est composée de OOO (40-59%), POO (12-20%), OOL (12,5-20%), POL (5,5-7%), SOO (3-7%) et POP, POS, OLnL, LOL, OLnO, PLL, PLnO et LLL, LnLO, LnOP, PLP, SOP, EOO en très petites quantités.

Ces trois symboles de lettre représentent tous les triacylglycérols isomères contenant les trois groupes acyles où P = palmitique, O = oléique, S = stéarique, L = linoléique et Ln = acide linoléique (**Gunstone., 2002**).

La teneur en acides gras de l'huile d'olive comprend l'acide myristique, l'acide palmitique, acide palmitoléique, acide stéarique, acide oléique, acide linoléique, acide linoléique, acide eicosanoïque. Les monoacyl- et diacylglycérols sont toujours présents en petites quantités. La présence de glycérides partiels résulte d'une biosynthèse incomplète de triacylglycérols ou d'une hydrolyse.

Dans l'huile d'olive vierge, les diacylglycérols sont présents à raison de 2,8%, tandis que les monoacylglycérols sont en plus petites quantités, inférieures à 0,25%. (**C.O.I., 2008**).

## 2-6-2 Les composés mineurs

### 2-6-2-1. Les composés phénoliques

Les huiles d'olive vierges sont riches en composés phénoliques appartenant à diverses familles : (phénols et hydroxyphénols, acides et alcools phénols, sécoïridoïdes, lignanes, flavonoïdes, ...).

Certains composés phénoliques confèrent aux huiles vierges une saveur amère et une sensation de piquant.

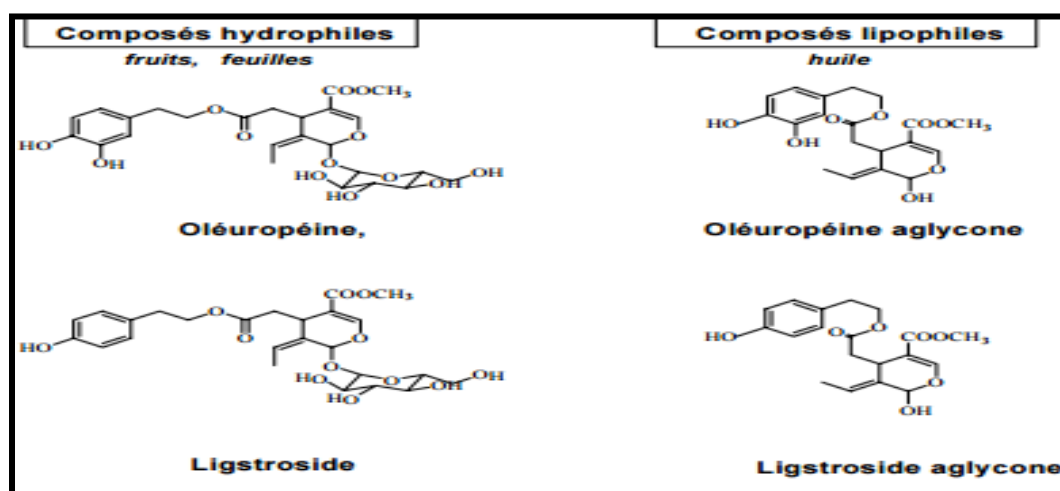
L'oléuropéine et le ligstroside sont les sécoïridoïdes majoritaires de l'olive (**Amiot et al.,1989**). Leur aglycone, lipophile, sont présents dans l'huile d'olive. Leurs formules sont représentées **figure 4**. Au cours de la maturation du fruit, les glucosides sont hydrolysés pour donner des aglycones qui confèrent à l'huile d'olive sa saveur si particulière.

Des phénomènes d'oxydation se produisent également lors de la trituration des olives et entraînent la formation de composés qui contribuent aux arômes et à la saveur de l'huile.

En général, les huiles d'olives « fruité vert » obtiennent les notes les plus fortes en dégustation car elles ont des fruités plus intenses et des arômes plus complexes que les huiles « fruité mûr » et « fruité noir ».

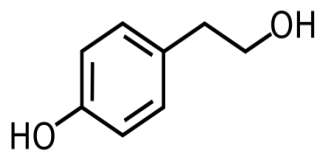
Ces caractéristiques sont dues à leur forte teneur en composés phénoliques, aldéhydes, alcools, alcènes... Cependant, une trop grande concentration en phénols donne une amertume excessive et déplaisante, généralement peu appréciée par les consommateurs bien qu'il s'agisse d'un critère de "qualité" pour l'huile,

Les principaux composés des huiles d'olive vierges sont représentés dans les **figures 5, 6 et 7**



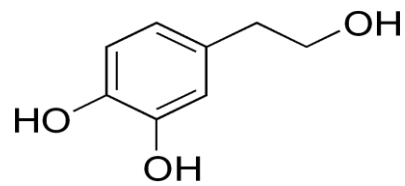
**Fig.5:** Les sécoïridoïdes de l'olive, des feuilles et de l'huile.

*Les alcools phénoliques*



Tyrosol

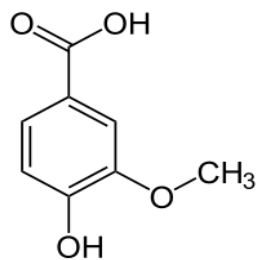
2-(4-hydroxyphényl)-éthanol



Hydroxytyrosol

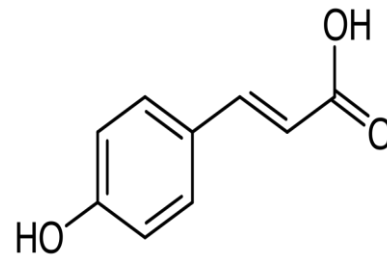
2-(3,4-hydroxyphényl)-éthanol

*Les acides phénoliques*



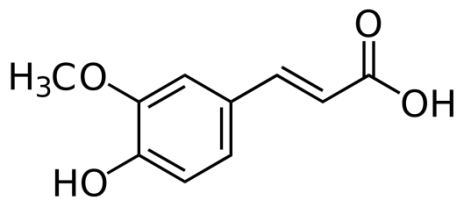
Acide vanillique

Acide 4-hydroxy-3-méthoxybenzoïque



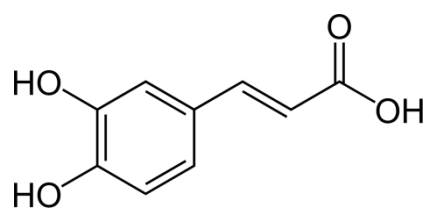
Acide p-coumarique

Acide para-hydroxycinnamique



Acide férulique

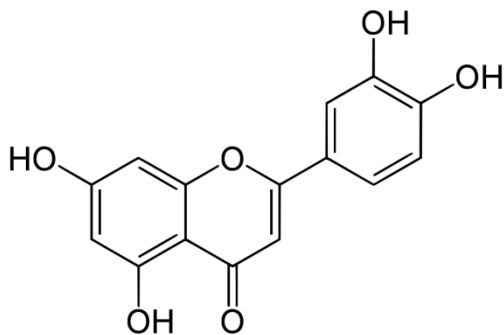
Acide 4-hydroxy-3-méthoxycinnamique



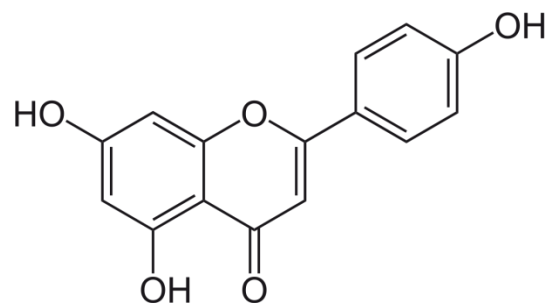
Acide caféique

Acide 3,4-dihydroxycinnamique

*Les flavonoïdes*



Lutéoline



Apigénine

**Fig.6** : formules de quelques alcools, acides phénols et flavonoïdes

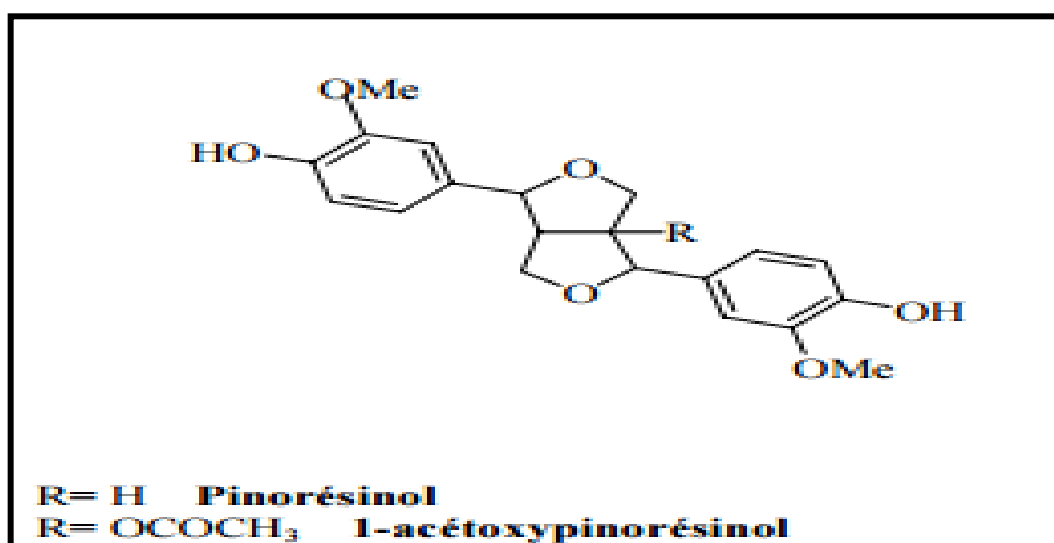


Fig.7 : Les lignanes de l'huile d'olive.

#### 2-6-2-2. Les tocophérols

Les tocophérols communs de l'huile d'olive sont :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérols (**Beltrán et al., 2005**). La vitamine E est le terme générique utilisé pour désigner les différents tocophérols qui se distinguent entre eux par le nombre et la position des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (**Le Grusse, 2003**).

La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable puis qu'elle a été reportée dans une gamme allant de quelques mg à 450 mg/kg d'huile (**Gutierrez, 1999; Boskou, 2006**). L'alpha-tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols mais on trouve également le bêta et le gamma tocophérol, alors que le delta tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces (**Psomiadou, 2000**). Les tocophérols exercent en synergie avec d'autres composés phénoliques un effet antioxydant qui attribut à l'huile d'olive sa stabilité oxydative (**Carrasco-Pancorbo et al., 2006**).

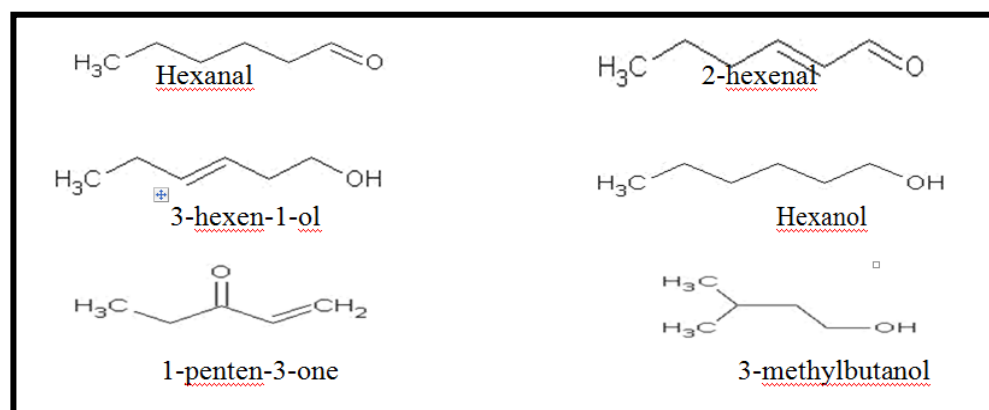
#### 2-6-2-3. Les composés aromatiques

Si l'huile d'olive est intéressante d'un point de vue nutritionnel, elle est surtout appréciée pour son goût et ses arômes particuliers. Les composés aromatiques sont des molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 300 Da) possédant une volatilité à température ambiante.

L'odeur de l'huile est due à la capacité de certaines de ces molécules volatiles à atteindre les récepteurs olfactifs du nez (**Angerosa, 2002**).

Ces composés volatiles sont majoritairement des produits de l'oxydation des acides gras. D'une manière générale, les enzymes endogènes présentes dans l'olive, vont dégrader les acides gras par des voies de lipoxygénases et ces produits de dégradation vont être associés aux perceptions positives des arômes de l'huile d'olive. A l'inverse, les produits d'oxydation chimique ou dus à des enzymes exogènes (activité microbiologique) seront généralement associés à des défauts sensoriels (**Venkateshwarlu et al, 2004**).

Plus de 70 molécules composent la fraction volatile des huiles d'olive. Elles sont réparties en aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures et cétones. La majorité des composés à 5 ou 6 atomes de carbone **Figure 8** et parmi eux on trouve l'hexanal, le trans-2-hexenal, l'hexan-1-ol et le 3-méthylbutan-1-ol (**Angerosa, 2002 ; Kiritsakis, 1998 ; Aparicio, 1997**).



**Fig.8:** Structure chimique des composés volatiles majoritaires

Aucune de ces molécules ne peut être à elle seule responsable d'un arôme caractéristique d'une huile, cependant des corrélations positives ou négatives ont été observées entre concentration de certaines molécules et développement de certains attributs de l'huile.

Ainsi le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation d'amer alors que le 3-hexen-1-ol et l'hexanal sont eux corrélés de façon négative avec l'amertume (**Angerosa, 2000**).

De même, concernant la sensation de piquant, le 1-penten-3-one est positivement corrélé à la sensation de piquant alors que le 2-hexenal et l'hexanal sont eux corrélés de façon négative avec le piquant (**Angerosa, 2000**).

### **2-6-2-4. Les pigments**

La couleur de l'huile d'olive est un paramètre de qualité qui dépend de sa composition en pigments (**Roca et Minguez-Mosquera, 2001; Beltrán et al., 2005**). Ils sont responsables de la couleur verdâtre à jaune de l'huile d'olive (**Cichelli et Pertesana, 2004**).

Deux groupes de pigments sont identifiés dans l'huile d'olive, ceux qui sont présents naturellement dans le fruit d'olive : chlorophylle a et b, lutéine,  $\beta$ -carotène, anthéroxanthine, violaxanthine et neoxantine et ceux qui se forment durant le processus d'extraction de l'huile d'olive : phéophytine a et b, lutéoxanthine, auroxanthine et mutatoxanthine (**Minguez-Mosquera et al., 1990; Gandul-Rojas et al, 1996a; Criado et al., 2007**).

- **Les chlorophylles**

Ce pigment dont la teneur peut varier en fonction de nombreux facteurs, exerce biologiquement une action d'excitation du métabolisme, de stimulation de la croissance cellulaire, l'hématopoïèse (de la formation des cellules du sang) et d'accélération des processus de cicatrisation. (**Nieves Criado. M et al, 2008**)

- **Les caroténoïdes**

Les principaux caroténoïdes dans l'huile d'olive sont la lutéine, le  $\beta$ -carotène et les xanthophylles suivantes : néoxanthine, violaxanthine, lutéoxanthine, anthéroxanthine, mutatoxanthine et beta-cryptoxanthine (**Ryan et al., 1998; Mateos et García-Mesa, 2006**). Leur teneur dans l'huile d'olive dépend de la variété, du degré de maturité, des conditions environnementales, du procédé d'extraction et des conditions de stockage (**Criado et al., 2004; Giuffrida et al., 2007**).

Cette teneur oscille entre 1 à 100 ppm, avec une prédominance de la lutéine et du  $\beta$ -carotène (**Minguez-Mosquera et al., 1991; Psomiadou et Tsimidou, 2001**). Les caroténoïdes possèdent une activité antioxydante (**Soulier et Farines, 1992; Salvador et al., 2001; Giuffrida et al., 2007**).

Ils exercent un effet inhibiteur sur la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet induit par les pigments chlorophylliens (**Perrin, 1992; Kiritsakis et Osman, 1995**).

- **Stérols**

Les stérols sont importants en termes de qualité de l'huile. Stérols dans l'huile d'olive peut être classée en quatre groupes comme stérols communs, 4 $\alpha$ -méthylstérols, alcools triterpénique et dialcools triterpénique. Le niveau total d'entre eux est d'environ 1000 mg / kg en vierges huiles d'olive. Tableau IV.

**Tableau IV:** composition stérolique des huiles d'olive (C.O.I 2015)

Stérols	Limites fixées par C.O.I (mg/100g)
Cholestérol	$\leq 0,5$
Brassicastérol	$\leq 0,1$
Campestérol	$\leq 4$
Stigmastérol	$< \text{Campestérol}$
Delta-7-stigmastérol	$< 0,5$
- Bêta-sitostérol + delta-5-avénastérol + delta 5-23-stigmastadiérol + clérostérol + sitostanol + delta 5-24-stigmastadiérol	$> 93,0$

### 2-7 Les effets associés à l'huile d'olive

Une étude menée par Garg (**Garg et al ;1988**) montre l'efficacité du remplacement des acides gras saturés par des acides gras mono-insaturés. Ainsi, les patients atteints d'un diabète de type 2 ont suivi un régime enrichi en AGMI composé de 50% de lipides dont 33% d'AGMI. Cette expérience a eu pour résultat une diminution de la demande en insuline, une diminution de la concentration plasmatique en glucose ainsi qu'une diminution de la concentration plasmatique en triglycérides. Cette étude a été confirmée par la suite avec d'autres expériences menées chez des sujets sains, diabétiques et/ou obèses (**Parillo et al. 1992 ;Rasmussen et al. 1993 ;Campbell et al 1994**).

Ces études ont montrés une amélioration du métabolisme glucidique chez les patients ; pour autant, aucune n'a démontré une réduction de la concentration plasmatique en hémoglobine glyquée. Ceci est sûrement dû au fait que les expériences d'enrichissement du régime en AGMI n'ont jamais duré plus d'une semaine. Cette durée n'est pas suffisante pour que l'amélioration du métabolisme glucidique puisse refléter une diminution de ce dernier paramètre hématologique (**Pérez-Jiménez et al.2002**).

De nombreuses études ont été effectuées, comparant les effets des AGMI (acide oléique de l'huile d'olive) et des AGPI (omega3 des graisses de poissons) sur la pression artérielle. Les résultats de ces études ont montré des effets similaires sur les pressions systoliques et diastoliques pour les régimes enrichis en omega3 et les régimes enrichis en AGMI (**Espino et al. 1996; Ruiz-Gutierrez et al. 1996 ; Lahoz et al.1997** ).

Ainsi, le régime enrichi en AGMI entraînerait une diminution de la pression artérielle de 5 à 9% chez des sujets sains comme chez des sujets hypertendus, les recherches ont montré que la consommation d'huile d'olive entraînait une réduction du mauvais cholestérol (LDL) avec un régime enrichi en AGMI. (**Sacks et al. 2002**). Concernant le mécanisme de coagulation, les AGMI et l'acide oléique de l'huile d'olive plus spécialement ont pour effet de diminuer l'agrégation plaquettaire.

Ces résultats laissent suggérer qu'un régime riche en acide oléique favorise un environnement moins thrombogénique. Concernant le mécanisme de fibrinolyse, celle-ci joue un rôle primordial dans la stabilisation et la progression du thrombus, régulé par l'équilibre entre l'activateur du tissu plasmatique (t-PA) et son inhibiteur naturel, PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor type1). L'acide oléique réduit de façon bénéfique le PAI-1, entraînant la diminution du risque thrombogénique (**Lopez-Segura et al.1996; Avellone et al. 1998**).

Les recherches ont montré qu'un régime enrichi en acide oléique entraînait entre autres un meilleur profil lipidique, avec réduction du cholestérol LDL et du ratio LDL/HDL. Il tendrait à diminuer le risque d'incidence des maladies coronariennes (athérosclérose) et des MCV en général (**Pérez-Jiménez et al.2002**).

Si les acides gras représentent la très grande majorité de la composition de l'huile d'olive en terme de masse, les composés phénoliques pourraient être ceux qui sont les plus importants au niveau des bénéfices santé.

En effet, leur activité antioxydante a deux effets principaux : tout d'abord ils protègent l'huile de l'oxydation (donc augmentent sa durée de vie) mais ils vont également augmenter la capacité antioxydante de l'organisme et ainsi prévenir le développement de certaines maladies.

Une étude sur le cancer du côlon a également montré que des extraits phénoliques d'huile d'olives semblaient réduire la capacité d'adhésion des cellules cancéreuses, ce qui ralentirait la prolifération du cancer du côlon (**Hashim, 2008**).



Des études ont montrés que les phénols protègent les érythrocytes sanguins vis-à-vis de l'oxydation. L'oxydation des érythrocytes peut entraîner des déformations de ceux-ci et donc des défauts de transport d'oxygène dans le sang et à grande échelle une hémolyse (**Van Dyke, 1996**). Individuellement, des composés tels que l'hydroxytyrosol et l'acide vanillique (à moindre échelle le tyrosol) ont de fortes activités antioxydantes (**Owen, 2000**).

Ils ont aussi été associés à certains effets bénéfiques dans la protection de certaines maladies ; ainsi l'hydroxytyrosol exerce une action inhibitrice sur les lipooxygénases ce qui va protéger les acides gras de l'oxydation et donc *in vivo* réduire le dépôt des LDL dans les parois artérielles (**Visioli, 1998**) ; intervient dans la prévention des maladies cardio-vasculaires car il a été associé à une réduction de l'agrégation plaquettaire tout comme la lutéoline et l'apigénine (**Petroni, 1995**).

La présence de quelques polyphénols et de l'hydroxytyrosol est également corrélée à une réduction de la formation de molécules pro-inflammatoires comme les thromboxanes et les leucotriènes (**Rotondo, 2000 ; Kohyama, 1997**).

L'acide caféique et l'acide férulique ont un effet cytoprotecteur sur les cellules endothéliales en bloquant l'augmentation de la concentration de  $Ca^{2+}$  en réponse à l'oxydation des LDL (**Viera, 1998**). Deux études ont montré un effet hypocholestérolémique et hypoglycémique de l'oleuropéine et de l'oleuropéine aglycone (**Le Tutor, 1992 ; Ficarra, 1991**). Ces deux composés et l'hydroxytyrosol sont également impliqués dans la protection de l'organisme contre certains agents pathogènes responsables de maladies intestinales ou du système respiratoire (**Bisignano, 1999**).

Les tocophérols sont liposolubles et leur présence dans les huiles les protège du rancissement.. L'alpha-tocophérol (90 % des tocophérols dans l'huile d'olive) va s'insérer dans les membranes cellulaires ainsi que dans les lipoprotéines en stabilisant les radicaux peroxylys (**Serbinova, 1991**).

L'alpha-tocophérol est en effet connu pour être l'antioxydant lipophile le plus puissant pour limiter le processus d'oxydation radicalaire. Une déficience en tocophérol dans les membranes cellulaires peut augmenter la perméabilité des cellules et donc les rendre plus vulnérables à la dégradation. En plus de leur activité antioxydante, les tocophérols ont été associés à un ralentissement de la propagation cellulaire, de l'agrégation plaquettaire et de l'adhésion des monocytes dans les vaisseaux sanguins.

MATERIEL ET  
METHODES

## Matériel et Méthodes

Cette étude a été effectuée au niveau de laboratoire de Biochimie et Microbiologie appliquée l'université Badji Mokhtar, le laboratoire de la société des corps gras –CGS- « LA BELLE » ANNABA, le laboratoire privée -Kaci- Annaba, Instituto del CNR di Chimica Biomolecolare, Via P. Gaifami, Catania, Italy.

### 1- CHOIX ET PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

#### 1-1 Localisation géographique

La wilaya de Skikda fait face, au nord, à la mer Méditerranée et dispose de frontières communes avec les wilayas d'Annaba, de Guelma, de Constantine, Mila et Jijel. Elle s'étend sur une superficie de 4 137,68 km<sup>2</sup>, avec une population avoisinant les 804 697 habitants. Elle dispose de 130 km de côtes qui s'étalent de la Marsa à l'est jusqu'à Oued Z'hour aux fins fonds du massif de Collo à l'ouest **Figure 09**.

**Kerkera** est une commune qui appartient à la daïra de Tamalous (Skikda), la population est estimée de 27 177 habitants en 2008 soit une densité de 679 hab./Km<sup>2</sup> sur une superficie de 40 Km<sup>2</sup>.



**Fig.09** : Carte générale de la wilaya de Skikda (ANDI., 2013)

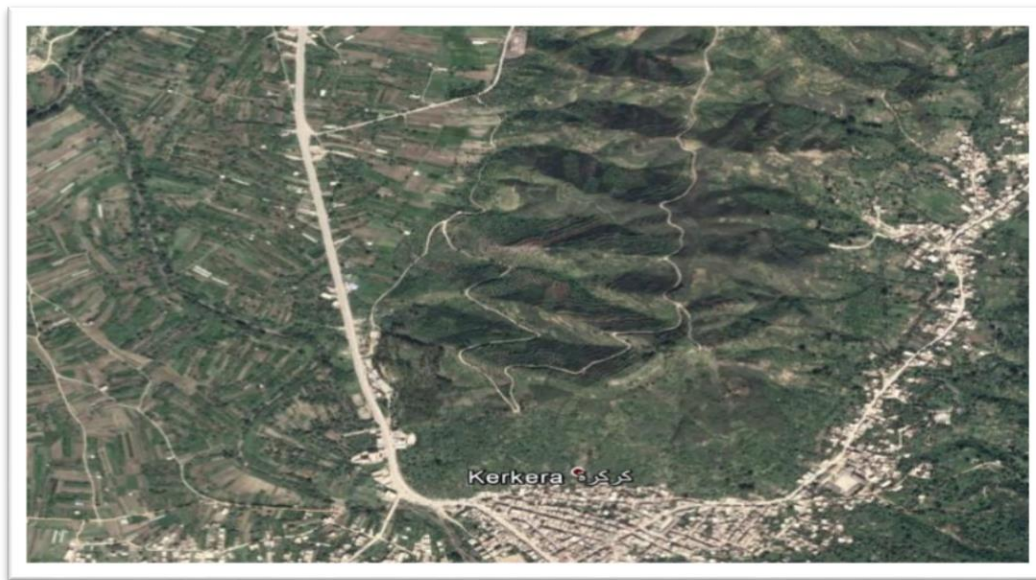
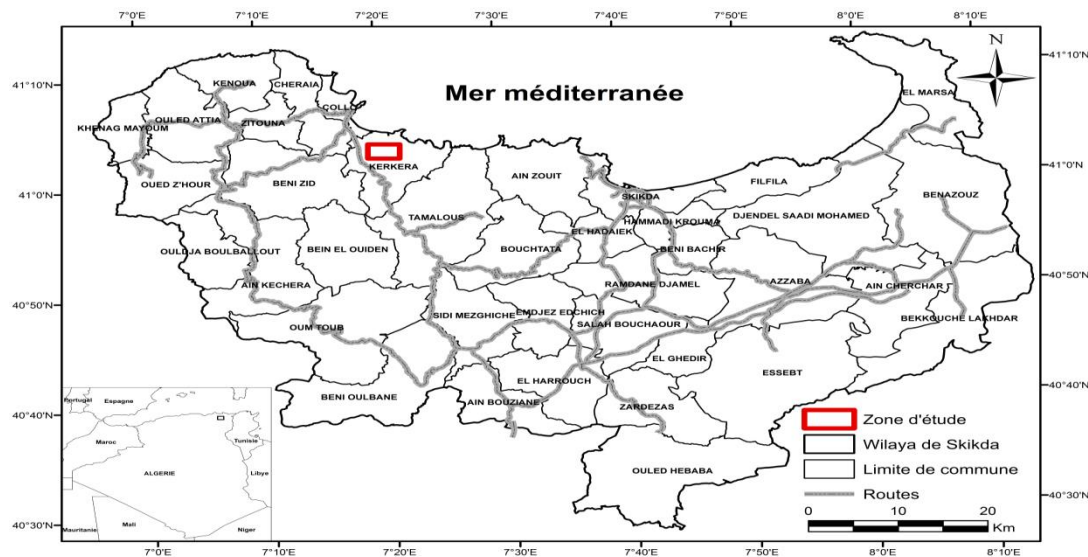


Fig 10 : Zone d'étude « Kerkera »

## 1-2 Climat

La wilaya de Skikda appartient à l'étage bioclimatique subhumide supérieur sous influence maritime. Le climat est de type méditerranéen avec des températures moyennes annuelles minimales entre 7,1°C et 14 °C avec une température moyenne de 10,5 °C ( Janvier) et des températures maximales entre 20,7 et 29 °C (pouvant atteindre 44 à 49 °C) (Août) . La pluviométrie est de 767 mm/an avec une précipitation de 134 mm (Janvier) et de 04 mm (Juillet). Les précipitations sont plus abondantes sur les sommets que sur les plaines et les vallées (ANDI., 2013).

## **2- MATERIEL VEGETAL**

### **2-1 Choix de la variété**

La variété choisie dans cette étude est la Rougette de la Mitidja cultivée dans la commune de Kerkera, wilaya de Skikda, Variété précoce, résistante au froid et à la sécheresse, le fruit est de poids faible et ovoïde, utilisée pour la production d'huile (**Mendil & Sebai, 2006**)

### **2-2 Choix du verger et échantillonnage**

Les échantillons d'olives ont été prélevés au niveau d'un verger situé à Kerkera wilaya de Skikda, campagne oléicole **2015/2016**.

Les fruits ont été récoltés à partir de plusieurs arbres répartis d'une manière aléatoire sur une parcelle d'oliviers.

Les olives sont récoltées au hasard en divers endroits et à divers niveaux de chaque arbre suivant la méthode d'échantillonnage préconisée par le Conseil Oléicole International (**C.O.I, 2011**). Les olives sont ensuite triturées et l'huile obtenue a été utilisée dans cette étude.

### **2-3 Identification de la variété**

#### **2-3-1 Caractérisation morphologique**

La méthode d'échantillonnage utilisé dans cette étude est celle établie par le C.O.I (Conseil Oléicole International) pour la caractérisation primaire des variétés d'oliviers.

Les mesures des caractéristiques morphologiques des feuilles, fruits ont été réalisées selon la méthode de (**Mendil et Sebai., 2006**) **Figure 11**.

- **La feuille**

Quatre caractères pour la feuille, trois sont quantitatifs et le quatrième est qualitatif. Ils doivent être observés sur des échantillons d'une quarantaine de feuilles adultes de la partie médiane de 8-10 pousses de l'année, choisies parmi les plus représentatives et situées dans la partie de l'arbre orientée vers le sud, à hauteur d'homme (**Mendil & Sebai., 2006**) **Annexe 07** .

**Feuille :**

**Forme :** Déterminée par le rapport entre longueur (L) et la largeur (l) :

- Elliptique ( $L/l < 4$ )
- Elliptique lancéolée ( $L/l$  4-6)
- Lancéolée ( $L/l > 6$ )

**Longueur :**

- Réduite ( $< 5$  cm)
- Moyenne (5-7 cm)
- Elevée ( $> 7$ cm)

**Largeur :**

- Réduite  $< 1$ cm
- Moyenne 1- 1,5 cm
- Elevée  $> 1,5$  cm

**Courbure longitudinale du limbe :** L'axe longitudinal de la feuille permet de classer le limbe en quatre catégories

- Epinastique
- Plane
- Hyponastique
- Hélicoïdale

**Fruit entier :**

**Poids :**

- Réduit ( $< 2$  g)
- Moyen (2- 4 g)
- Elevé (4-6 g)
- Très élevé ( $> 6$  g)

**Forme (en position A) :** Déterminée en fonction du rapport entre la longueur (L) et la largeur (l).

- Sphérique ( $L/l < 1,25$ )
- Ovoïde ( $L/l$  1,25- 1,45)
- Allongée ( $L/l > 1,45$ )

**Symétrie (en position A) :** Déterminée par la correspondance entre ses deux moitiés longitudinales.

- Symétrique
- Légèrement asymétrique
- Asymétrique

**Position du diamètre transversal maximal par rapport au pédoncule (en position B) :** Vers la base (situé vers le pédoncule)

- Centrale
- Vers le sommet
- Sommet (en position A) :

- Pointu
- Arrondi

Base (en position A) :

- Tronquée
- Arrondie

**Mamelon :** Ce caractère du point styloïde du fruit peut être :

- Absent
- Présent

**Présence de lenticelles :** Les caractères relatifs aux lenticelles sont déterminés lorsque le fruit est complètement développé mais encore vert. Ces formations, observées à l'œil nu, peuvent être

- Peu nombreuses
- Nombreuses

**Dimension des lenticelles :** par rapport à d'autres variétés, elles peuvent être :

- Petites
- Grandes

**Fig.11 :** caractéristiques morphologiques de la feuille d'olivier de l'olive .

(Mendil & Sebai, 2006).



- **Fruit entier**

Les caractères considérés sont déterminés sur un échantillon de 40 fruits de la zone médiane de rameaux fructifères, choisis parmi les plus représentatifs et situés dans la partie de l'arbre orientée vers le sud, en éliminant les plus petits et les plus gros et ceux qui présentent des malformations.

La description du fruit est réalisée au moment où prend fin la véraison. Pour certains caractères, il est fait mention de deux positions :

La position "A" est celle où le fruit présente généralement son asymétrie maximale en le prenant par ses deux bouts entre l'index et le pouce.

La position "B" est celle résultant de la rotation du fruit de 90°, de manière à tourner la partie la plus développée vers l'observateur (**Mendil & Sebai, 2006**) **Annexe 08**

### 3- DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES

#### 3-1. Acidité libre

- **Principe**

L'acidité est la teneur de l'huile d'olive en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides et exprimée conventionnellement en acide oléique (g/100g d'huile).

L'indice d'acide correspond au nombre de milligrammes de potasse (KOH) ou de soude (NaOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres dans un gramme de corps gras.

La méthode consiste à doser les acides gras libres par une solution titrée de soude selon la réaction :



- **Mode opératoire**

L'acidité libre exprimée en pourcentage d'acide oléique est déterminée comme suit : 1g d'huile d'olive est dissoute dans 50 ml d'éthanol à 95% neutralisé, puis titrée avec une solution d'hydroxyde de potassium 0.1 N en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré.

Une prise de 1 g d'huile est dissoute dans 50 ml d'éthanol à 95% neutralisée, les fonctions carboxyliques libres sont dosées par une solution de NaOH à 0,0365 N en présence de phénolphaléine à 1% dans l'alcool absolu.

La fin du dosage est marquée par l'apparition d'une couleur légèrement rose. L'acidité est égale au volume de soude nécessaire au virage de la couleur (**ISO 660. 1996**).

L'acidité est donnée par l'équation suivante :

$$\text{Acidité} = V \times N \times M$$

**V** : volume, en millilitres, de la solution titrée d'hydroxyde de sodium éthanolique utilisée ;

**N** : normalité exacte, en moles par litre, de la solution titrée de NaOH éthanolique utilisée ;

**M** : poids molaire, en grammes par mole, de l'acide adopté pour l'expression du résultat (= 282) ;

**m** : masse (en grammes) de la prise d'essai.

### 3-2. Indice de peroxyde

C'est la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon, exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. Ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation des huiles.

- **Mode opératoire**

Deux grammes (2g) d'huile sont pesés dans une fiole à 0,001g près et dissous dans 10ml de chloroforme ; le tout est agité. 15 ml d'acide acétique glacial ainsi qu'un ml d'Iodure de potassium saturé (KI) sont ajoutés ; le mélange est agité pendant une minute et laissé reposer pendant 5mn, à l'abri de la lumière, à une température comprise entre 15 et 25°C.

Un volume de 75ml d'eau distillée est additionné ; suivi d'un titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium [ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ] à 0,02N en agitant vigoureusement, en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon (1g/100ml) comme indicateur coloré jusqu'à disparition de la couleur. Un essai à blanc est effectué simultanément (**ISO 3960, 1977**).



L'indice de peroxyde en milliéquivalent d'O<sub>2</sub>/kg est calculé selon l'équation suivante :

$$I_p = \frac{T V - V_0}{m} \times 100$$

**T** : normalité de la solution de thiosulfate de sodium (Na<sub>2</sub> S<sub>2</sub> O<sub>3</sub>)

**V<sub>0</sub>** : volume de thiosulfate versé dans le blanc (en ml)

**V** : volume de thiosulfate versé dans la prise d'essai (en ml)

**PE** : prise d'essai exprimée en grammes.

### 3-3. Indice de saponification

L'indice de saponification est la quantité de potasse (Hydroxyde de potassium) exprimée en milligrammes nécessaires pour saponifier un gramme (1g) de corps gras.

- **Mode opératoire**

Une prise d'essai de deux grammes (2g) d'huile est introduite dans une fiole avec 25ml de potasse alcoolique (0,5N), le mélange est porté à ébullition sous un réfrigérant à reflux pendant 60mn en agitant de temps en temps. Un titrage à chaud de l'excès de potasse est effectué avec l'acide chlorhydrique (0,5 N) en présence de quelques gouttes de phénolphaléine jusqu'à décoloration. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions (ISO 3657, 1977).

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

$$I_s = \frac{V_0 - V_1 \times 56,1 \times N}{m}$$

**V<sub>0</sub>** : Volume, en millilitres, de la solution d'HCl utilisé pour l'essai à blanc.

**V<sub>1</sub>** : Volume, en millilitres, de la solution d'HCl utilisé pour l'échantillon

**N** : Normalité de la solution d'HCl.

**m** : la masse, en grammes, de la prise d'essai.

**t** : la température à laquelle a été effectuée la détermination.

### 3-4 La couleur

La couleur est un facteur important dans l'évolution de la qualité d'une huile.

- **Principe**

La couleur d'un échantillon d'huile est déterminée à l'aide d'un colorimètre (LOVIBOND). Celle-ci est constituée par trois séries de verre : jaune, rouge et bleu. Cette méthode consiste à comparer la couleur de la lumière transmise à travers une certaine couche de corps gras à celle revenant toujours de la même source et transmise à travers des lames colorées standardisées.

Elle permet d'évaluer la quantité de pigments responsables de la couleur des huiles (**ISO 15305: 1998**).

- **Mode opératoire**

- En allumant le colorimètre, on observe à travers le monoculaire deux zones ayant la même intensité de couleur.
- Verser l'échantillon d'huile à analyser dans une cellule, on observe l'apparition de deux zones qui n'ont pas la même intensité de couleur, l'une blanche et l'autre colorée.
- Déterminer immédiatement la couleur de l'échantillon en essayant d'apporter à la zone blanche la même couleur que celle de l'échantillon, en utilisant les trois séries de couleur
- La lecture se fait immédiatement en mentionnant le nombre d'unités jaune, rouge et bleu

$$C = X_J + Y_R + Z_B$$

C : couleur J : jaune R : rouge B :bleu

### 3-5 La teneur en eau et en matière volatile (humidité)

La teneur en eau et en matière volatile est la perte de masse dans les conditions expérimentales

- **Principe**

La détermination de l'humidité d'un échantillon par dessiccation à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  dans une étuve isotherme à pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant.

- **Mode opératoire**

- Peser 05g de l'échantillon
- Chauffer l'échantillon dans une étuve de 103°C à 105 °C pendant une ½ heure.
- Laisser refroidir au dessiccateur pendant 01heure.
- Peser une deuxième fois l'échantillon
- Cette opération de chauffage est répétée plusieurs fois avec un temps d'incubation de 30 mn jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

$$\text{Eau et matières Volatiles (\%)} = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100$$

**m<sub>0</sub>** : la masse en grammes de la prise d'essai avant la dessiccation

**m<sub>1</sub>** : la masse en grammes de la prise après la dessiccation

### 3-6 Détermination des phosphatides

- **Principe**

La détermination des phosphatides se fait par insolubilisation des phosphatides de l'échantillon dans un solvant comme l'acétone.

- **Mode opératoire**

- Dissoudre 25g d'huile dans 200 ml d'acétone.
- Mettre au réfrigérateur au (-4°C) pendant deux heures
- Laver les papiers filtres par l'acétone et sécher dans l'étuve pendant 30 mn puis les mettre pendant une heure au dessiccateur
- Peser les papiers filtres et on, filtre
- Laver le les papiers filtres par l'acétone jusqu'à disparition de corps gras
- Sécher les papiers filtres à 100-105°C dans l'étuve pendant 30 mn
- Remettre les papiers filtres au dessiccateur pendant une heure
- Repeser les deux papiers filtres

$$\text{(\%)} \text{ phosphatides} = \frac{(P1 - P2)}{P} \times 100$$

**P1** : le poids du filtre avant filtration

**P2** : le poids du filtre Après filtration

**P** : le poids de la prise d'essai

### 3-7 Détermination des mucilages

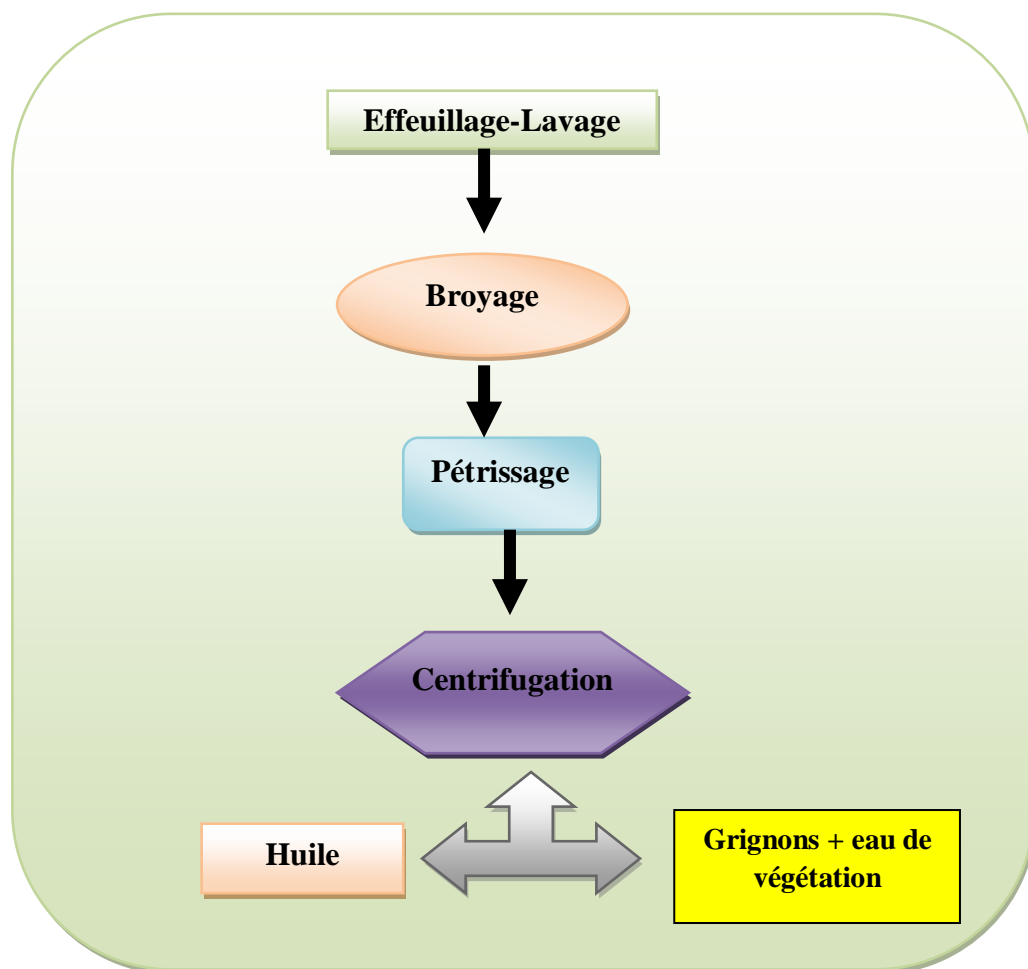
Une quantité d'huile est mise à un bécher dans un bain de sable, quand la température de l'huile augmente ; on ajoute quelque goutte d'acide phosphorique.

La formation d'un anneau vert est un signe de l'existence de traces de mucilage.

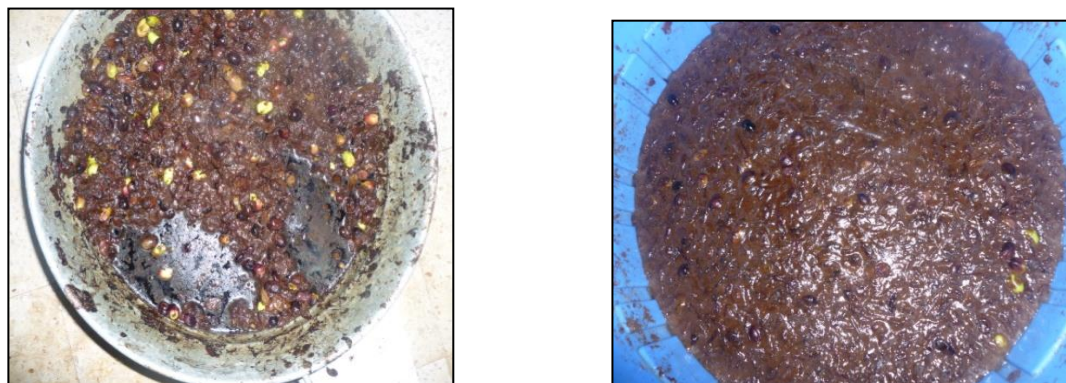
La coloration de toute l'huile en vert est un signe de l'existence d'une grande quantité de mucilage.

### 4- EXTRACTION DE L'HUILE

L'extraction a été réalisée dans une huilerie par procédé en continu (suivant les étapes de lavage, broyage, pétrissage et centrifugation (**Procédé italien Alfa Laval**)(Fig,12 ).



**Fig. 12** : Système continu d'extraction avec centrifugation



**Fig.13** : photos montrant l'extraction d'huile avec la méthode traditionnelle à deux phases (Chimi H., 2006)

Les huiles ont été prélevées dès la première pression. Les échantillons récupérés ont été conservés dans des flacons en verre foncé au réfrigérateur en attendant d'être utilisés.

Une partie de l'huile extraite était utilisée pour les analyses physico-chimiques et biochimiques et l'autre partie a servi pour l'étude biologique.

### 5- COMPOSITION BIOCHIMIQUE

#### 5-1 Composition en acide gras

- **Transestérification de l'huile**

100 mg d'huile d'olive ont été placés dans un tube à essai de 5 ml avec 2 ml d'heptane sous agitation. Ensuite, on a ajouté 0,2 ml d'une solution méthanolique de KOH 2N, le tube à essai a été strictement scellé et agité vigoureusement pendant 30 secondes.

Après stratification des couches, la solution organique supérieure contenant le mélange d'ester méthylique a été séparé et utilisée directement pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse.

- **Analyse par la chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de Masse**

Chromatographe à gaz Shimadzu GC-17A équipé d'une colonne capillaire à base de silice fondue (DB5-MS30 m x 0,25 mm x 0,2  $\mu$ m) couplé à un détecteur d'ionisation de flamme (FID). Les conditions de fonctionnement étaient les suivantes: 100 ° C pendant 1 minute, puis jusqu'à 280 ° C à 5 ° C / min et maintenues à 280 ° C pendant 15 minutes; température de l'injecteur à 250 ° C; température du détecteur 280 ° C; gaz porteur d'hélium (1 ml / min); mode fractionné (1:92), volume d'injection 1  $\mu$ L.

Les pourcentages de composés ont été déterminés à partir de leurs zones de pointe dans les profils GC-FID. Des analyses GC-MS ont été effectuées sur un SMMS-QP5050A de Shimadzu avec la même colonne et les mêmes conditions opératoires utilisées pour la GC analytique. L'ionisation a été effectuée à 70 eV. Température de source d'ions 180 ° C. Les données spectrales de masse ont été acquises en mode balayage dans la gamme m / z 40-400. Les solutions d'huile ont été injectées avec le mode divisé (1:96).

### 5-2 . Composition en composé mineurs

#### 5-2-1.Détermination des Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu.

- **Principe**

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ).

Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot N., Charpentier J.P., 2006**). **Figure 14.**

- **Mode opératoire**

-1 ml de l'échantillon (huile)

- Ajouter 5 ml de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) (dilué 10 fois dans de l'eau distillée

-Incuber pendant 10 minutes à température ambiante.

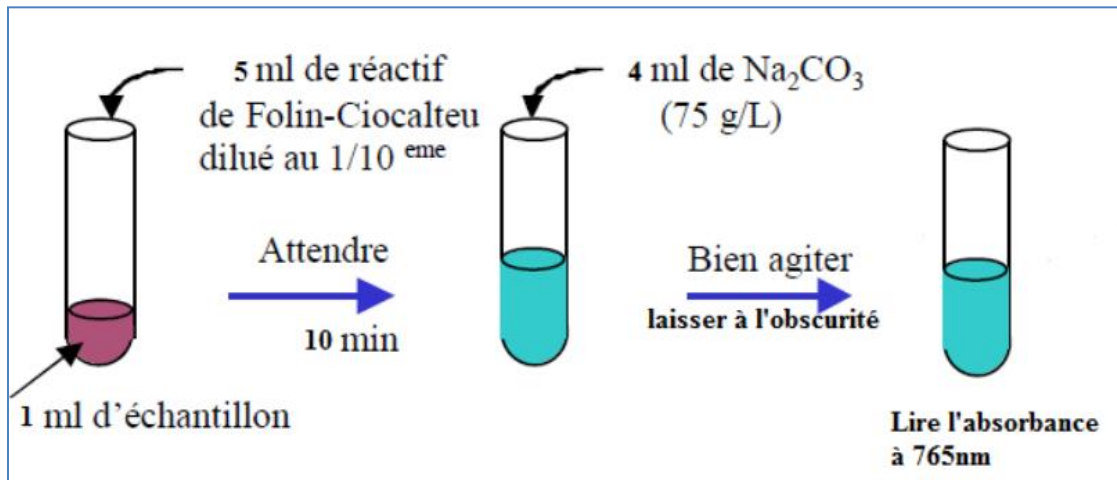
-Ajouter un volume de 4 ml de Carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$  75mg/ml dans l'eau distillée) (Favoriser un milieu alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction).

-Incuber le mélange réactionnel pendant 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité,

-Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentration.

Les résultats sont lus sur spectrophotomètre à 765 nm contre un blanc.

Trois répétitions pour chaque extrait sont nécessaires pour confirmer les résultats obtenus.



**Fig.14:** Protocole suivi pour le dosage des composés phénoliques.

- **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (0-200µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. et est exprimée en milligramme (mg) d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg d'EAG/g d'extrait) .

Le contenu phénolique total (CPTs) est calculé selon l'équation suivante (**Nickavar, Esbati, 2012**) :

$$\text{CPTs (mg/g)} = \frac{\text{C} \times \text{V}}{\text{M}}$$

Où

**C** : concentration de l'acide gallique établit à partir de la courbe d'étalonnage (µg/ml).

**V** : volume de l'extrait (ml)

**M** : poids de l'extrait (mg).

### 5-2-2 Détermination des Caroténoïdes

La détermination de la teneur en ces pigments dans l'huile est basée sur une méthode spectrophotométrique, l'absorption se fait à 470 nm. Une prise de 7,5 grammes d'huile est introduite dans une fiole jaugée de 25 ml qui sera remplie jusqu'au trait de jauge par du cyclohexane.

L'absorbance de la solution obtenue est mesurée par rapport à celle du solvant à 470 nm (Minguez-Mosquera et al, 1991).

La teneur en carotènes est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Carotenes (ppm)} = (A_{470} \times 25 \times 10000) / (2000 \times 7,5)$$

Où :

A 470 : absorbance à 470 nm

7,5 g : poids de l'huile

### 5-2-3. Détermination des Chlorophylles

La détermination de la teneur en pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive est effectuée selon la méthode décrite par (Wolff, 1968 ; Mosquera Minguez et al, 1991).

Elle consiste en une quantification par spectrophotométrie à des longueurs d'onde de 630, 670 et 710 nm.

La teneur en chlorophylle est donnée par la relation suivante :

$$\text{Chlorophylle (ppm)} = \frac{A_{670} - (A_{630} + A_{710}) / 2}{0,1086 \times L}$$

A 630 : absorbance à 630 nm par rapport à une cuve de référence contenant de l'hexane

A 670 : absorbance à 670 nm

A 710 : absorbance à 710 nm

L : trajet optique = 1 cm

0,1086 : coefficient lié à l'appareil.



## 6.ACTIVITES BIOLOGIQUES

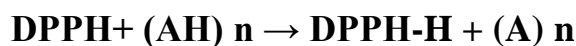
### 6-1 Activité antioxydante

#### ➤ Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile (Test au DPPH)

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de l'huile d'olive a été réalisée par le test du DPPH.

- **Principe**

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), notre n radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopez. Lutz et al. 2008)

- **Mode opératoire**

Le DPPH est solubilisé dans le méthanol pour avoir une solution 0.3Mm. Dans des tubes, on introduit un volume de 100µl de chaque extrait (0.1mg/ml dans le méthanol) est incubé (30mn) avec 1900 µl d'une solution méthanolique de DPPH (2.4mg/ 100ml de méthanol).

Les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Le contrôle négatif est composé de 1900µl de la solution méthanolique au DPPH et de 100 µl de méthanol.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard le BHT.

## 6-2 Activité antibactérienne

### 6-2-1. Matériel biologique

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive a porté sur 09 souches bactériennes gracieusement fournies par le Laboratoire de Bactériologie, de l'EPH IBN ZOHR de Guelma., et sont représentées par :

**Des souches de références (A: Américain T: Type C: Culture C: Collection):**

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Salmonella* ATCC 13076

### Des souches cliniques

- *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase -(KPC -)
- *Acinetobacter baumannii*
- *Salmonella typhimurium*

## 6-2-2. Protocoles expérimentaux mis en place

### 6-2-2-1. Méthode de diffusion par disques

- **Principe**

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles. Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles préalablement sélectionnées et reconnues.

- **Protocole expérimental**

- ❖ **Milieu de culture**

- ✓ Milieu Mueller Hinton gélosé.
- ✓ Il est liquéfié par ébullition puis maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi.

### ❖ Repiquage des souches à tester

- ✓ Réaliser un prélèvement de quelques colonies à partir de milieux de conservation des souches à tester.
- ✓ Procéder à l'ensemencement des boîtes par la méthode des stries.
- ✓ Retourner les boîtes et incuber à  $35 \pm 2$  °C pendant 24h (chaque souche possède une température ainsi qu'un temps d'incubation spécifiques).

### ❖ Préparation de l'inoculum

- ✓ A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine flambée et refroidi quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- ✓ Bien décharger l'anse dans 2 ml d'eau distillée stérile.
- ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, lue à 625nm.

### ❖ Ensemencement

- ✓ Procéder à l'ensemencement par la technique d'inondation.
- ✓ Laisser la boîte sécher 20 min, puis enlever le surnageant.
- ✓ Avec un écouvillon stérile faire des stries serrés 3 fois avec une rotation de 60° à chaque fois.

### ❖ Méthode de diffusion

- ✓ Dans chaque boîte, déposer à l'aide d'une pince stérile un disque de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre imbibé par 10 µl d'huile d'olive.
- ✓ Une boîte témoin contenant huit antibiotiques (Pénicilline : P10, Céfazoline : KZ 30, Amikacine : AK 30, Chloramphénicol : C30, Clindamicine : DA2, Triméthoprime : SXT, Ofloxacine : OF5, Tétracycline TE30) a été préparée pour chaque souche.
- ✓ Incuber les boîtes à 37 °C pendant 24h.

### ❖ Lecture

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

## 6-2-2-2.Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

### • Définition

La CMI correspond à la concentration minimale inhibitrice ou bien la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber dans un milieu (milieu liquide ou solide), toute culture visible de la souche étudiée (**Prescott *et al.*, 2013**).

- **Réalisation de la CMI**

- ❖ **Préparation de l'inoculum bactérien**

- ✓ A partir d'une culture pure de 18 à 24 h, on réalise la suspension bactérienne.
- ✓ A l'aide d'une pipette pasteur, on prend des colonies bien isolées et identiques et les mettre dans 2 ml d'eau physiologique
- ✓ Homogénéiser la suspension bactérienne.
- ✓ Mesurer la densité optique (DO) de chaque inoculum à l'aide d'un spectrophotomètre (figure 1) pour obtenir des suspensions bactériennes avec une DO comprise entre 0.08 et 0.10 à une longueur d'onde de 625 nm.

- ❖ **Préparation de la gamme de dilutions**

- ✓ A l'aide d'une micropipette, prélever 1 ml d'huile d'olive.
- ✓ Mettre cette quantité dans un tube contenant 9 ml de DMSO (diméthylsulfoxyde) pour obtenir une solution mère de 1024 µg/ml.
- ✓ Homogénéiser la solution.
- ✓ Procéder aux dilutions semi-logarithmiques (de demi en demi) dans le DMSO jusqu'à la concentration finale de 0.5 µg/ml.

- ❖ **Préparation des boîtes de dilutions**

- ✓ Dans des tubes stériles, déposer 18 ml de gélose Muller Hinton (MH) préalablement liquéfié et homogénéiser avec 2 ml de chaque concentration de l'huile testée.
- ✓ Couler le contenu de chaque tube dans la boîte de pétri correspondante.
- ✓ Préparer une boîte témoin en mettant de l'eau distillée stérile au lieu de la concentration de l'huile testée.
- ✓ Après solidification du milieu, couvrir les boîtes de pétri par un papier aluminium et les mettre au réfrigérateur pour une bonne diffusion de l'huile dans le MH pendant 20 min.

- ❖ **Ensemencement**

- ✓ Préparer un canevas pour localiser et identifier chaque spot bactérien.
- ✓ Ajuster chaque boîte de dilution sur le canevas et déposer un spot à partir de chaque inoculum à l'aide d'une pipette pasteur.
- ✓ Commencer par la boîte témoin, en allant de la plus faible concentration (0.5 µg/ml) à la concentration la plus élevée (1024 µg/ml)
- ✓ Après absorption de l'inoculum pendant 30 min, incuber les boîtes à 37 °C pendant 24h.

### ❖ Lecture de la CMI

- ✓ Placer la boîte sur une surface sombre
- ✓ Observer la présence ou l'absence des colonies dans les boîtes de différentes concentrations par rapport à la boîte témoin.
- ✓ Noter la CMI (la plus faible concentration de l'huile d'olive qui inhibe toute la croissance bactérienne visible ou qui entraîne un changement marqué de croissance).

## 6-3 Activité antidiabétique

### 6-3-1 Animaux et régime

Vingt-quatre rats mâles Wistar albinos pesant (140 à 150 g) provenant de l'institut Pasteur d'Alger, ont été séparés et divisés en groupes de 6 rats par cage avec accès ad libitum à l'eau et un régime standard pour les rats (UAB: unité nationale d'alimentation animale, Bejaia).

Ils ont également été maintenus et entretenus dans des conditions de température et de lumière ( $24 \pm 1$  ° C et 12 h de cycle lumière / obscurité) respectivement et une hygiène stricte pendant quelques jours, pour l'acclimatation.

Les expériences ont été réalisées conformément aux directives du Guide pour la prise en charge et l'utilisation des animaux de laboratoire (**Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**).

### 6-3-2 Induction du diabète

Le diabète a été induit après une nuit de jeûne des rats par injection de streptozotocine à la dose de 60 mg / kg de poids corporel par voie intraveineuse.

La streptozotocine induit le diabète dans les trois jours en détruisant les cellules bêta de Langerhans (**Karunanayake et al., 1975**).

En raison de l'hypoglycémie aiguë, les rats ont reçu 10 % de solution de saccharose pendant 48 h à la place de l'eau.

Des échantillons de sang ont été recueillis à partir de la partie terminale des queues. La glycémie a été mesurée par glucomètre.

Les rats avec un taux de glucose sanguin  $\geq 300$  mg / dL (16,7 mmol / l) ont été considérés comme diabétiques. (**Alirezaei et al., 2012**).

### 6-3-3 Protocole expérimental

L'expérience a été lancée juste après le déclenchement du diabète et la sélection des rats diabétiques. L'expérience était de 38 jours.

Les groupes sont répartis comme suit:

**1<sup>er</sup> groupe** en tant que contrôle (Contrôle),

**2<sup>ème</sup> groupe** comme diabétique non traité (DIAB) ,

**3<sup>e</sup> groupe** : rats non diabétiques reçoit (02 ml) d'huile d'olive (NDIABO 02 ml) et le

**4<sup>ème</sup> groupe** diabétique reçoit (02 ml) d'huile d'olive (DIABO 02 ml). **Figure 15**

Les doses d'huile d'olive ont été administrées deux fois par jour, le matin et l'après midi, pendant les 38 jours de l'expérience.

Les poids corporels hebdomadaires sont mesurés avec une balance « KERN » et les glycémies ont été mesurés à l'aide d'un glucomètre « Accu check » pendant toute la période expérimentale.

Au moment du sacrifice, les foies et les reins des rats ont été prélevés, rincés avec une solution saline physiologique et séchés. Les organes ont été pesés immédiatement.

### 6-3-4 Analyse des paramètres sanguins

À la fin de la période expérimentale, les rats ont été sacrifiés après un jeûne d'une nuit. Des échantillons de sang ont été immédiatement recueillis dans des tubes préalablement étiquetés.

Après centrifugation à 3500 tr / min pendant 10 min, le sérum obtenu sera utilisé pour les dosages du glucose sérique (SG), de cholestérol total (TC), de triglycérides (TG), de densité élevée niveaux de cholestérol des lipoprotéines (HDLc), les analyses ont été effectués par spectrophotométrie, conformément aux spécifications du fournisseur des Kits standard « SPINREACT » .

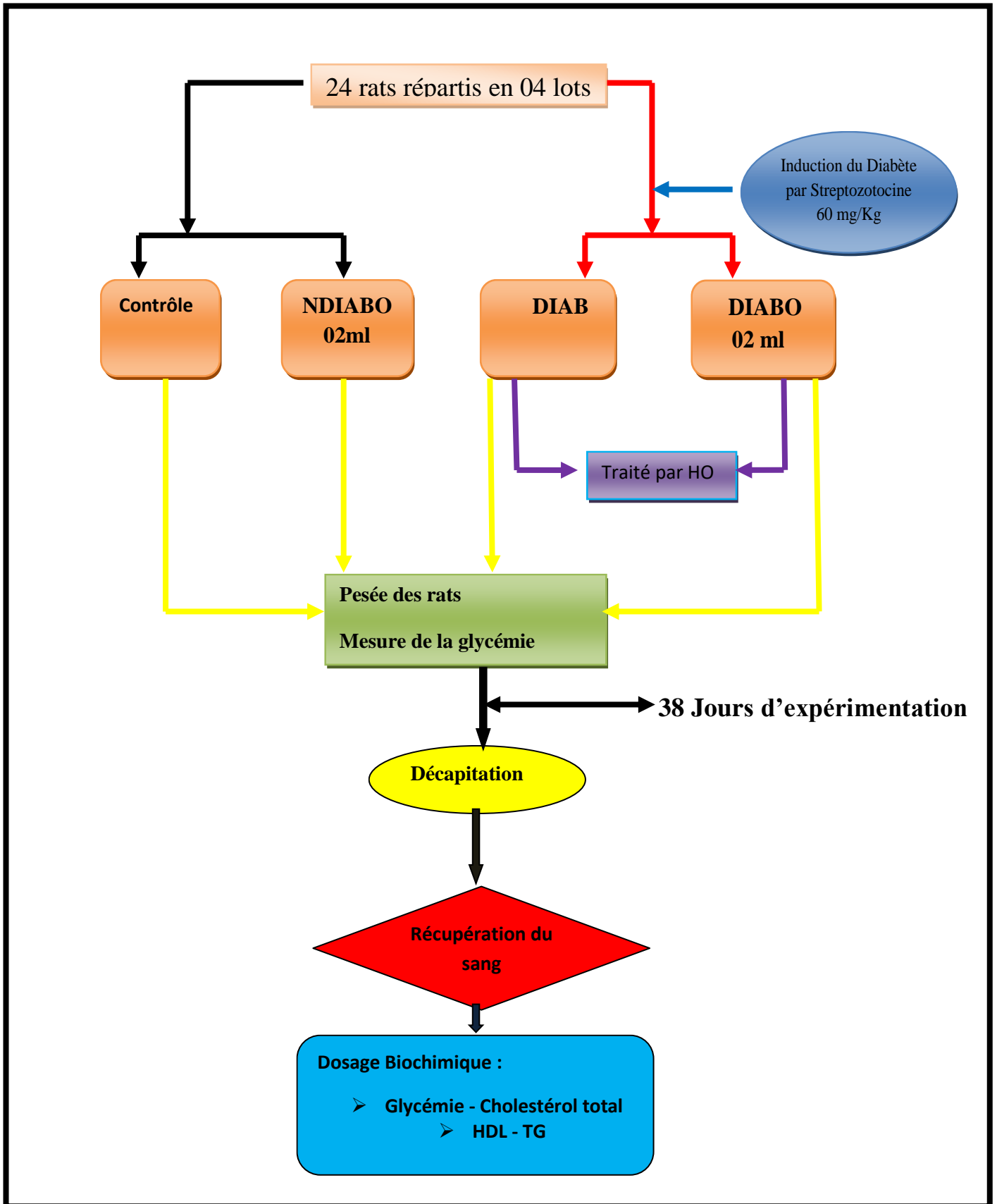


Fig. 15: Protocole expérimental

### 6-3-5 Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été présentés en moyenne plus ou moins l'écart-type (moyenne  $\pm$  SEM). L'analyse statistique a été effectuée par une analyse de la variance à sens unique (ANOVA) suivie de tests de comparaison multiple de Tukey à l'aide de **Prisme Graph Pad 5**.

Le niveau d'importance était: significatif lorsque  $P \leq 0,05$ ; hautement significatif lorsque  $P \leq 0,01$  et très hautement significatif lorsque  $P \leq 0,001$ .



RESULTATS  
ET  
DISCUSSION

**1- CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE DE LA VARIETE**

**«ROUGETTE»**

**1-1. Identification de la variété**

Le Tableau V montre les caractéristiques morphologiques de la variété d’olivier.

**Tableau V** : Caractéristiques morphologiques de la variété d’olivier.

<b>Caractères Composants</b>	<b>Caractères morphologiques (Figure 24)</b>	<b>Caractères morphologiques (Mendil et Sebai, 2006)*</b>
<b>Feuille :</b> - Forme - Longueur - Largeur - Courbure longitudinale du limbe	- Elliptique lancéolée - Moyenne (6,3 cm) - Moyenne (01cm) - Plan	- Elliptique lancéolée - Moyenne - Moyenne - Plan
<b>Fruit :</b> - Poids - Forme - Symétrie - Sommet - Base - Mamelon - Présence Lenticelles - Dimension Lenticelle - Couleur en pleine maturation	Moyen Ovoïde Légèrement asymétrique Pointu Tronquée Absent Peu nombreuses Petites Noir	Moyen Allongée Léger asymétrique Centrale Pointu Tronquée Absent Peu nombreuses Petites Noir

\* : Rougette de Mitidja

D’après ce tableau, (figure 16) on observe que cette variété est caractérisée par des feuilles elliptiques lancéolées de longueur et largeur moyenne ; un fruit pointu au sommet, tronquée à la base avec absence de mamelon, présence de petites lenticelles peu nombreuses et de couleur noire à maturité.

Ces caractéristiques correspondent presque à celles décrites par (Mendil et Sebai, 2006) pour la variété Rougette de la Mitidja.



Fig. 16 : photo montrant des feuilles et les fruits Rougette de Kerkera

### 1-2. Détermination des caractéristiques physicochimiques

La détermination de quelques caractéristiques physicochimiques de notre échantillon, tableau VI, a été effectuée au sein de laboratoire de la « CGS » la Belle Annaba.

Tableau VI : Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive « Rougette ».

Caractéristiques	Valeurs	Normes C.O.I 2015
Acidité libre (g d'acide gras Oléique /100g d'huile)	0,69 %	< 3 %
Couleur $C = X_J + Y_R + Z_B$	$C = 30J + 3R$	$J \leq 7 + R \leq 0,8$
$I_p$ (Meq d'O <sub>2</sub> /kg l'huile)	7,45	$\leq 20$
Phosphatides (%)	1,66	< 1
Indice de saponification (Is) mg KOH/g AG	189,99	184-196
Humidité	0,107 %	$\leq 01$ %
Mucilage	Légère trace	
Impuretés	0,035	

- **Indice d'acidité**

C'est un indicateur permettant d'évaluer l'altération de la matière grasse, consécutive à de mauvais traitements ou à une mauvaise conservation. Il permet de déterminer la teneur en acides gras libres résultant de l'hydrolyse des triglycérides.

Il est exprimé en % d'acide oléique, et est mesuré par la quantité de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras (huile d'olive).

L'acidité de cette huile d'olive est de 0,69 d'acide oléique/100g d'huile, cette valeur est supérieure à celles trouvées pour d'autres variétés d'huile extra vierge Algérienne (**Bengana et al, 2013**) et tunisiennes (**Baccouri et al, 2008**) mais inférieure à celles des variétés extra vierge turques rapportées par (**Arslana et al, 2012**).

Cette acidité faible pourrait être liée, soit à :

- la richesse du sol en calcaire car selon (**Essiari et al 2014**), les huiles provenant des sols calcaires ont une acidité basse
- la bonne conduite des opérations d'extraction de l'huile.
- une activité lipasique faible de cette variété (**Chimi. ; 2001**).

- **Indice de peroxyde**

L'altération chimique des corps gras provoquée par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde. La détermination de cet indice est basée sur l'oxydation des iodures en iode par l'oxygène actif du peroxyde. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'oxygène actif par kg de corps gras.

La norme internationale recommandée pour les huiles d'olive, fixe le minimum de cet indice à 20mEq d'oxygène actif par kg d'huile. La détermination de cet indice est insuffisante pour avoir une image exacte de l'état d'oxydation d'une huile, car un chauffage à 130°C détruit les peroxydes pour donner naissance à des aldéhydes, et des cétones, responsables des corps rances.

L'indice de peroxyde de l'huile renseigne sur l'état de son oxydation. Cette huile présente un indice de peroxyde de 7,45 Mécq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile. Cette valeur est assez faible comparée aux valeurs limites du COI (Ip=20) (**C.O.I, 2015**), indiquant une faible oxydation de l'huile.

- **Indice de saponification**

La mesure de l'indice de saponification peut s'avérer utile car cet indice varie selon la **qualité de l'huile : vierge (brute) ou raffinée**, ou même en fonction des conditions opératoires de pressage.

L'indice de saponification correspond à la masse de potasse (KOH) - en mg - nécessaire pour saponifier les esters d'acides gras et neutraliser les acides gras non estérifiés dans un gramme de matière grasse/corps gras.

La quantité de potasse KOH utilisée varie avec la masse molaire des acides gras. Plus la masse molaire est élevée, plus l'indice de saponification est faible : l'indice de saponification est donc une mesure indirecte de la masse molaire des acides gras.

L'indice de saponification de l'huile d'olive étudiée est de l'ordre de 189,99 mg KOH/ g d'huile ; ceci montre que cette huile est moins riche en acide gras à longue chaîne, ce paramètre étant inversement proportionnel à la longueur de la chaîne (**Harper, 1977**).

- **Humidité**

L'humidité de notre échantillon est dans les normes, donc il n'y aura pas de risque d'hydrolyse des corps gras

- **Couleur**

L'huile d'olive contient deux types de pigments : les chlorophylles et les caroténoïdes.

Pour la couleur jaune est le critère de chlorophylle, sa teneur varie en fonction des acteurs biologiques et technologiques, la couleur rouge est le critère de  $\beta$  carotène

On remarque que notre échantillon est riche en pigments colorés (les chlorophylles et le  $\beta$  carotène) mais ne présente aucun risque sur la santé des consommateurs.

- **Phosphatides**

Le résultat montre un taux légèrement élevé. Il faut savoir qu'une teneur élevée en phosphatides n'est pas souhaitable car elle confère à l'huile d'olive un goût désagréable. En plus les phosphatides sont souvent liés à des métaux ( $Fe^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ) catalyseurs d'oxydation ; ce qui provoque l'acidification de l'huile d'olive.

- **Mucilage**

Notre échantillon d'huile renferme des traces de mucilage très légères.

### 2-COMPOSITION EN ACIDES GRAS DE L'HUILE D'OLIVE

#### 2-1. Acides gras

La composition en acide gras de l'huile d'olive sont indiquées dans le tableau VII.

Il existe trois principaux types d'acides gras qui peuvent être présents dans un triglycéride, Acide Gras Saturé «AGS» (Cn: 0), Acide Gras Monoinsaturés, «AGMI» (Cn: 1) et Acide Gras Polyinsaturé, («AGPI» avec deux ou trois doubles liaisons (Cn: 2, 3).

**Tableau VII** : composition en acides gras de l'huile.

Composé	(%) /AG Totaux	Normes C.O.I
<b>Acide Palmitique (C16 :0)</b>	<b>14,40</b>	<b>07,50 – 20,00</b>
<b>Acide Palmitoléique (C16 : 1)</b>	<b>00,91</b>	<b>00,30 – 03,50</b>
<b>Acide Linoléique (C 18 : 2)</b>	<b>01,59</b>	<b>02,50 – 21,00</b>
<b>Acide Oléique (C18 : 1)</b>	<b>81,14</b>	<b>55,00 – 83,00</b>
<b>Acide Stéarique (C18 :0)</b>	<b>01,96</b>	<b>00,50 – 05,00</b>
<b>AGS</b>	<b>16,36</b>	
<b>AGMI</b>	<b>82,05</b>	
<b>AGPI</b>	<b>01,59</b>	

Les résultats obtenus montrent que la composition en acides gras de cette huile d'olive étudiée répond aux normes fixées par le conseil oléicole international (COI., 2001).

Elle est riche en acide oléique (C18 : 1, ω9) avec un pourcentage de (81,14 %) ce pourcentage est plus élevé que pour d'autres variétés Algérienne, Limli, Blanquette et Bouricha ( Benrachou et al, 2010).☒

Des études prospectives (Jacotot., 1997) montrent qu'un régime à prédominance d'AGMI est associé à une amélioration de l'équilibre glycémique évalué par la glycémie, la glycosurie

et l'hémoglobine glyquée avec une diminution des besoins en insuline. Le profil lipidique est également amélioré.

Une étude menée par Madigan (**Madigan ., 2000**) compare les effets d'un régime riche en AGPI à un régime riche en AGMI chez 11 patients atteints de diabète de type 2 pendant 2 semaines. Les résultats montrent une élévation des taux de glucose et d'insuline dans le sang à la suite du régime riche en acide linoléique comparé à un régime riche en acide oléique.

Donc un régime à base d'acide oléique doit être préféré à un régime riche en acides gras polyinsaturés chez le patient diabétique de type 2.

Le groupe de recherche de Mancini (**Mancini., 1997**) a montré qu'un régime riche en huile d'olive, pauvre en graisses saturées, modérément riche en glucides et apportant des fibres solubles fournies par des fruits, des légumes et des céréales est la meilleure solution diététique dans le diabète de type 2. Il améliore le contrôle de la glycémie et majore la sensibilité à l'insuline.

Les résultats concernant la glycémie à jeun ont montré que plus la consommation d'huile d'olive est élevée, plus la glycémie à jeun est basse.

Il a de même montré que, chez des diabétiques non insulino-dépendants, une alimentation riche en AGMI et pauvre en glucides complexes abaisse significativement la glycémie, l'insulinémie et la triglycéridémie postprandiale par rapport à un régime pauvre en AGMI et riche en glucides complexes.

Ainsi, Mancini affirme qu'il n'est donc manifestement pas possible de recommander aux diabétiques non insulino-dépendants un régime pauvre en graisses. Au contraire, il pourrait demander à ces malades de remplacer les glucides par l'huile d'olive (**Henry., 2003.**)

Par ailleurs, le pourcentage en acide linoléique (C 18 : 2  $\omega$  6) est de 01,59% s'avère suffisante pour prévenir une carence en acide gras essentiel (**Lapillone et al., 2003**).

Par contre cette huile contient de acides gras saturés représentés par l'acide palmitique C 16 : 0 (14,40 %) et l'acide stéarique C 18 : 0 (1,96 %).

Il faut signaler que les autorités sanitaires du monde entier encouragent les populations à diminuer la consommation d'acides gras saturés, en raison de nombreuses études qui ont

prouvés qu'ils peuvent augmenter le «mauvais» cholestérol et par conséquent un risque plus élevé des maladies cardio-vasculaires (A.H.A, 2018).

### 2-2.Composés mineurs

Seuls trois composés ont été dosés a savoir : les polyphénols totaux, les carotènes et les chlorophylles. Les résultats sont présentés sur le tableau VIII. La concentration des totaux dans l'huile d'olive sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

**Tableau VIII:** composition en composés mineurs de l'huile vierge de la variété Rougette

Composés	Quantités	Normes (COI, 1999)
<b>Polyphénols totaux (mg EAG/l d'huile)</b>	<b>203</b>	
<b>Carotènes</b>	<b>6,8</b>	
<b>Chlorophylles (mg/Kg)</b>	<b>1,48</b>	<b>1 à 10</b>

La quantité de polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'huile).  $C = V * C / M = 1 * 0,185 / 0,91 = 0,203$  mg EAG/ml ou 203 g /l.

D'après les résultats notre échantillon renferme une quantité minimale par rapport aux résultats préconisés par **Huang et al., 2008** qui donne une valeur de 236 g/l pour son échantillon.

Nos résultats présentent des teneurs en chlorophylle inférieurs à celles obtenues par (**Lazzez et al. 2006**) qui présentent une valeur de 12mg/kg pour les chlorophylles.

La diminution de la teneur en chlorophylle durant la maturation pourrait être expliqué par la transformation de la chlorophylle a et chlorophylle b en phéophytine a et phéophytine b, qui confère à l'huile une coloration jaune (**Bengana et al., 2013 ; Boulfane et al.,2014**)

Le résultat de la teneur en caroténoïdes est proche de celui obtenu par (**Lazzez et al. 2006**) qui présente une valeur de 6,5à 2mg/kg pour les caroténoïdes.

La présence des caroténoïdes dépend de plusieurs facteurs, tels que le cultivar, le sol, le climat, la maturation des fruits et aussi les conditions appliquées pendant la transformation des olives (**Tanouti et al., 2011**).



### 3-ACTIVITES BIOLOGIQUES

#### 3-1.Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile (Test au DPPH)

La méthode DPPH a été choisie, en raison de sa simplicité, rapidité, sensibilité et de sa reproductibilité. L'inhibition du DPPH radicalaire a été évaluée pour notre échantillon d'huile d'olive

Une valeur faible d'IC50 indique une activité antioxydante forte. Le pourcentage d'inhibition (% I) a été calculé.

- **Expression des résultats**

En présence d'un antioxydant, la force d'absorption est diminuée et la décoloration résultante est stœchiométrique en ce qui concerne le nombre d'électrons captés.

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[ \frac{\text{Abs Contrôle négatif} - \text{Abs Echantillon}}{\text{Abs (Contrôle négatif)}} \right]$$

**% d'inhibition:** pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire ;

**Abs Echantillon :** Absorbance de l'échantillon ; **Abs Control négatif :** Absorbance du control négatif.

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{1,9 - 0,15}{1,9} = 0,92$$

Cette activité antioxydante de l'huile d'olive serait due à sa richesse en antioxydants notamment en composés phénoliques (Benmlih et Ganam, 2012) qui peuvent exercer un effet antioxydant important même in vivo (Bonanome et al., 2012).

Les travaux de Galvano et al. (2007) ont reporté une corrélation positive entre l'activité antioxydante de l'huile d'olive et sa teneur en composés phénoliques, mais cette activité n'est pas attribuée seulement au facteur quantitatif, dont la qualité du contenu phénolique joue un rôle déterminant pour cette activité biologique (Morello et al., 2004). La part de la fraction phénolique dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive est de 30%, cette contribution est la plus importante comparativement aux autres fractions, notamment la

composition en acide gras et en caroténoïdes qui participent à environ 27% et 6% respectivement (**Apparicio et al., 1999**)

Malgré son pouvoir antioxydant inférieur à celui des antioxydants synthétiques, l'huile d'olive reste très avantageuse par sa capacité de continuer à piéger les radicaux libres pour une durée allongée qui peut s'étendre jusqu'au six jour (**Keceli et Gordon, 2001**). Ce potentiel antioxydant confère à l'huile d'olive un grand intérêt dans la prévention contre les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement (**Benmlih et Ganam, 2012**).

### 3-2. Activité antibactérienne

#### 3-2-1. Résultats de la détermination de la CMI sur milieu gélosé

- **Effet de l'huile d'olive sur les bactéries cocci à Gram positif**

Le tableau IX regroupe les valeurs de la concentration minimale inhibitrice obtenue après traitement des bactéries cocci à Gram positif avec les différentes concentrations de l'huile d'olive.

**Tableau IX.** Valeurs de l'effet de l'huile d'olive sur les Cocci à Gram positif.

	Souches	CMI (µg/ml)
Cocci à Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	0.5
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	2
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	32

Nos résultats montrent qu'une CMI de 0.5 µg/ml a été obtenu avec la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

- **Effet de l'huile d'olive sur les bactéries à Gram négatif**

- **Effet sur les entérobactéries lactose positif**

Le tableau X représente les valeurs de la concentration minimale inhibitrice obtenue après traitement des entérobactéries lactose positif aux différentes concentrations de l'huile d'olive testée.

**Tableau X.** Valeurs de l'effet de l'huile d'olive sur les entérobactéries à lactose positif.

	Souches	CMI (µg/ml)
Entérobactéries lactose positif	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénèmase -	0.5

Nous remarquons que la CMI de KPC –est de l'ordre de 0.5 µg/ml et que pour *E. coli*, elle est de 1 µg/ml.

### - Effet sur les entérobactéries lactose négatif

Le tableau XI regroupe les valeurs de la concentration minimale inhibitrice obtenue après traitement des entérobactéries lactose négatif aux différentes concentrations de l'huile d'olive.

**Tableau XI.** Valeurs de l'effet de l'huile d'olive sur les entérobactéries à lactose négatif.

	Souches	CMI (µg/ml)
Entérobactéries lactose négatif	<i>Salmonella</i> ATCC 13076	16
	<i>Salmonella typhimurium</i>	2

Nous constatons que pour la souche *Salmonella typhimurium* la CMI est de l'ordre de 2 µg/ml.

### - Effet sur les bacilles à Gram négatif non entérobactéries

Le tableau XII regroupe les valeurs de la concentration minimale inhibitrice obtenue après traitement des bacilles à Gram négatif aux différentes concentrations de l'huile testée.

**Tableau XII.** Valeurs de l'effet de l'huile testée sur les entérobactéries à lactose négatif.

souches		CMI (µg/ml)
Bacilles à Gram négatif non entérobactéries	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2

Nos résultats montrent qu'une CMI de 2 µg/ml a été obtenue avec la souche *Acinetobacter baumannii*.

### 3-2-2. Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive par la méthode de diffusion sur disques

- Effet de l'huile d'olive sur les bactéries cocci à Gram positif

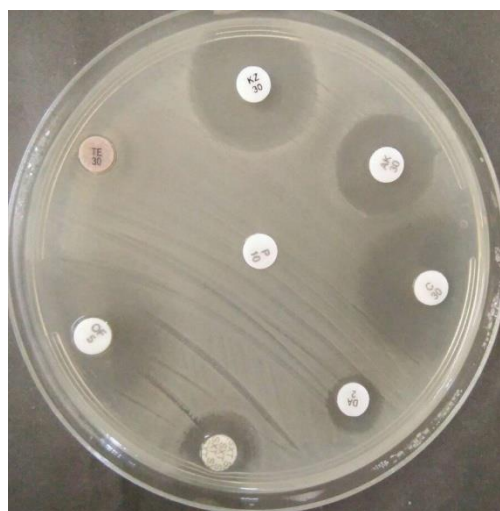
Le tableau XIII regroupe les valeurs des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive sur les cocci à Gram positif.

**Tableau XIII.** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des Cocci à Gram positif traités par l'huile d'olive.

Souches		Diamètre d'inhibition (mm)
Cocci à Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	11
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	13
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	R

#### R : Résistant (< à 6mm)

Nous remarquons que le diamètre des zones d'inhibition obtenues avec l'huile d'olive est de 11 mm avec la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et de 13 mm avec la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 testés par rapport au témoin positif (Figure 17) où les zones d'inhibition se situent dans l'intervalle entre 20 et 28 mm.



**Fig.17** Antibiogramme des souches de *S.aureus* ATCC 43300.

Pénicilline : P10 ; Céfazoline : KZ 30 ; Amikacine : AK 30 ; Chloramphénicol : C30  
Clindamicine : DA2 ; Triméthoprime : SXT ; Ofloxacine : OF5 ; Tétracycline : TE30.

- **Effet de l'huile d'olive sur les bactéries à Gram négatif**

- **Effet sur les entérobactéries lactose positif**

Le tableau XIV regroupe les valeurs des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive sur les entérobactéries lactose positif.

**Tableau XIV.** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des entérobactéries à lactose positif traité par l'huile d'olive.

Souches		Diamètre d'inhibition (mm)
<b>Entérobactéries</b>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	16
<b>lactose positif</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénèmase -	16

Une CMI de 16 µg/ml a été obtenue avec les souches *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmase -.

- **Effet sur les entérobactéries lactose négatif**

Nous avons regroupé dans le tableau XV les valeurs des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive testée sur les entérobactéries lactose négatif.

**Tableau XV.** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des entérobactéries à lactose négatif traité par l'huile d'olive

Souches		Diamètre d'inhibition (mm)
Entérobactéries lactose négatif	<i>Salmonella</i> ATCC 13076	R
	<i>Salmonella typhimurium</i>	R

**R : Résistant (< à 6mm)**

Nos résultats montrent que l'huile d'olive testée n'a présentée aucun effet inhibiteur sur les souches de *Salmonella typhimurium* et *Salmonella* ATCC 13076 avec des zones d'inhibition inférieurs à 6 mm.

- **Effet sur les bacilles à Gram négatif non entérobactéries**

Le tableau XVI représente les valeurs des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive utilisée sur les bacilles à Gram négatif non entérobactéries.

**Tableau XVI.** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition des bacilles à Gram négatif non entérobactérie traité par l'huile d'olive.

Souches		Diamètre d'inhibition (mm)
Bacilles à Gram négatif non entérobactéries	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	14
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	14

Nous pouvons remarquer que le diamètre des zones d'inhibition de l'huile d'olive pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Acinetobacter baumannii* est de l'ordre de 14 mm.

De nos jours, il faut encore de nouvelles méthodes pour réduire ou éliminer les agents pathogènes.

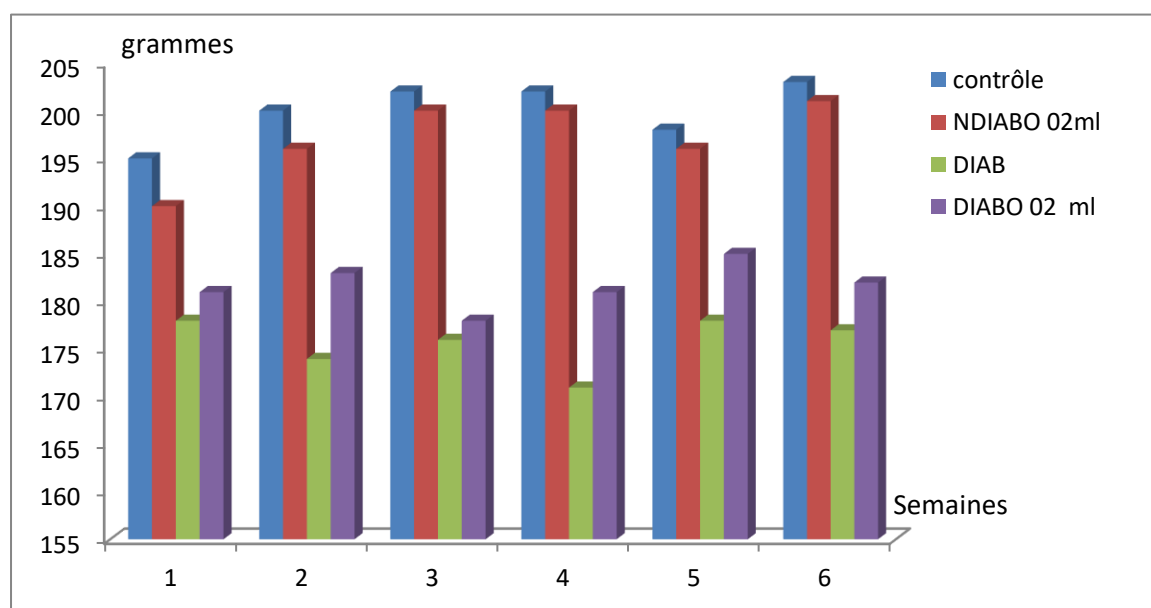
L'objectif était de savoir l'effet bactéricide de l'huile d'olive sur plusieurs microorganismes. On peut conclure que l'huile d'olive de notre variété a une forte action « large spectre » antibactérienne sur quelques souches tel que *Klebsiella pneumoniae carbapénémase négatif*, *Escherichia coli* ATCC 259222 alors on remarqué une action moyenne sur les souches tel que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ainsi aucune action « résistance » sur les autres souches telque *Salmonella* ATCC 13076 nos résultats sont en accord avec les travaux de **Sudjana et al 2009** et **Lim et al 2016** sur l'extrait de feuille d'olivier

### 3-3. Activité antidiabétique

#### 3-3-1. Effets de l'huile d'olive sur certains paramètres biologiques

- **Suivi des poids corporels et poids des organes**

Les résultats des poids corporels obtenus sont présentés sur la figure 18.



**Fig. 18:** suivi des poids corporels pendant la période d'expérimentation.

**La 1<sup>ère</sup> semaine :** nos résultats montrent une perte de poids entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot témoin sain « contrôle » (DIAB : -08 vs Contrôle : + 05). L'étude montre un gain du poids entre les rats du lot témoin « Contrôle » par rapport aux rats des lots non diabétique recevant 02ml d'huile d'olive et diabétique recevant 02ml d'huile d'olive « DIABO » (Contrôle : + 05, NDIABO : +03 et DIABO : +03) mais il existe une

différence entre les lots diabétiques non traité « DIAB » et les rats diabétiques recevant 02ml d'huile d'olive « DIABO » ( DIAB : -08 et DIABO : +03) .

**La 2<sup>ème</sup> semaine :** nos résultats montrent une perte de poids entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot témoin sain « contrôle »; (DIAB : -04 vs Contrôle : + 05) et un gain du poids entre les rats du lot témoin « Contrôle » par rapport aux rats des lots non diabétique recevant 02ml d'huile d'olive « NDIABO » (Contrôle : + 05, NDIABO : +06 )

mais il existe une différence entre les lots diabétiques non traité « DIAB » et les rats diabétiques recevant 02ml d'huile d'olive « DIABO » (DIAB : -04 et NDIABO : +02)

**La 3<sup>ème</sup> semaine :** on a enregistré une **baisse** de **poids** corporels entre les rats diabétique traité « DIABO » par rapport aux rats du lot diabétique « DIAB » et (DIABO : -06 vs DIAB : +02).

Ainsi un gain de poids entre les rats des lots témoin « Contrôle », non diabétique traité « NDIABO », par rapport aux rats du lot diabétique non traité « DIAB » (Contrôle : +02 ; NDIABO : +04 vs DIABO : +02) ;

**La 4<sup>ème</sup> semaine :** il existe une différence avec une **diminution** de poids corporel entre les rats diabétique non traité « DIAB » par rapport aux rats du lot diabétique traité « NDIABO » (DIAB : -05 vs NDIABO : +03).

L'étude a montré l'existence d'une différence marqué par le **gain** du poids entre les rats des lots témoin diabétiques traité « DIABO », par rapport aux rats du lot non diabétique traité « NDIABO » et les rats du lot témoin « Contrôle » (DIABO : +3,73 vs NDIABO : 0 et contrôle : 0)

**La 5<sup>ème</sup> semaine :** on a remarqué qu'il y a une perte de poids chez le lot témoin « Contrôle » et les rats du lot non diabétiques traité « NDIABO » (-04) par contre on a observé un gain du poids chez les deux lots diabétiques « DIAB » (-06) et les rats diabétiques traités « DIABO » (+04).

**La 6<sup>ème</sup> semaine :** on a enregistré qu'il y a un gain de nouveau de poids chez le lot témoin « Contrôle » et les rats du lot non diabétiques traité « NDIABO » (+05 et + 06) par contre on a observé un gain du poids chez les deux lots diabétiques « DIAB » (-01) et les rats diabétiques traités « DIABO » (-03)



Ces résultats montrent une augmentation des poids corporels des rats des lots témoins (Contrôle) et les rats non diabétiques traités par la dose 2ml ( NDIABO) liée a la croissance normale de ces animaux ainsi qu'une baisse des poids des diabétiques (DIAB) qui serait liée aux troubles métaboliques dues au diabète.

Le manque d'insuline active la lipolyse chez les tissus adipeux et causerait une perte du poids (**Prabhakar et al., 2008**). Une augmentation du poids des groupes diabétiques traités avec la dose 2ml (DIABO) a été observée, mais il reste inférieur à celui observé chez les rats témoins (Contrôle).

Cela suggère que l'huile d'olive a exercée un léger effet sur l'activité insulinique du pancréas, entraînant une légère lipogenèse qui a permis la récupération des poids corporels des rats ; ce gain de poids est également lié à la croissance normale des rats (**Davis, 2004**).

- **Poids relative des organes**

Les résultats des poids relatifs des organes (foie et rein) obtenus sont présentés sur le Tableau XII.

**Tableau XVII:** poids relatifs des organes (foie et reins)

Groupes	Poids relative des foies	Poids relative des reins
<b>Control</b>	5,15 ± 0,17	0,99 ± 0,05
<b>DIAB</b>	6,85 ± 1,08	1,35 ± 0,38
<b>NDIABO 02 ml</b>	6,05 ± 1,08	0,99 ± 0,18
<b>DIABO 02ml</b>	6,65 ± 0,39	1,24 ± 0,06

- **Foie**

On a trouvé qu'il existe une augmentation du poids relatifs des foies entre les rats diabétique non traité « DIAB » par rapport aux rats du lot témoin sain « contrôle » (DIAB : 06,85 vs Contrôle : 5,15 ), et on a constaté l'augmentation du poids relatifs des foies entre les rats des lots témoin diabétiques traité « DIABO », non diabétique traité « NDIABO », par rapport aux rats du lot témoin « Contrôle » (DIABO : 06,65 ; NDIABO : 06,05 vs contrôle : 05,15).

### - Reins

On a enregistré qu'il existe une augmentation du poids relatifs des foies entre les rats diabétique non traité « DIAB » par rapport aux rats du lot témoin sain « contrôle » (DIAB : 01,35 vs Contrôle : 0,99) avec l'augmentation du poids relatifs des foies entre les rats des lots témoin diabétiques traité « DIABO » par rapport non diabétique traité « NDIABO », (DIABO : 01,24 vs NDIABO : 0,99).

Les résultats précédents montrent que les poids relatifs des reins et des foies des rats diabétiques (DIAB) sont plus élevés par rapport aux rats des lots (Contrôle) et (NDIABO). Le foie joue un rôle majeur dans la régulation métabolique des nutriments alimentaires, y compris les glucides et les lipides (Mezey et al., 1999), or l'augmentation des poids relatifs des organes, peut être considérée comme un indicateur de la toxicité des substances utilisées, dans ce cas la streptozotocine. Nos résultats sont en accord avec les données bibliographiques de (Horiguchi et al., 1996).

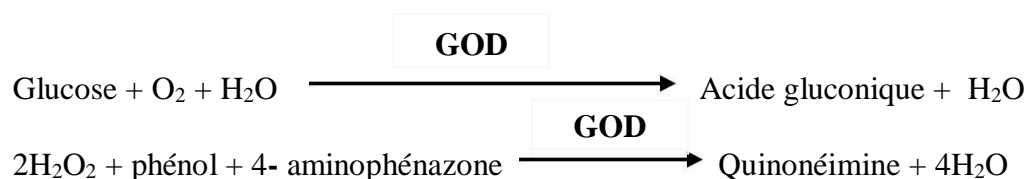
Plusieurs études montrent que des animaux nourris avec les régimes riches aux AGPI réduisent l'accumulation de graisse dans le foie comparativement aux régimes riches en acides gras saturés (Crescenzo et al.; 2012) ☒

À cet égard, Bjermo et al (Bjermo et al.; 2012). indiquent qu'une alimentation isocalorique riche en AGPI pendant dix semaines réduit la teneur en graisse du foie et tendance à réduire la résistance à l'insuline par rapport à un régime riche en acides gras saturés chez les personnes atteintes d'obésité abdominale et de diabète de type 2.

### 3-3-2. Analyse des paramètres sanguins

- Glycémies à jeun

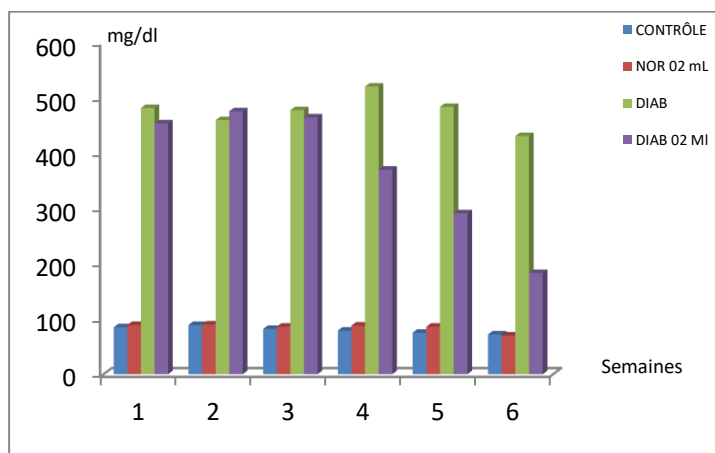
Le glucose est oxydé sous l'action de la glucose-oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ce dernier, en présence de peroxyde (POD) oxyde le phénol et le 4-aminophénazone (chromogène incolore) pour former la quinonéimine, un composé coloré en rouge violet (Barham & Trinder, 1972) selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

- **Suivi de la glycémie.**

Les mesures de la glycémie à jeun effectuées pendant la période de traitement sont indiquées sur la figure 19.



**Fig. 19** : Résultats des glycémies durant la période d'expérimentation.

- **variation de la glycémie:**

La variation de la glycémie des quatre lots (Contrôle, NDIABO, DIAB et NDIABO) pendant les six semaines de l'expérience et les résultats sont présentées dans le tableau XVIII.

**Tableau XVIII** : variation de la glycémie

lots	variation de la Glycémie
<b>Contrôle</b>	-20,00
<b>NDIABO</b>	-23,07
<b>DIAB</b>	-11,68
<b>NDIABO</b>	-61,06

**La 1<sup>ère</sup> semaine** : les mesures de la glycémie ont montrés qu'il existe une différence avec une augmentation du taux du glucose entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot diabétique traité « DIABO » par rapport aux rats du lot témoin « Contrôle »

(DIAB : 482, DIABO : 454 vs Contrôle : 85 ). Mais les taux du glucose chez les rats du lot non diabétique traité « NDIABO » et le lot témoin « Contrôle » sont des valeurs normales (NDIABO : 89 et Contrôle : 85).

**La 2<sup>ème</sup> semaine** : les valeurs de la glycémie ont montré qu'il existe une différence avec une augmentation du taux du glucose entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot diabétique traité « DIABO » par rapport aux rats du lot témoin « Contrôle » (DIAB : 460, DIABO : 476 vs Contrôle : 89 ). Mais les taux du glucose chez les rats du lot non diabétique traité « NDIABO » et le lot témoin « Contrôle » sont des valeurs normales (NDIABO : 90 et Contrôle : 89).

**La 3<sup>ème</sup> semaine** : la variation de la glycémie a montré qu'il existe une différence avec une augmentation du taux du glucose entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot diabétique traité « DIABO » par rapport aux rats du lot témoin « Contrôle » (DIAB : 478, DIABO : 465 vs Contrôle : 82 ). Mais les taux du glucose chez les rats du lot non diabétique traité « NDIABO » et le lot témoin « Contrôle » sont des valeurs normales (NDIABO : 86 et Contrôle : 82)

**La 4<sup>ème</sup> semaine** : le dosage de la glycémie a montré qu'il existe une différence avec une augmentation du taux du glucose entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot diabétique traité « DIABO » par rapport aux rats du lot témoin « Contrôle » (DIAB : 521, DIABO : 370 vs Contrôle : 79 ). Mais les taux du glucose chez les rats du lot non diabétique traité « NDIABO » et le lot témoin « Contrôle » sont des valeurs normales (NDIABO : 88 et Contrôle : 79).

**La 5<sup>ème</sup> semaine** : la variation de la glycémie a montré qu'il existe une différence avec une augmentation du taux du glucose entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot diabétique traité « DIABO » par rapport aux rats du lot témoin « Contrôle » (DIAB : 484, DIABO : 291 vs Contrôle : 75 ). Mais les taux du glucose chez les rats du lot non diabétique traité « NDIABO » et le lot témoin « Contrôle » sont des valeurs normales (NDIABO : 86 et Contrôle : 75).

**La 6<sup>ème</sup> semaine** : les mesures de la glycémie ont montrés qu'il existe une différence avec une augmentation du taux du glucose entre les rats diabétique non traité « DIAB » et les rats du lot diabétique traité « DIABO » par rapport aux rats du lot témoin « Contrôle » (DIAB : 431, DIABO : 183 vs Contrôle : 72 ). Mais les taux du glucose chez les rats du lot non diabétique traité « NDIABO » et le lot témoin « Contrôle » sont des valeurs normales (NDIABO : 70 et Contrôle : 72).

Le groupe « contrôle » ne montre aucun changement dans les concentrations de glucose dans le sang pendant 38 jours d'expérience. Cependant, pour le groupe diabétique (DIAB), une augmentation des taux de glycémie a été observée au cours de cette période. On a remarqué également une diminution importante de la glycémie à partir de la quatrième semaine chez le lot diabétique traité à l'huile d'olive (DIABO).

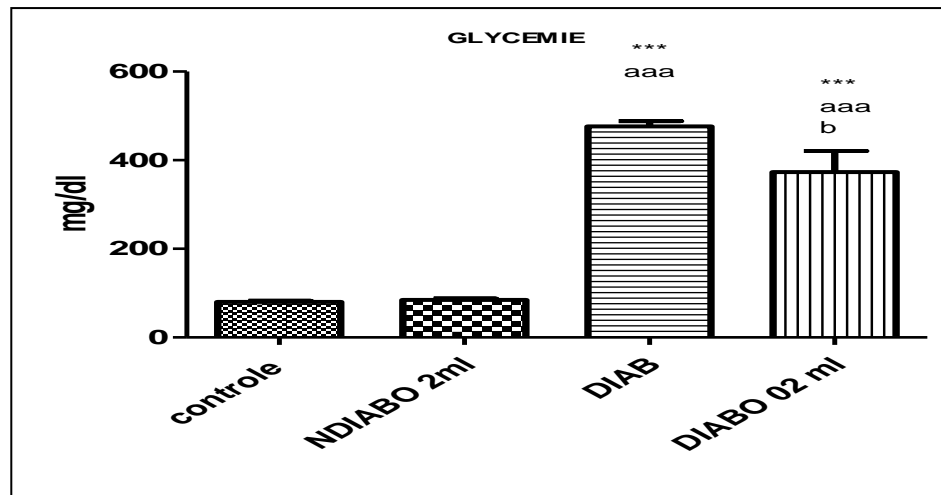


Fig. 20 : comparaison des moyennes des glycémies à jeun.

Les résultats statistiques obtenus, en utilisant l'analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie de tests de comparaison multiple de Tukey (Figure.20), montrent que les glycémies à jeun des rats DIAB et DIABO sont plus élevées chez ces lots comparés aux lots contrôle et NDIAB avec une différence très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ).

De même, on observe une baisse significative ( $P \leq 0,05$ ) entre les glycémies à jeun des lots DIAB et DIABO mais les glycémies des DIABO restent plus élevées que celle du lot contrôle.

D'après ces résultats on peut déduire que l'augmentation de la glycémie à jeun chez les lots diabétiques serait lié à l'effet diabétique de la streptozotocine sur les cellules pancréatiques (Kemasari et al., 2011) et le manque de traitement des rats. (Guillausseau et al., 2003).

Le traitement à l'huile d'olive a amélioré la glycémie à jeun en entraînant une baisse chez le lot DIABO comparé au lot NDIAB ; ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Violi et al (Violi et al., 2015).

Mais ce traitement et sa durée n'ont pas permis une normalisation de cette glycémie. Cette baisse pourrait être liée à la richesse de l'huile d'olive en antioxydants tels que les tocophérols (Psomiadou et al., 2000) et les polyphénols (Visioli and Bernardini., 2011).

Les tocophérols sont liposolubles et leur présence dans les huiles les protège du rancissement. Dans l'organisme humain, les principaux systèmes antioxydants endogènes agissent dans les parties aqueuses de la cellule.

L'alpha-tocophérol (90 % des tocophérols dans l'huile d'olive) va s'insérer dans les membranes cellulaires ainsi que dans les lipoprotéines en stabilisant les radicaux pyroxylés (**Serbinova, 1991**).

L'alpha-tocophérol est en effet connu pour être l'antioxydant lipophile le plus puissant pour limiter le processus d'oxydation radicalaire. Une déficience en tocophérol dans les membranes cellulaires peut augmenter la perméabilité des cellules et donc les rendre plus vulnérables à la dégradation.

Il est aussi l'antioxydant le plus important dans les LDL et pourrait donc jouer un rôle clé en inhibant leur oxydation. Une fois oxydé, l'alpha-tocophérol peut être régénéré par l'acide ascorbique (vitamine C) ou l'ubiquinol (**Gille, 2008 ; Pincemail, 2003, Bascetta, 1983**). En plus de leur activité antioxydante, les tocophérols ont été associés à un ralentissement de la propagation cellulaire, de l'agrégation plaquettaire et de l'adhésion des monocytes dans les vaisseaux sanguins.

Zingg (2004) suggérait que ces effets pourraient être dus à des interactions entre l'alpha-tocophérol, certaines enzymes et des protéines structurales.

Selon Viol et al, C'est la première étude démontrant qu'un type méditerranéen repas complété avec EVOO a un effet bénéfique sur le postprandial profil glycémique et lipidique en diminuant la glycémie, LDL-C et ox-LDL. Il y a de plus en plus de preuves suggérant que les modifications postprandial du profil glycémique et lipidique ont un effet délétère sur la maladie vasculaire en favorisant et / ou en aggravant le processus athérosclérotique.

Selon Wendy et al, La consommation d'huile d'olive peut aider à prévenir le diabète de type 2 (DT2) (**Guasch-Ferre., 2015**).

La fourniture d'huile d'olive extra-vierge aux adultes présentant un risque élevé de maladie cardiovasculaire a réduit le risque de DT2 de 40% en seulement 4 ans (**Storniolo et al., 2014**). Une étude de population en Espagne a montré que ceux qui consommaient de l'huile d'olive par rapport à l'huile de tournesol présentaient moins de risque de régulation du glucose (**Soriguer et al., 2013**), ce qui conduit souvent au développement du DT2.

Selon Schuler (**Schuler, 1990**), l'activité antioxydante des tocophérols, principalement la vitamine E qui pourrait exercer des effets bénéfiques à l'égard des maladies liées au stress oxydatif par divers mécanismes (**Devaraj et al., 1999**)

Le mécanisme de l'effet hypoglycémique des antioxydants naturels peut être due à la potentialisation de la libération d'insuline, augmentation de l'absorption périphérique du glucose et atténuation du stress oxydatif ainsi que l'amélioration des défenses antioxydantes de l'organisme (**Wainstein et al., 2012**).

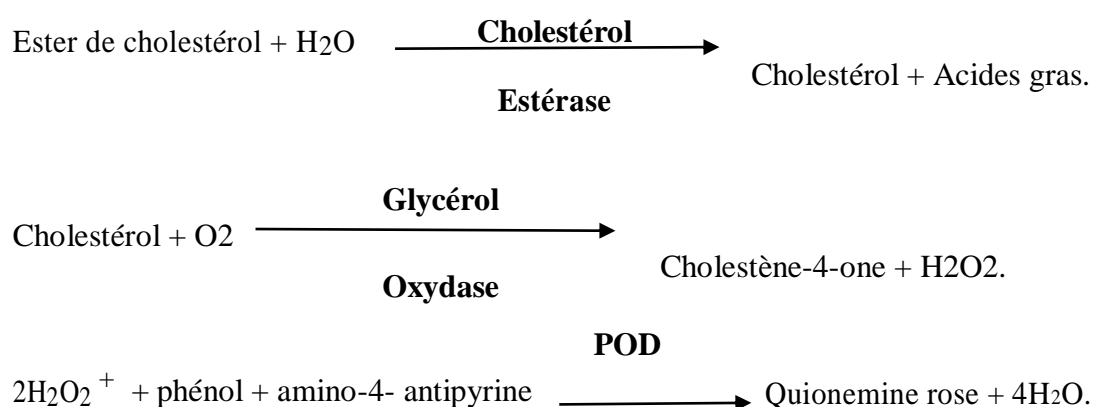
### 3-3-3 Impact de l'huile d'olive extra vierge sur le profile lipidique

Le cholestérol et les triglycérides comme beaucoup d'éléments et composants fondamentaux de l'organisme.

Les niveaux anormaux se produisent généralement en raison de défauts de synthèse, de dégradation et de transport de leurs particules de lipoprotéines associées (**Mensink et al., 2003**).

- **Dosage du Cholestérol total**

Après hydrolyse enzymatique puis oxydation, l'indicateur quinoneimine formé à partir du peroxyde d'hydrogène et de l'amino-4-antipyrine en présence du phénol et de peroxydase permet la quantification du cholestérol (**Rifai et al., 1982**), selon la réaction suivante :



La quantité de quinonemine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

Les mesures des taux de cholestérol après sacrifice sont indiquées sur la figure 21.

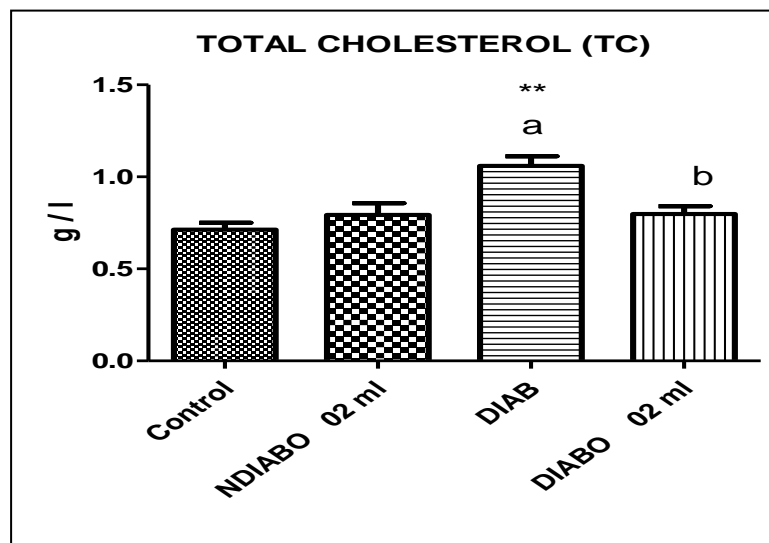


Fig. 21: évaluation des taux de cholestérol (CL) (mg/dl) ;

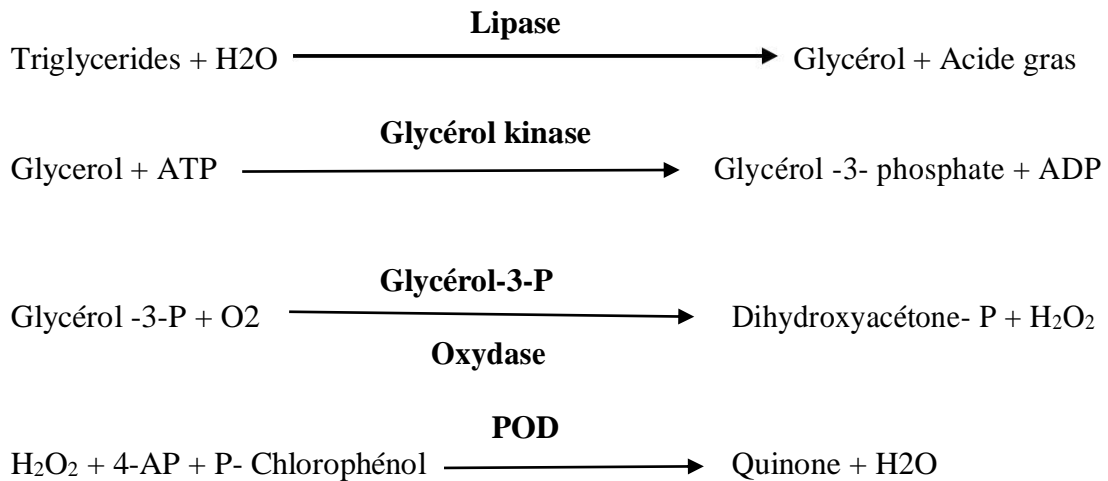
Les résultats obtenus, en utilisant l'analyse de la variance à sens unique (ANOVA) suivie de tests de comparaison multiple de Tukey (Fig.21), montrent que les taux de cholestérol des rats DIAB sont plus élevés chez ce lot comparé aux lots contrôle et NDIABO avec une différence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ). De même, on observe une baisse significative ( $P \leq 0,05$ ) entre les taux de cholestérol des lots DIABO et DIAB mais les taux de cholestérol des DIABO restent légèrement élevés que ceux du lot contrôle.

La consommation d'HOEV a amélioré le cholestérol total en provoquant une diminution des taux chez le lot DIABO comparé au lot DIAB ; ce résultat est en accord avec ceux de Mattson et al, Kris-Etherton (**Mattson et Grundy, 1985; Kris-Etherton et al., 1999**) qui ont montré qu'un régime riche en acide gras monoinsaturés a diminué le taux de cholestérol plasmatique. Cet effet pourrait être lié aux quantités de phytostérols apportées par ce régime riche en huile d'olive extra vierge (**Pelletier et al, 1995**)

- **Dosage des triglycérides**

Les triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipoprotéines lipase (LPL). L'indicateur est une quinone formée à partir de l'hydrogène peroxyde, le 4-aminophénazone (4-AP) et le P-Chlorophénol sous l'influence catalytique de la peroxydase (POD) (**Fassati & Prencipe, 1982**) ; selon les quatre réactions suivantes :





Les mesures des taux de triglycérides (TG) après sacrifice sont indiquées sur la figure 22.

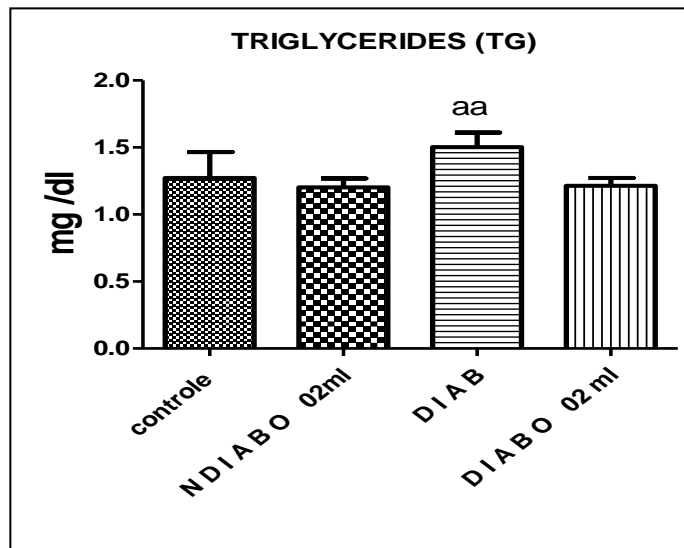


Fig.22 : évaluation des taux de triglycérides (TG) (mg/dl).

Les résultats obtenus, en utilisant l'analyse de la variance à sens unique (ANOVA) suivie de tests de comparaison multiple de Tukey (Fig.22), montrent que les taux de triglycérides (TG) des rats DIAB sont plus élevés chez ce lot comparé au lot NDIABO avec une différence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ).

Dans notre étude, l'huile d'olive est associée à une réduction non significative des TG, ce qui est en accord avec les études de **Kris-Etherton et al**, **Berglund et Allman-Farinelli** (**Kris-Etherton et al., 1999; Allman-Farinelli.,2005**)

Mais en désaccord avec d'autres auteurs qui ont montré qu'il n'existe aucun changement significatif des profils lipidiques (**Madigan, 2000 ; Ródenas et al., 2005**) alors

que Chang et Huang ont trouvé que les TG augmentaient après un riche en monoinsaturés (Chang et Huang, 1990).

La consommation accrue de MUFA améliore la sensibilité à l'insuline et par conséquent réduit les niveaux de TG car la lipoprotéine lipase, enzyme responsable de la dégradation des TG plasmatique, est une enzyme sensible à l'action de l'insuline (Berry, 1997).

- **Dosage HDLc**

Les mesures des taux de HDLc après sacrifice sont indiquées sur la figure 23.

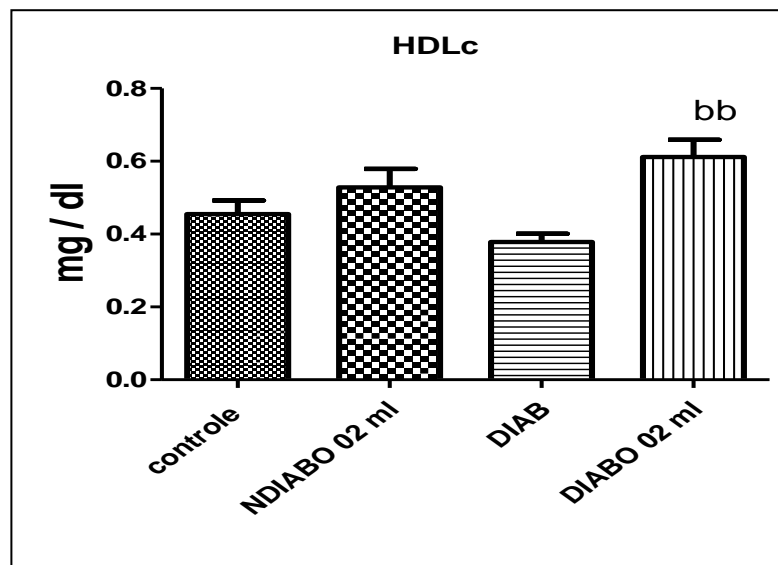


Fig.23 : évaluation des taux d' HDLc (mg/dl)

En utilisant l'analyse de la variance à sens unique (ANOVA) suivie de tests de comparaison multiple de Tukey (Fig.23), les résultats montrent que les taux de HDLc des rats DIABO sont plus élevés chez ce lot comparé aux lots contrôle et NDIABO avec une différence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ). En effet, l'huile d'olive pourrait réduire les taux de LDL (Mensink et Katan, 1992) et augmenter les taux de HDLc (Mattson et Grundy, 1985).

L'huile d'olive qui contient un niveau élevé (70% - 80%) d'acide oléique, est responsable de la réduction des triglycérides et l'augmentation des HDLc (Covas., 2006).

La baisse du HDLc est un facteur de risque cardio-vasculaire majeur. A l'inverse, chaque augmentation de 1% de ce « bon » cholestérol diminue le risque coronarien de 3%. L'existence d'une relation inversement proportionnelle entre la concentration plasmatique de HDLc et la survenue d'infarctus du myocarde, en particulier chez la femme (Henry., 2003).

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a permis d'évaluer, d'une part, les caractéristiques de la variété d'huile d'olive étudiée « Rougette », les caractéristiques morphologiques physicochimiques et biochimiques de l'huile d'olive; d'autre part, l'activité antibactérienne et les effets sur certains paramètres biologiques sur des ras *Wistar albinos* normaux et diabétiques.

Les résultats obtenus ont montré que :

- En ce qui concerne Les caractéristiques morphologiques : la variété rougette est caractérisée par des feuilles elliptiques lancéolées de longueur et largeur réduite ; un fruit pointu au sommet, tronquée à la base avec absence de mamelon, présence de nombreuses petites lenticelles et il est de couleur noire à maturité . Ces caractéristiques correspondent presque à celles décrites par **Mendil et Sebai (2006)** pour la variété Rougette de la Mitidja.
- Les caractéristiques physicochimiques (l'acidité, l'indice de peroxyde, indice de saponification, couleur et phosphatides) pour l'huile d'olive, sont en générales aux normes du Conseil Oléicole International et du Codex Alimentarius.
- L'analyse de la composition en AG par CPG, pour l'huile d'olive, a montré la présence des AG saturés et insaturés. Les AG insaturés prédominent surtout les AGMI dont le C18:1, acide oléique majoritaire (81,14%); 16,36% d'acides gras saturés et 01,59 % d'acides gras polyinsaturés représentés par l'acide linoléique oméga-6 dominant et des traces de l'acide  $\alpha$ -linoléique oméga-3.
- L'activité antioxydante de l'huile d'olive est due à la présence des antioxydants notamment en composés phénoliques qui peuvent exercer un effet antioxydant important même in vivo, malgré son pouvoir antioxydant inférieur à celui des antioxydants synthétiques, l'huile d'olive reste très avantageuse par sa capacité de continuer à piéger les radicaux libres pour une durée allongée qui peut s'étendre jusqu'au six jour. Ce potentiel antioxydant confère à l'huile d'olive un grand intérêt dans la prévention contre les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives, l'inflammation et le vieillissement.

- Concernant l'activité antibactérienne On peut conclure que l'huile d'olive de notre variété a une forte action antibactérienne sur quelques souches tel que *Klebsiella pneumoniae carbapénémase négatif*, *Escherichia coli* ATCC 25922 alors on remarqué une action moyenne sur les souches telque *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ainsi aucune action sur les autres souches telque *Salmonella* ATCC 13076
- L'étude antibactérienne d'huile d'olive a montrée plus d'efficacité aussi bien sur des bactéries que d'autre alors on peut conclure que le pouvoir antimicrobien d'huile d'olive s'exerce sur des souches que d'autres.

- A propos de l'étude antidiabétique sur les rats : le traitement par l'huile d'olive  
L'administration de l'huile d'olive aux rats après 38 jours :

Ne montre aucune différence entre les poids corporels des groupes traités et le groupe contrôle.

L'effet sur les poids des organes a montré a augmenté les poids des foies et des reins, après la période de traitement. Concernant la glycémie, on n'a observé une variation avec une diminution significative.

Le groupe « contrôle » ne montre aucun changement dans les concentrations de glucose dans le sang pendant 38 jours d'expérience. Cependant, pour le groupe diabétique (DIAB), une augmentation des taux de glycémie a été observée au cours de cette période. On a remarqué également une diminution importante de la glycémie à partir de la quatrième semaine chez le lot diabétique traité a l'huile d'olive(DIABO ).

Le traitement à l'huile d'olive a amélioré la glycémie à jeun en entraînant une baisse chez le lot DIABO comparé au lot NDIAB . Mais ce traitement et sa durée n'ont pas permis une normalisation de cette glycémie.

La consommation d'HOEV a amélioré le cholestérol total en provoquant une diminution des taux chez le lot DIABO comparé au lot DIAB

La consommation accrue de MUFA améliore la sensibilité à l'insuline et par conséquent réduit les niveaux de TG car la lipoprotéine lipase, enzyme responsable de la dégradation des TG plasmatique , est une enzyme sensible à l'action de l'insuline

L'huile d'olive qui contient un niveau élevé (70% - 80%) d'acide oléique, est responsable de la réduction des triglycérides et l'augmentation des HDLc.

La baisse du HDLc est un facteur de risque cardio-vasculaire majeur. A l'inverse, chaque augmentation de 1% de ce « bon » cholestérol diminue le risque coronarien de 3%. L'existence d'une relation inversement proportionnelle entre la concentration plasmatique de HDLc et la survenue d'infarctus du myocarde, en particulier chez la femme.

En conclusion à cette étude et sachant que l'huile d'olive locales, occupe une place très importante dans l'alimentation des Algériens, nous pouvons suggérer les perspectives suivantes :

Pour l'huile d'olive, , il serait important de :

- Déterminer les caractéristiques physicochimiques et la composition biochimique des huiles par variété et par région. Evaluer les composés mineurs en particulier les antioxydants, qui sont responsables des effets bénéfiques sur la santé ; ce qui permettra de les classer selon leur qualité et fixer leur véritable valeur marchande avec un étiquetage approprié.
- Faire des études expérimentales et cliniques de ces huiles afin d'évaluer leurs effets sur la santé ; les résultats seront nécessaires pour établir des recommandations nutritionnelles et pharmacologiques fondées pour les consommateurs et éviter les allégations populaires transmises d'une manière empirique par tradition.
- L'étude relation structure-activité permettra de corrélérer les résultats des tests biologiques avec des structures bien précises responsables de l'activité. Cette étude est très importante si l'on veut améliorer l'effet biologique de ces composés. Ceci permettra dans le futur la synthèse de molécules potentiellement actives. L'étude *in vivo* viendra confirmer ou infirmer ces premiers résultats.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUE

### Références bibliographiques

**Alirezaei M, Dezfoulian O, Neamati S, Rashidipour M, Tanideh N, Kheradmand A.** 2012. Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. *J Physiol Biochem*; 68(4): 583-592.

**Allman-Farinelli MA, Gomes K, Favaloro EJ, and Petocz, P.** 2005. A Diet Rich in High-Oleic-Acid Sunflower Oil Favorably Alters Low-Density Lipoprotein Cholesterol, Triglycerides, and Factor VII Coagulant Activity. *Journal of the American Dietetic Association*, 105, 1071-1079.

**American Heart Association (A.H.A.), 2018** . Saturated Fats Available at:<https://healthyforgood.heart.org/eat-smart/articles/saturated-fats> consulté le 02 Février 2018.

**Amiot MJ., Fleuriet A., Macheix JJ., 1989.** Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry*, 28 (1), 67-69.

**ANDI., 2013.** Agence Nationale de Développement de l'investissement, Invest in Algeria, Wilaya de SKIKDA

**Apparicio R, Roda L, Albi MA, Gutiérrez F. 1999.** Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4150–4155

**Argenson C., Regis S., Jourdain J.M et Vaysse P., 1999.** L'olivier. Eds .Centre technique interprofessionnel des fruits et légume (Ctifl).Paris, 204 p.

**Arslana D and Schreinerb M., 2012.** Chemical characteristics and antioxidant activity of olive oils from Turkish varieties grown in Hatay province. *Scientia Horticulturae*, 144 : 141–152.

**Asgary Se, Gholam A.N, Nizal S-Z, Roshanak V.** 2002 The Inhibitory Effects of Pure Flavonoids on in Vitro Protein Glycosylation *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, Vol. 2(2) 2002

---



**Avellone G, Di Garbo V, Cordova R, Scalfidi L, Bompiani GD.** Effects on Mediterranean diet on lipid, coagulative and fibrinolytic parameters in two randomly selected population samples in Western Sicily. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 1998. 8: 287-96.

**Avenard .V., 2008.** L'olivier et les vertus thérapeutiques de ses feuilles. Thèse, université de Nantes

**Babouche N et Kellouche A., 2012.** Etude de l'entomofaune de l'oliveraie de la région de Tizi-Ouzou. 6p. Laboratoire d'entomologie. Département de Biologie. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques. Université de Tizi-Ouzou Algérie.

**Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerretani L., Bendini A., Lercker G., Zarrouk M and Daoud Ben Miled D., 2008.** Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry* 109: 743–754.

**Barranco D., Rallo L. (2005).** Epocas de Floracido y Maduracion. Chap.5. in variedades de olivo en Espana (Libro II). Junta de Andalucia (MAPA) Ed. Munidi-Prensa / Madrid.

**Bartolini G., 2008.** Olea databases. Valable sur le site : <http://www.oleadb.Belaj et al.>,

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

**Beltrán G., Aguilera MP., Del Rio C., Sanchez S. et Martinez L.2005.** Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*, 89: 207-215.

**Benderradji L ; Bouzerzour H ; Ykhlef N ; Djekoun A et Kellou K., 2007.** Réponse à la culture in vitro de trois variétés de l'olivier (*Olea europaea* L.). *Sciences et Technologie C-N°26*, décembre 2007, pp.27-32.

---

**Bengana M., Bakhouché A., Lozano-Sánchez J., Amir Y., Youyou A., Segura- Carretero A and Fernández-Gutiérrez A., 2013.** Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*, 54: 1868–1875.

**Benmlih M, Ghanam J. 2012.** Polyphénols d'Huile d'Olive, Tresors Santé! Medicatrix Editions: Embourg, Belgique.

**Benrachou et al. 2010.** Caractérisation de trois huiles d'olives issues de trois cultivars de l'Est Algérien. *Revue synthèse*, 22, 12-22

**Bensemmane A., 2009.** L'oléiculture: Développons le secteur de l'Huile d'Olive en Algérie. *Revue Fillaha Innove* N°4 Avril-Mai 2009. 23p

**Berglund L, Lefevre M, Ginsberg HN, Kris-Etherton PM, Elmer PJ, Stewart PW. 2007.** Comparison of Monounsaturated Fat with Carbohydrates as a Replacement for Saturated Fat in Subjects with a High Metabolic Risk Profile: Studies in the Fasting and Postprandial States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 86, 1611- 1620.

**Berry EM. 1997.** Dietary Fatty Acids in the Management of Diabetes Mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66, 991S-997S.

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

**Bjermo H, Iggman D, Kullberg J, Dahlman I, Johansson L, Persson L, Berglund J, Pulkki K, Basu S, Uusitupa M, Rudling M, Arner P, Cederholm T, Ahlström H, Risérus U. 2012.** Effects of n-6 PUFAs compared with SFAs on liver fat, lipoproteins, and inflammation in abdominal obesity: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 95, 1003-1012.

**Bonanome A, Pagnan A, Biffanti S. 2012.** Effect of Dietary Monounsaturated and Polyunsaturated Fatty Acids on the Susceptibility of Plasma Low Density Lipoproteins to Oxidative Modification. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 12: 529-533.

**Boizot N, Charpentier JP., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA Bulletin de Liaison Interne*, 2006. p. 79–82.

---

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

**Boulfane S., Maata N., Anouar A et Hilali S.2014.** Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc Journal of Applied Biosciences 87: 8022– 8029.

**Boulouha B., 1995** - Contribution à l'amélioration de la productivité et de la régularité de la production chez l'olivier (*Olea europaea*) "Picholine Marocaine". *Olivae.*, 58, 54-57.

**Breton C ; Medial F ; Pinatel C et Berville A., 2006.** De l'olivier à L'oléastre : Origine et domestication de l'*Olea europaea* L dans le Bassin méditerranéen .Cahiers agricultures vol.15, n°4, juillet-août 2006.

**Carrasco-Pancorbo A., Gómez-Caravaca A. M., Cerretani L., Bendini A., Segura- Carretero A.et Fernández-Gutiérrez A. 2006.** Rapid quantification of the phenolic fraction of spanish virgin olive oils by capillary electrophoresis with UV detection. *Journal Agricultural and Food chemistry*, 54: 7984-7991.

**COI., 2001** Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive, COI/T.15/NC n°2/Rev.10.

**C.O.I ., 2005.** 92e session du Conseil oléicole international Madrid (Espagne) 27 juin – 1er juillet 2005

**C.O.I., 2008.** norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive COI/T.15/NC n° 3/Rév. 3 Novembre 2008

**COI., 2011.** COI/T.15/NC n°3/Rév norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.

**COI.,2011.**Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile coi/oh/doc.

---

## Références bibliographiques

---

**C.O.I. (2015).** Norme commerciale applicable à l'huile d'Olive et à l'huile de grignons d'olive. COI/T. 15/NC n°2/Rev.10.

**Campbell LV, Marmot PE, Dyer JA, Borkman M, Storlien LH.** The highmonounsaturated fat diet as a practical alternative for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1994.

**Chang NW and Huang PC., 1990.** Effects of dietary monounsaturated fatty acids on plasma lipids in humans *Journal of Lipid. Research* Volume **31**, 2141-2147.

**Chaux C,** Rapports de la station expérimentale de Sidi Aich (Algérie) et du conseil de l'expérimentation et des recherches agronomiques, Alger

**Chimi H., 2006.** Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité, transfert de technologie en agriculture. (MADRPM/DERD) Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes, 141 :1-4.

**Cichelli A. and Pertesana G. P. (2004).** High-performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oil: chemometric approach to variety classification. *Journal of Chromatography*, 1046: 141-146.

**CNUCED, 2005.** Conférence des Nations Unies sur le Commerce Et le Développement

**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).

**Codex Alimentarius. (2003).** Food and Agriculture Organisation of the United Nations .World Health Organisation, via delle terme di Caracalla 00100 Rome. Italie.

**Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals,** National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition. ISBN: 0-309-15401-4.

**CovasMI, de la Torre K, Farre'-AlbaladejoM, Kaikkonen J, Fito' M, Lo'pez- Sabater C, Pujadas-Bastardes MA, Joglar J, Weinbrenner T, Lamuela- Ravento' s RM, et al. 2006** Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in humans. *Free Radic Biol Med*. 2006;40:608-16.

---

**Crescenzo R, Bianco F, Falcone I. et al.** 2012. Hepatic mitochondrial energetic during catch-up fat with high-fat diets rich in lard or safflower oil. *Obesity* 20, 1763- 1772.

**Criado M. N., Morello J. R., Motilva M. J. and Romero M. P. (2004).** Effect of growing area on pigment and phenolic fractions of virgin olive oils of the Arbequina variety in Spain. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 81: 633-640.

**Criado M.N., Motilva M.J., Goni M. and Romero M.P. (2007).** Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. *Food Chemistry*, 100: 748-755.

**Cronquist A. (1988).** *The Evolution and Classification of Flowering Plants*, 2nd edition Bronx, N.Y USA: The New York Botanical Garden, page 145

**Davis SN.** 2004. *J. Diabetes Complications*, 18, 367-376.

**Devaraj S, Jialal I.** 1999. Alpha-tocopherol decreases interleukin-1 beta release from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 19: 1125-33.

**Doveri S, Baldoni L.** 2007. *Olive. Fruits and Nuts*, Springer, 253-264.

**Drouin P, Blicke JF, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau PJ, Plouin PF, Daninos JM, Balarac N, Sauvanet JP.** 1999. Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères. *REV. Diabetes & Metabolism (Paris)*, Vol. 25 (1), P. 72- 83.

**Espino A, Lopez-Miranda J, Castro P, Rodriguez M, Lopez F, Blanco A.** Monounsaturated fatty acid enriched diets lower plasma insulin levels and blood pressure in healthy young men. *Nutr. Med. Cardiovasc. Dis.* 1996. 6: 147-54.

**Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, et al.** 2006. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* ;145:1-11.

**Essiari M., Zouhair R et Chimi H., 2014.** Contribution à l'étude de la typicité des huiles d'olive vierges produites dans la région de Sais (Maroc), *OLIVÆ – Journal officiel du Conseil oléicole international*, 119: 8-22.

**FAO ., 2013.** L'olivier : contraintes et potentialités. Projet « Assistance au recensement agricole » Liban

---

**FAOSTAT., 2013.** Site web : <http://faostat.fao.org/>

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

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

**Gandul-Rojas B. and Minguéz-Mosquera I. (1996a).** Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of Science and Food Agriculture*, 72: 31-39.

**Garg A, Bonanome A, Grundy SM, Zhang ZJ, Unger RH.1988** Comparison of highcarbohydrate diet with a high-monounsaturated-fat diet in patient with non-insulin dependent diabetes mellitus. *New Engl. J. Med.* 1988. 319: 829-34.

**Ghedira K. 2008.** *phytotérapie* 6: 83-89 © Springer 2008 DOI 10.1007/s10298-008-0294-2.

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

**Giuffrida D., Salvo F. Salvo A. La Pera L. and Dugo G. (2007).** Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties. *Food chemistry*, 101 (2): 833-837.

**Guasch-Ferré M, Adela Hruby, Jordi Salas-Salvadó, Miguel A Martínez-González, Qi Sun, Walter C Willett, and Frank B Hu.,2015.** Olive oil consumption and risk of type 2 diabetes in US women. *AJCN*. 2015 as doi: 10.3945/ajcn.115.112029.

**Guillausseau PJ, Laloi-Michelin M. 2003.** *Rev. Med. Interne*, 24, 730-737.

**Gunstone, F.D. (2002).** *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*. First Edition. CRC Press, USA. pp. 1-10.

---

## Références bibliographiques

---

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

**Harper AH., 1977.** Précis de Biochimie, 4e Ed, Les Presses de l'Université de Laval. Québec. 26 p.

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

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

**Henry S., 2003.** L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. PhdD thèses, université Nancy1, France, 58-

**Horiguchi H, Sato M, Konno N, Fukushima M. 1996.** Long-term cadmium exposure induces anaemia in rats through hypoinduction of erythropoietin in the kidney. *Arch. Toxicol*. 71: 11 – 19.

**Huang CL, Sumpio BE. 2008.** Olive oil, the mediterranean diet, and cardiovascular health. *Am Coll Surg*. 2008 Sep;207(3):407-16. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.02.018.

**Idrissi A., Ouazani N. (2006).** Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea*.L), FAO –Biodiversity, 136 p 1-10

**ISO 660., 1996.**Corps gras d'origines animale et végétale: Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité.

**ISO 3960., 1977.** Corps gras d'origines animale et végétale: Détermination de l'indice de peroxyde.

**ISO 15305., 1998.** Corps gras d'origines animale et végétale: Détermination de la couleur Lovibond.

**Jacotot B. 1997.** Intérêt nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive 01 Corps Gras Lipides, 4 (5), p373-374.

---

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

**Karunanayake EH, Hearse DJ, Mellows G.1975.** The metabolic fate and elimination of streptozocin. *Biochemical Society Transactions*; 3: 410-14.

**Keceli T, Gordon MH. 2001.** The antioxydant activity and stability of phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 1391-1396.

**Kemasari P, Sangeetha S, Venkatalakshmi P. 2011.** *J. Chem. Pharm. Res.*, 3(5), 653-659.

**Kiritsakis A. and Osman M. (1995).** Effets du carotène et de l' $\alpha$ - tocophérol sur la stabilité photo-oxydative de l'huile d'olive. *Olivae*, 56: 25-28

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

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

**Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, Etherton TD., 1999.** High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol an triacylglycerol concentrations. *Am.J.Clin Nutr*. Dec, 70(6): 1009-15.

**Lahoz C, Alonso R, Ordovas JM, Lopez-Farre A, Oya M, Mata P.** Effect of dietary fat saturation on eicosanoid production platelet aggregation and blood pressure. *Eur. J. Clin. Invest*. 1997. 27: 780-87.

**Lapillone A, Clarke SD, Heird WC. 2003.** Plausible mechanisms for effects of long-chain polyunsaturated fatty acids on growth, *J.Pediatr.*, Vol. 143, p226-238.

**Lazzez A., Cossentini M., Khlif M. et Karray B.2006.** Etude de l'évolution des stérols, des alcools aliphatiques et des pigments de l'huile d'olive au cours du processus de maturation. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, (8) : 21-32

**Lean ME, Noroozi M, Kelly I, Burns J, Talwar D, Sattar N, Crozier A. 1999.** Dietary flavonols protect diabetic human lymphocytes against oxidative damage to DNA. *Diabetes* 48, 176 – 181.

---



**Le Grusse J. 2003.** Structure chimique et propriétés physicochimiques. In : Les vitamines dans les Industries AgroAlimentaires. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 5-23.

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

**Lim Anxy , Nusrat Subhan, Jalal A. Jazayeri ,George John ,Thiru Vanniasinkam ,Hassan K. Obied.2016.** Plant Phenols as Antibiotic Boosters: In Vitro Interaction of Olive Leaf Phenols with Ampicillin. *Phytotherapy research*. Volume 30, issue 3. Pages 503-509  
<https://doi.org/10.1002/ptr.5562>

**Lopez-Segura F, Velasco F, Lopez-Miranda J, Castro P, Lopez R, Blanco A.** Monounsaturated fatty acid-enriched diet decreases plasma plasminogen activator inhibitor type 1. *Arterioscler. Thromb. Vac. Biol.* 1996. 16: 82-88.

**Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P. 2008.** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69 :1732-1738.

**Loussert R., Brousse G. (1978).** *L'olivier* ; Ed. G.P. Maisonneuve et Larose. Paris,

**Madigan C. 2000.** Dietary unsaturated fatty acids in type 2 diabetes : higher levels of postprandial lipoprotein on a linoleic acid-rich sunflower oil diet compared with an oleic acid-rich olive oil Diet *Diabetes Care*, 23 (10) octobre, p1472-1477.

**Mancini M. 1997.** Le régime méditerranéen, meilleur choix dans le diabète Société Internationale de l'athérosclérose, Paris, octobre, P 125.

**Mateos R. and García-Mesa J.A. (2006).** Rapid and quantitative extraction method for the determination of chlorophylls and carotenoids in olive oil by high-performance liquid chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385: 1247-1254

**Martinez-Gonzalez MA, Sanchez-Villegas A. 2004.** The emerging role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology: MUFA, olive oil, red wine or the whole pattern? *EurJ Epidemiol*; 19: 9-13.

---

## Références bibliographiques

---

**Mattson FH and Grundy SM., 1985.** Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in men. *Journal of Lipid Research* 26, 194–202.

**Mendil M., 2009.** L'oléiculture: Expériences algériennes. *Revue Fillaha Innove* N°4 Avril-Mai 2009. 23p.

**Mendil M et Sebai A., 2006.** Catalogue des variétés algériennes de l'olivier. Institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne. 100p. ISBN:9947-0-1349-9.

**Mensink RP; Zock, P.L.; Kester, A.D.; Katan, M.B.** 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 77, 1146-1155.

**Mensink, R.P. and Katan, M.B. (1992)** Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta analysis on 27 trials. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 12, 911–919.

**Mezey E., 1999.** Fatty Liver. in *Schiff's Diseases of the Liver* (Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC. eds). Philadelphia, Lippincott-Raven, pp. 1185-1197.

**Millard r., 1975.** L'olivier, comité technique de l'olivier aix-en Provence et institut national de vulgarisation pour les fruits, légumes et champignons, avril, Paris, P : 21.

**Minguez-Mosquera M.I, Gandul-Rojas B., Garrido-Fernandez J., and Gallardo-Guerrero L. (1990).** Pigments present in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 67 (3): 192-196.

**Minguez-Mosquera M.I., Rejano L., Gandul B., Higinio A. and Carido J. (1991).** Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 68: 332-336.

**Morello JR, Motilva MJ, Tovar MJ, Romero MP. 2004.** Changes in commercial virgin olive oil (cv. Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85: 357–364.

---

Newsletter – marché oléicole N° 121 – novembre 2017

[http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/134-approvedbalances?langues\\_ES](http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/134-approvedbalances?langues_ES)

**Nieves Criado M., Paz Romero M., Casanovas M., Motilva M.J. (2008).** Pigment profile and color of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons *Food Chemistry* 110, 873–880

**Nickavar B, Esbati N.,2012.** Evaluation of the antioxidant capacity and phenolic content of three *Thymus* species. *J Acupunct Meridian Stud.* 2012 Jun;5(3):119-25. doi:10.1016/j.jams.2012.03.003. Epub 2012.

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

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

**Paniagua JA, de la Sacristana AG, Sanchez E, Romero I, Vidal-Puig A, Berral FJ, et al. 2007.** MUFA-rich diet improves postprandial glucose, lipid and GLP-1 responses in insulin-resistant subjects. *J Am Coll Nutr ;26:* 434-44.

**Parillo M, Rivelles AA, Ciardullo AV, Capaldo B, Giaco A, Genovese S. A** highmonounsaturated fat/low-carbohydrate diet improves peripheral insulin sensitivity in non-insulin-dependent diabetic patients. *Metabolism.* 1992. 41: 1373-78.

**Pelletier, X. Belbraouet, S. et Mirabel, D. (1995)** A diet moderately enriched in phytosterols lowers plasma cholesterol concentrations in normocholesterolemic humans. *Ann Nutr Metab,* 39: 291-295.

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

---

- Pérez-Jiménez F, Lopez-Miranda J, Mata P.** Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis : beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 163. 2002. 385-98.
- Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L, Barja G, Battino M, Blanco A.** 2005. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *EurJ Clin Invest*;35:421-4.
- Perrin J.L. (1992).** Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et recherche*, 4 : 25-31.
- Petroni A., Blasevich M., Salami M., Servili M., Montedoro G. F. & Galli A. (1995)** Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Research*. 78 (1) pp 151-160.
- Prabhakar PK, Doble M.** 2008. *Curr. Diabetes Rev.* 4, 291-308.
- Psomiadou E, Tsimidou M, Boskou D.** 2000. Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oil. *J Agric. Food Chem*, 48: 1770-1775.
- Psomiadou E., Tsimidou M. & Boskou D. (2000)**  $\alpha$ -tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48 (5) pp 1770-1775.
- Psomiadou E. and Tsimidou M. (2001).** Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 640-647.).
- Rasmussen OW, Thomsen C, Hansen KW, Vesterlund M, Winther E, Hermansen K.** Effects on blood pressure, glucose, and lipid levels of a high-monounsaturated fat diet compared with a high-carbohydrate diet in non-insulin-dependent diabetic (NIDDM) subjects. *Diabetes Care*. 1993. 16: 1565-71.
- Roca M. and Minguéz-Mosquera M.I. (2001).** Changes in Chloroplast Pigments of Olive Varieties during Fruit Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 832- 939.
- Ródenas S, Rodríguez-Gil S, Merinero MC, Sánchez-Muniz FJ.** 2005. Dietary Exchange of an Olive Oil and Sunflower Oil Blend for Extra Virgin Olive Oil Decreases the Estimate Cardiovascular Risk and LDL and Apolipoprotein AII Concentrations in Postmenopausal Women. *Journal of the American College of Nutrition*, 24, 361-369.
- Ros E.** 2003. Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *AmJ Clin Nutr*; 78(suppl):617-25S.
-

- Rotondo S. & De Gaetano G. (2000)** Protection from cardiovascular disease by wine and its derived products. Epidemiological evidence and biological mechanisms. *World Review of Nutrition and Dietetics*. 87 pp 90-113.
- Ruiz-Gutierrez V, Muriana FJ, Guerrero A, Cert AM, Villar J.** Plasma lipids, erythrocyte membrane lipids and blood pressure of hypertensive women after ingestion of dietary oleic acid from two different source. *J. Hypert.* 1996. 14: 1483-90.
- Ryan D. & Robards K. (1998)** Phenolic compounds in olives. *The Analyst*. 123 (5) pp 31R-44R.
- Ryan D., Robardas K. and Lavee S. (1998).** Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72 : 26-38.
- Sacks FM, Katan M.** Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine*. 2002. 113: 13-24 (S).
- Salvador M.D., Aranda F. and Fregapane G. (2001).** Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality: A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*, 73: 45-53.
- Sanchez-Moreno C.,2002.**Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int* 8: 121–137.
- Schuler P.** 1990. Natural antioxidants exploited commercially. In : *Food antioxidants*. Hudson B. J. F. Ed : Elsevier Science Publishers, London, 99-170.
- Schulze MB, Schulz M, Heidemann C, Schienkiewitz A, Hoffmann K, Boeing H.** 2007. Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: a prospective study and meta analysis. *Arch Intern Med* ;167:956-65.
- Serbinova E., Kagan V. E., Han D. & Packer L. (1991)** Free radical recycling and intramembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alphanatocotrienol. *Free Radical Biology and Medicine*. 10 (5) pp 263-275.
- Soriguer, F., G. Rojo-Martínez, A. Goday, A. Bosch-Comas, E. Bordiú, F. Caballero-Díaz, A. Calle-Pascual, et al. 2013.** « Olive Oil Has a Beneficial Effect on Impaired Glucose Regulation and Other Cardiometabolic Risk Factors. Di@bet.Es Study ». *European Journal of Clinical Nutrition* 67 (9): 911-16.
-

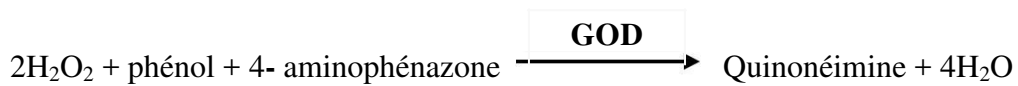
- Soulier J. and Farines M. (1992).** L'insaponifiable In : Manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp.95-112.
- Storniolo, C.E.; Roselló-Catafau, J.; Pintó, X.; Mitjavila, M.T.; Moreno, J.J.,2014.** Polyphenol fraction of extra virgin olive oil protects against endothelial dysfunction induced by high glucose and free fatty acids through modulation of nitric oxide and endothelin-1. *Redox Biol.* **2014**, 2, 971–977.
- Sudjana AN, D’Orazio C, Ryan V et al. 2009.** Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int J Antimicrob Agents* 33:461–463
- Tanouti K., Serghini-Caid H., Chaieb E., Benali A., Harkous M. et Elamrani A. 2011.** Quality improvement of olive oils produced in the eastern Morocco. *Les technologies de Laboratoires*, 22(6): 1-12.
- Tripoli E., Giammanco M., Tabacchi G., Di Majo D., Giammanco S. & La Guardia M. (2005)**The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews.* 18 (1) pp 98-112.
- Van Dyke B. R. & Saltman P. (1996)** Hemoglobin: a mechanism for the generation of hydroxyl radicals. *Free Radical Biology and Medicine.* 20 (7) pp 985-989.
- Venkateshwarlu G., Let M. B., Meyer A. S & Jacobsen C (2004)** Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 52 (6) pp 1635-1641
- Viera O., Laranjinha J., Madeira V. & Almeida L. (1998)** Cholesteryl ester hydroperoxyde formation in myoglobin-catalysed low density lipoprotein oxidation: concerted antioxidant activity of caffeic and p-coumaric acids with ascorbate. *Biochemical Pharmacology.* 55 (3) pp 333-340.
- Violi F et al., 2015.** Extra virgin olive oil use is associated with improved post-prandial blood glucose and LDL cholesterol in healthy subjects. *Nutrition & Diabetes* **5**, e172; doi:10.1038/nutd.2015.23
- Visioli F and Bernardini E.,2011.** Extra virgin olive oil's polyphenols: biological **activities.** *Current Pharmaceutical Design.*17(8):786-804.
- Visioli F. & Galli C. (1998)** The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews.* 56 (5) pp 142-147.
- Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, et al. 2012.** Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *J Med Food ;* 15(7): 605-610.
-

# ANNEXE

## ANNEXE 01

**Dosage de la glycémie** **Principe**

Le glucose est oxydé sous l'action de la glucose-oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ce dernier, en présence de peroxyde (POD) oxyde le phénol et le 4-aminophénazone (chromogène incolore) pour former la quinonéimine, un composé coloré en rouge violet (**Barham & Trinder, 1972**) selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

 **Mode opératoire**

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT(ml)</b>	1,0	1,0	1,0
<b>Etalon (µl)</b>	-	10	-
<b>Echantillon (µl)</b>	-	-	10



On mélange (à l'aide d'un agitateur), on incube pendant 10 min à 37°C, ou 15 à 20 min à une température ambiante. Les absorbances des échantillons et de l'étalon sont lues contre le blanc à 505 nm, la coloration est stable au moins 30 minutes.

□ **Calcul de la concentration :**

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

$$[\text{Glucose}] \text{ (g/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times 1 \text{ g/l (concentration de l'étalon)}$$

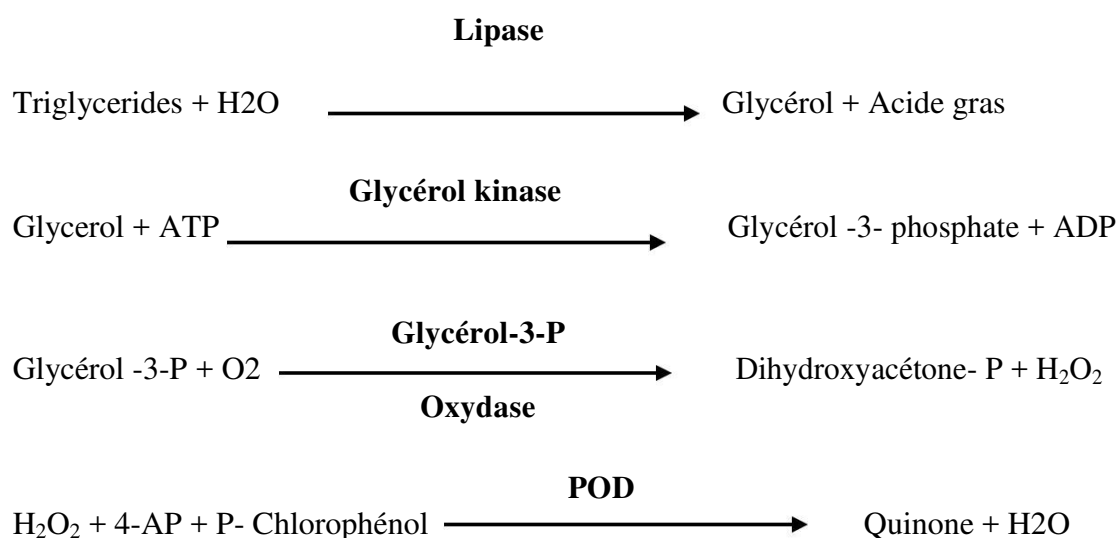
Après incubation pendant 15 mn à 37°C, l'absorbance (A) des échantillons est lu à 520 nm. La couleur est stable pendant une heure.

---

## ANNEXE 02

**Dosage des Triglycérides** **Principe**

Les triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipoprotéines lipase (LPL). L'indicateur est une quinone formé à partir de l'hydrogène peroxyde, le 4-aminophénazone (4-AP) et le P-Chlorophénol sous l'influence catalytique de la peroxydase (POD) (**Fassati&Prencipe, 1982**) ; selon les quatre réactions suivantes :



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

 **Mode opératoire**

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif (ml)</b>	1,0	1,0	1,0
<b>Standard (µl)</b>	-	10	-
<b>Echantillon (µl)</b>	-	-	10

On mélange et on incube 5 min à 37°C ou 10min à 15-25°C. La densité optique (DO) de l'échantillon et du standard est lue contre le blanc à 505 nm.

□ **Calcul de la concentration :**

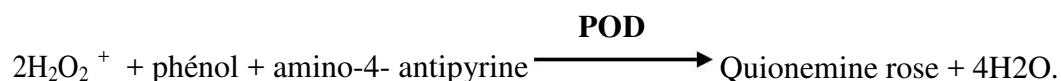
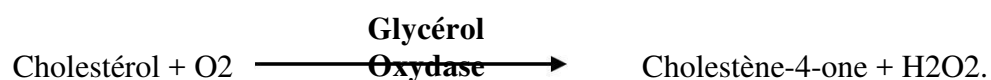
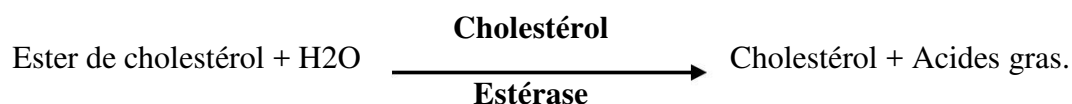
La concentration des triglycérides est calculée par la formule suivante:

$$[\text{Triglycérides}] \text{ g/l} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO standard}} \times 2 \text{ g/l (concentration du standard)}$$

## ANNEXE 03

**Dosage du Cholestérol total**□ **Principe**

Après hydrolyse enzymatique puis oxydation, l'indicateur quinoneimine formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino-4-antipyrine en présence du phénol et de peroxydase permet la quantification du cholestérol (**Rifai et al, 1982**), selon la réaction suivante :



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon

□ **Mode opératoire**

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT(ml)</b>	1,0	1,0	1,0
<b>Etalon(μl)</b>	-	10	-
<b>Echantillon (μl)</b>	-	-	10

On mélange et on incube pendant 5 min à 37°C. La densité optique DO est lue à 505 nm contre le blanc. La coloration est stable pendant 30 minutes à l'abri de la lumière.

□ **Calcul de la concentration:**

La concentration du cholestérol total est calculée par la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol}] \text{ (g/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times 2 \text{ g/l (concentration de l'étalon).}$$

## ANNEXE 04

**Dosage des HDLc** **Principe**

Les VLDL (Very Low Density Lipoproteins) et les LDL (Low Density Lipoproteins) sériques ou plasmatiques sont précipités par le phosphotungstate en présence des ions de magnésium. Après élimination par centrifugation du précipité, le surnageant est utilisé pour la détermination de l'HDL cholestérol (High Density Lipoproteins) (**Grove, 1979**).

 **Mode opératoire**

**La précipitation:** Dans un tube à centrifugation, on met:

<b>R (µl)</b>	100
<b>Echantillon (ml)</b>	1,0

On mélange bien, on laisse agir pendant 10min à une température ambiante. Après centrifugation à 4000r.p.m. pendant 20min ou 12000 r.p.m. pendant 2min, on collecte les surnageants.

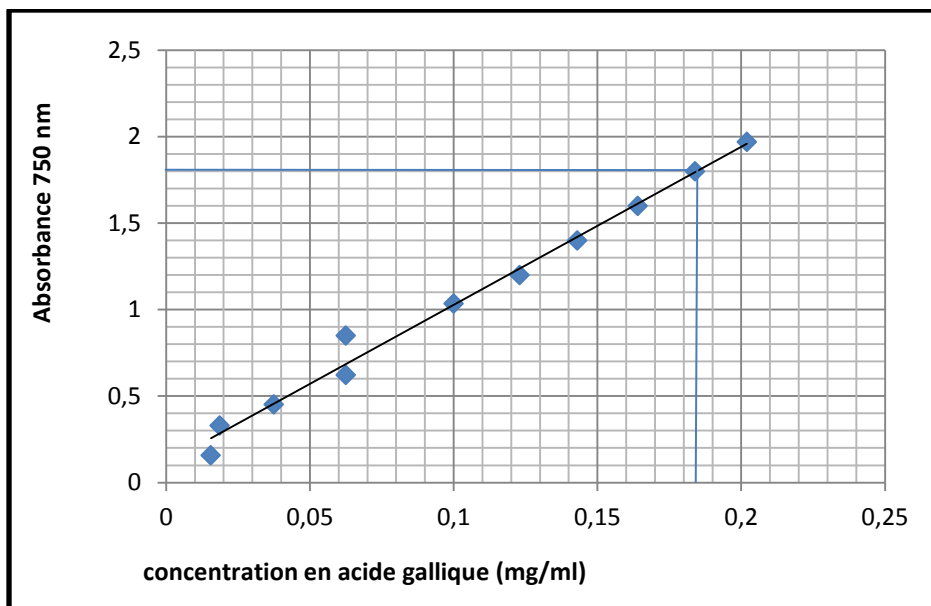
**Dosage des HDL c :** les instructions sont les mêmes pour le dosage du cholestérol total.  
(§6.6.4).

**Calcul de la concentration :**

La concentration des HDL c'est calculée par la formule suivante :

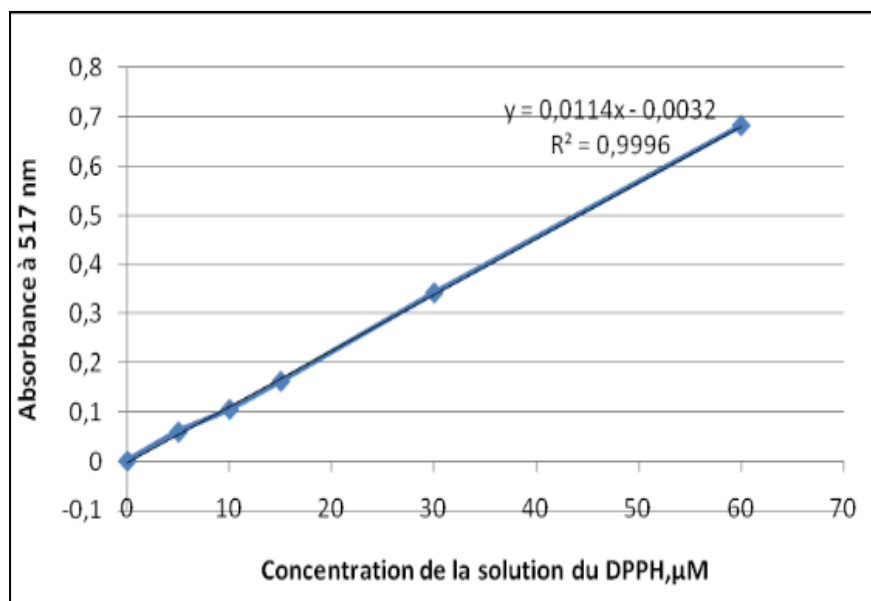
$$[\text{HDL c}] \text{ (g/l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times 3,2 \text{ g/l (concentration de l'étalon)}$$

ANNEXE 05



courbe d'étalonnage acide gallique

## ANNEXE 06



courbe d'étalonnage de la solution de DPPH.



ANNEXE 07

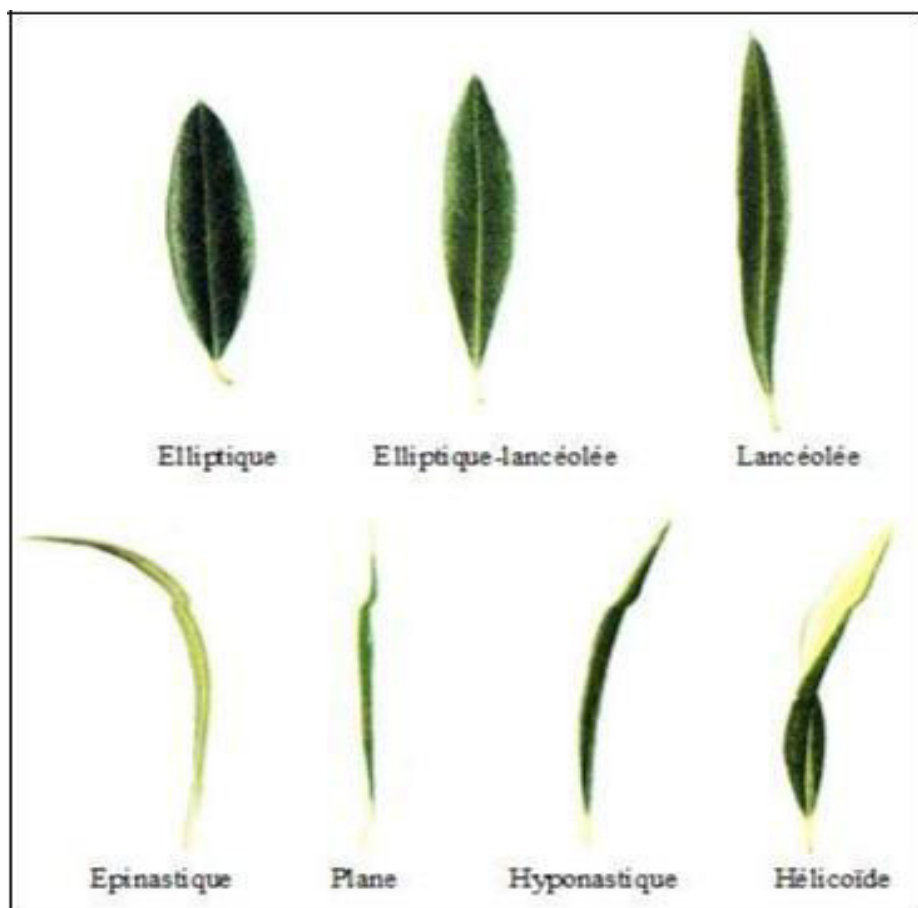
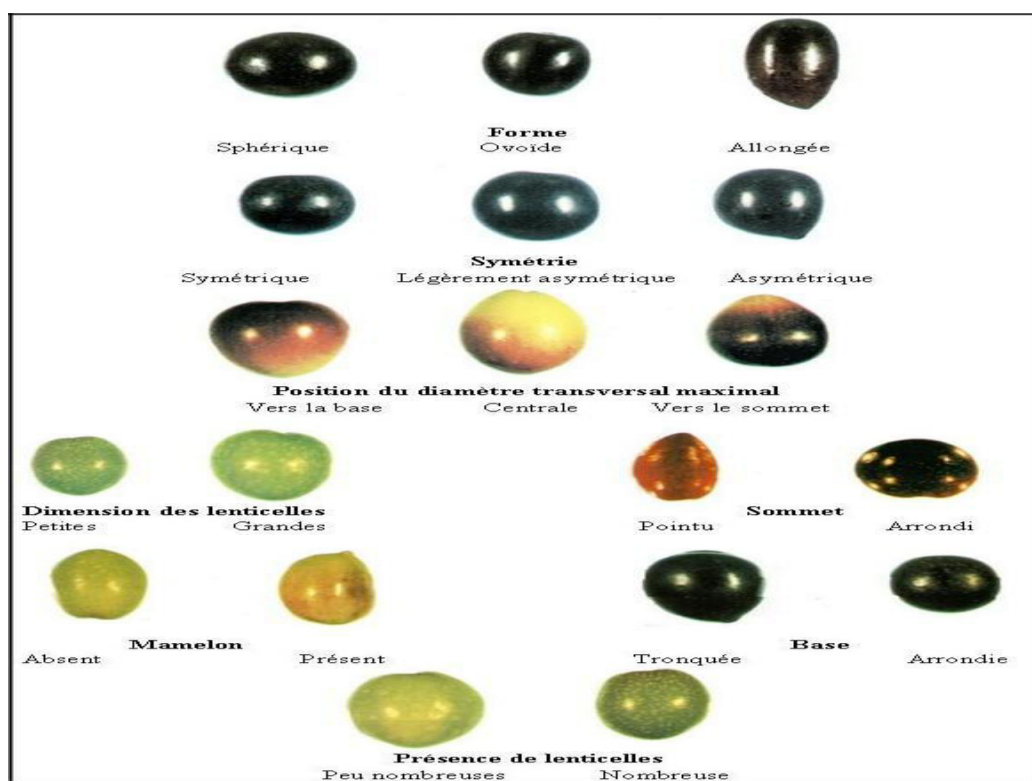


Photo montrant les différents caractères des feuilles (Mendil & Sebai, 2006).

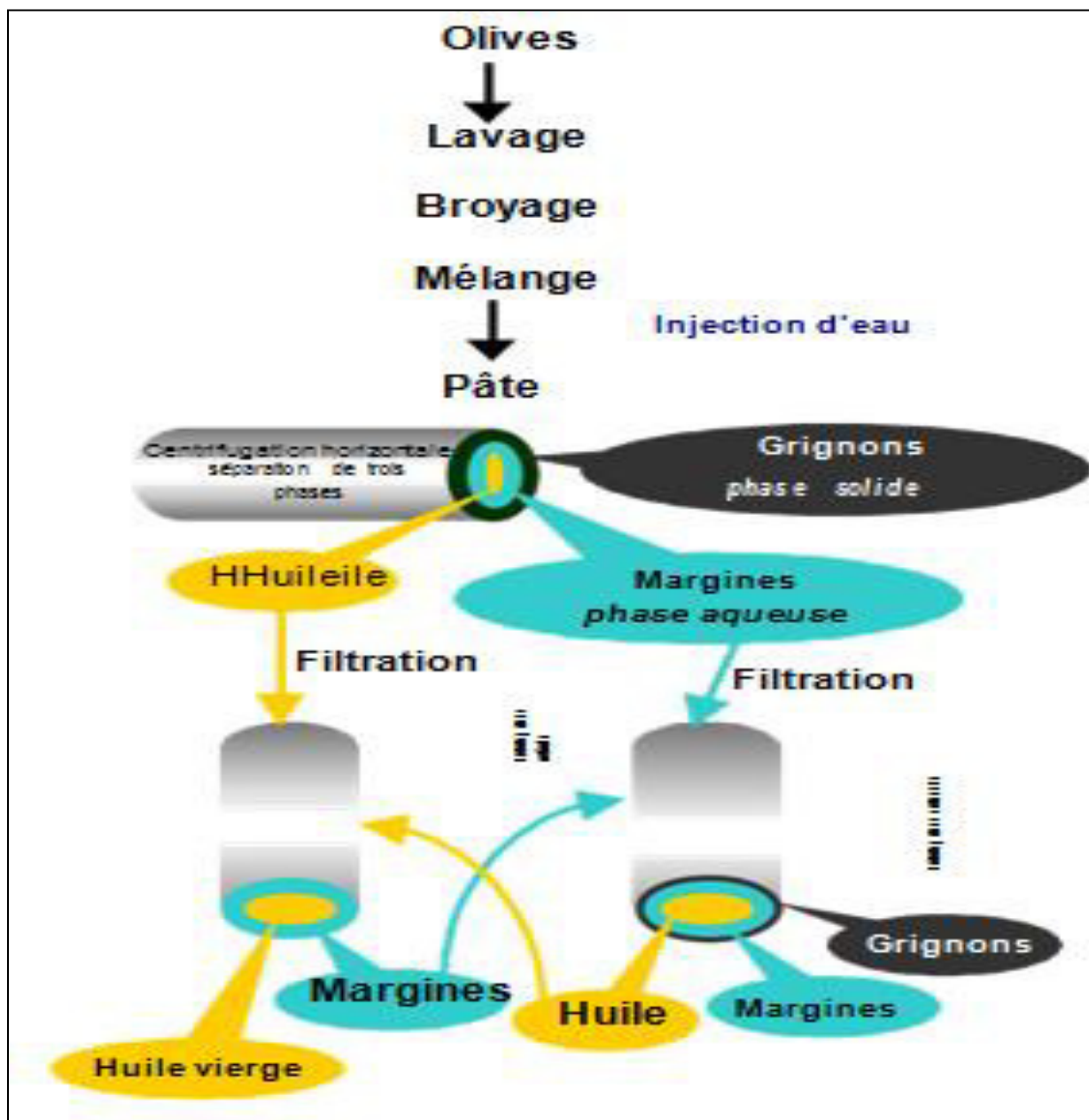
## ANNEXE 08



Photos montrant les différents caractères du fruit entier de l'olivier (Mendil et Sebai, 2006).

ANNEXE 09

Extraction d'huile d'olive



## ANNEXE 10

## ACTIVITE ANTIBACTERIENNE D'HUILE D'OLIVE

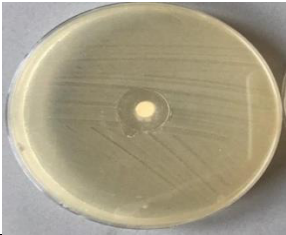
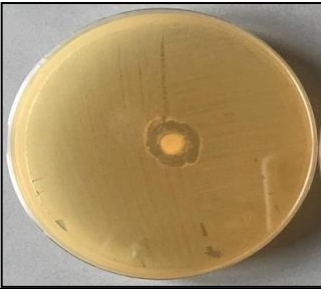

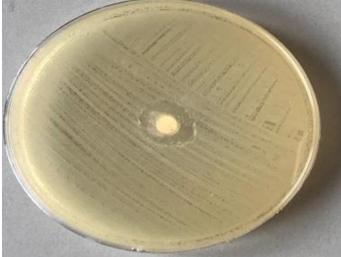
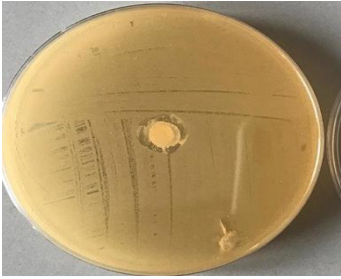




<b>Souches bactériennes</b>	<b>Diamètre des zones d'inhibition</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénémase négatif	<b>16 mm</b> 
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<b>16mm</b> 
<i>Acinétopacter baumannii</i>	<b>14mm</b> 
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<b>14mm</b> 
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<b>13mm</b> 

Tableau (suite)

Souches bactériennes	Diamètre des zones d'inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	<b>11mm</b> 
<i>Salmonella typhimurium</i>	<b>06mm</b> 
<i>Salmonella</i> ATCC 13076	<b>06mm</b> 
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<b>06mm</b> 

PUBLICATION



## RESEARCH PAPER

## OPEN ACCESS

## Antidiabetic effect of extra virgin olive oil from the 'Rougette' variety of the Skikda region of eastern Algeria

Djedioui Abdallah<sup>\*1</sup>, Rahal Lynda<sup>2</sup>, Giuseppe Ruberto<sup>3</sup>, Henchiri Chérifa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Applied Microbiology and Biochemistry, Department of Biochemistry, Badji-Mokhtar University, Annaba, Algeria

<sup>2</sup>Laboratory of Biodiversity and Pollution of Ecosystem, Department of Biology, Faculty of Sciences of Nature and Life, Chadli Bendjedid University El Tarf, Algeria

<sup>3</sup>Istituto del CNR di Chimica Biomolecolare, Via P. Gaifami, Catania, Italy

**Key words:** Induced diabetes, Hyperglycemia, Lipid profile, Olive oil, MUFA.

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/12.4.400-408>

Article published on April 30, 2018

### Abstract

The objective of this study is to determine the effects of an olive oil from the local "Rougette" variety on fasting glucose and lipid profile in rats with streptozotocin diabetes. For this, albino Wistar male rats were randomly divided into 4 groups. Rats were made diabetic by injection of streptozotocin. All groups received a standard rodent diet. Group 1: control received only this diet, both groups (2, 3): non-diabetic and diabetic received 2 ml of fasting extra virgin olive oil (EVOO) orally for 38 days, group 4: diabetic untreated. At the end of the experiment, body weights, fasting glucose, and lipid profile were measured. The results showed that there was an increase in body weight, a significant decrease in fasting blood glucose and triglycerides (TG), a highly significant increase in high density lipoprotein (HDL) and a decrease in total cholesterol (TC) in rats of the diabetic group treated with extra virgin olive oil (EVOO) compared with the untreated diabetic group. In control and healthy rats treated with olive oil, no significant difference was observed. In conclusion, olive oil can significantly improve fasting blood glucose and lipid profile in diabetic rats.

\* Corresponding Author: Djedioui Abdallah ✉ [djediouiabdallah@yahoo.fr](mailto:djediouiabdallah@yahoo.fr)

## Introduction

The olive tree (*Olea europaea* L.) is a tree that is found around the Mediterranean basin and belongs to the oleaceae family, characterized by its fruit, the olive and an oil from it. Olive oil is rich in monounsaturated fatty acids, mainly represented by oleic acid C18: 1  $\omega$ 9, and in minor compounds such as tocopherols, phenolic compounds, sterols and aromatic compounds (Ghedira, 2008).

It is important to mention that "extra virgin" olive oil is the only oil with such virtues because it comes directly from the pressure of the fruit, without any treatment. It therefore retains the nutritional qualities of the olive and its components such as polyphenols (Doveri *et al.*, 2007).

Olive oil has essentially anti-oxidant, antihypertensive, platelet aggregation inhibitors that prevent cardiovascular disease (Ghedira, 2008).

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases characterized by chronic hyperglycemia resulting from a defect in the secretion of insulin or the action of insulin or these two associated abnormalities (Drouin *et al.*, 1999).

The treatment of diabetes is to target normal glycaemic control as possible while avoiding hypoglycemia. Many natural antioxidants are used in the treatment of diabetes. In diabetic patients, they reduce the harmful effects of oxidative stress and free radicals (Lean *et al.*, 1999; Asgary *et al.*, 2002). Olive oil being rich in antioxidants could play the same effects.

Diets rich in monounsaturated fatty acids such as extra virgin olive oil, improve lipid profiles and glycaemic control in diabetics, suggesting that high dietary intake of these diets improves insulin sensitivity. (Ros, 2003; Paniagua *et al.*, 2007).

In this study, we tried to verify if extra virgin olive oil from a local olive variety "Rougette" (ITAFV, 2002) has an effect on fasting blood glucose and lipid profile in non-diabetic and diabetic rats streptozotocin (STZ).

## Materials and methods

### Fatty acid composition

#### Transesterification

100 mg of olive oil was placed in a 5ml test tube with 2ml of heptane under stirring. Then 0.2ml of a methanolic solution of KOH 2N have been added, the test tube was strictly sealed and vigorously stirred for 30 sec. After stratification of layers the upper organic solution containing the methyl ester mixture was separated and directly used for gas chromatographic analysis.

#### GC and GC-MS Analysis

A Shimadzu GC-17A Gas Chromatograph equipped with a fused silica capillary column (DB5-MS30 m x 0.25 mm x 0.2 $\mu$ m) coupled with a flame ionization detector (FID). The operating conditions were the following: 100 °C for 1 minute, then until 280°C at 5°C/min and held at 280°C for 15 minute; injector temperature 250°C; detector temperature 280°C; carrier gas helium (1mL/min); split mode (1:92), volume of injection 1 $\mu$ L. Percentages of compounds were determined from their peak areas in the GC-FID profiles. GC-MS analyses were performed on a Shimadzu GCMS-QP5050A with the same column and the same operative conditions used for analytical GC. Ionization was performed at 70 eV. Ion source temperature 180°C; mass spectral data were acquired in the scan mode in *m/z* range 40-400. Oil solutions were injected with the split mode (1:96).

#### Animals and diet

Twenty-four albino Wistar weighing rats (140-150g) from the Pasteur Institute of Algiers were separated and divided into groups of 6 rats per cage with *ad libitum* access to water and a standard diet for rats (UAB: National Animal Feeding Unit, Bejaia).

They were maintained under conditions of temperature and light (24  $\pm$  1°C and 12 h light / dark cycle) respectively and strict hygiene for a few days, for acclimation. The experiments were conducted according to the guidelines in the Guide to the Management and Use of Laboratory (Animals Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)



### Induction of diabete

Diabete was induced after a fast night of rats by injection of streptozotocin at a dose of 60mg /kg body weight intravenously. Streptozotocin induces diabetes within three days by destroying Langerhans beta cells (Karunanayake *et al.*, 1975). Due to acute hypoglycemia, rats received 10% sucrose solution for 48h in place of water. Blood samples were collected from the terminal part of the tails. The blood glucose was measured by glucometer. Rats with a blood glucose level  $\geq 300\text{mg/dl}$  (16.7 mmol/l) were considered diabetic. (Alirezaei *et al.*, 2012).

### Experimental protocol

The experiment was started just after the onset of diabetes and the selection of six diabetic rats. The experience was 38 days (May 12, 2016-June 18, 2016).

The groups are distributed as follows: 1st group as a control (Control), 2nd group as untreated diabetic (DIAB), 3rd group: non-diabetic rats receives (02ml) extra virgin olive oil (EVOO) (NDIABO 02ml) and the 4th diabetic group receives (02 ml) of olive oil (DIABO 02ml).

The doses of olive oil were administered twice daily, in the morning and afternoon, during the 38 days of the experiment. Weekly body weights were measured with a "KERN" scale and blood glucose was measured using an Accu check blood glucose meter throughout the experimental period. At the time of sacrifice, the livers and kidneys of the rats were removed, rinsed with physiological saline and dried. The organs were weighed immediately.

### Analysis of blood parameters

At the end of the experimental period, the rats were sacrificed after an overnight fast. Blood samples were immediately collected in previously labeled tubes. After centrifugation at 3500 rpm for 10 min, the serum obtained will be used for assays of serum glucose (SG), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol levels (HDLc) the analyzes were performed spectrophotometrically, according to the specifications of the supplier of the standard SPINREACT kits.

### Statistical analysis of the results

The results were presented on average plus or minus the standard deviation (mean  $\pm$  SEM). Statistical analysis was performed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey multiple comparison test using GraphPad Prism 5. The level of significance was: significant when  $P \leq 0, 05$ ; highly significant when  $P \leq 0.01$  and very highly significant when  $P \leq 0.001$ .

## Results and discussion

### Fatty acid composition

The fatty acid composition of the olive oil is shown in Table 1. There are three main types of fatty acids that can be present in a triglyceride, SAFA (Cn: 0), monounsaturated, MUFA (Cn: 1) and polyunsaturated, (PUFA) with two or three double bonds (Cn: 2, 3).

**Table 1.** fatty acid composition of the oil.

Fatty acid	(%)/total fatty acid	Standards IOC
Palmiticacid (C16:0)	14,40	07,50 – 20,00
Palmitoleicacid (C16:1)	00,91	00,30 – 03,50
Stéaricacid (C18:0)	01,96	00,50 – 05,00
Oleicacid (C18:1)	81,14	55,00 – 83,00
Linoleicacid (C 18:2)	01,59	02,50 – 21,00
SAFA	16,36	
MUFA	82,05	
PUFA	01,59	

SAFA refers to Saturated Fatty Acids;

MUFA, Monounsaturated Fatty Acids

PUFA, Polyunsaturated Fatty Acids.

The results obtained show that the fatty acid composition of this olive oil studied meets the standards set by the International Olive Council (IOC, 2001). It is rich in oleic acid (C18: 1, 09) with a percentage of (81.14%) this percentage is higher than for other varieties Algerian, Limli, Blanquette and Bouricha (Benrachou *et al.*, 2010).

Prospective studies (Jacotot, 1997) show that a predominantly MUFA diet is associated with an improvement in glycemic equilibrium as assessed by glycemia, glycosuria, and glycated hemoglobin with a decrease in insulin requirements. The lipid profile is also improved. A study by Madigan (Madigan, 2000) compares the effects of a diet rich in PUFA with a diet rich in MUFA in 11 patients with type 2 diabetes for 2 weeks.

The results show a rise in glucose and insulin levels in the blood following the high linoleic acid diet compared to a diet rich in oleic acid. Thus, an oleic acid diet should be preferred over a diet rich in polyunsaturated fatty acids in the type 2 diabetic patient.

Mancini's research group (Mancini, 1997) has shown that a diet rich in olive oil, low in saturated fat, moderately rich in carbohydrates and providing soluble fiber provided by fruits, vegetables and cereals is the best dietary solution in type 2 diabetes.

It improves glycemic control and increases insulin sensitivity. The fasting glucose results showed that the higher the olive oil consumption, the lower the fasting glucose level.

It has also shown that in non-insulin-dependent diabetics, a diet rich in MUFA and low in complex carbohydrates significantly lowers blood glucose, insulinemia and postprandial triglyceridemia compared to a diet low in MUFA and rich in complex carbohydrates. Thus, Mancini states that it is therefore clearly not possible to recommend to non-insulin-dependent diabetics a diet low in fat.

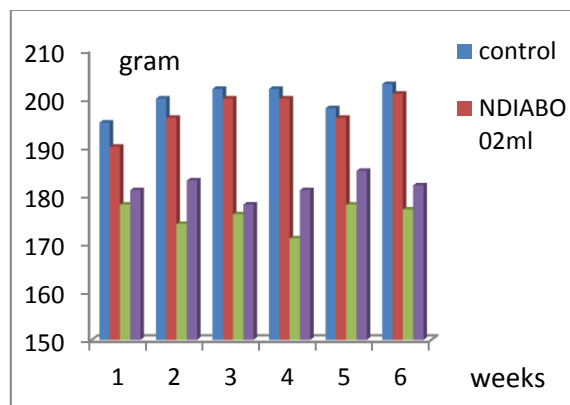
On the contrary, he could ask these patients to replace carbohydrates with olive oil (Henry, 2003).

Otherwise, the percentage of linoleic acid (C 18: 2  $\omega$  6) is 01.59% is sufficient to prevent a deficiency of essential fatty acid (Lapillone *et al.*, 2003).

On the other hand, this oil contains saturated fatty acids represented by Palmitic acid C 16: 0 (14.40%) and stearic acid C 18: 0 (1.96%). It should be noted that health authorities around the world are encouraging people to reduce the consumption of saturated fatty acids, because of numerous studies that have shown that they can increase the "bad" cholesterol and consequently a higher risk of diseases cardiovascular (American Heart Association, 2018).

### Body weights

The results obtained are shown in Fig.1.



**Fig. 1.** Body weight monitoring during the experimentation period.

These results show an increase in the body weight of the rats of the control (Control) and non-diabetic rats treated with the 2ml dose (NDIABO) related to the normal growth of these animals as well as a reduction of diabetic weights (DIAB) which would be related to metabolic disorders due to diabetes. Lack of insulin activates lipolysis in adipose tissue and causes weight loss (Prabhakar *et al.*, 2008). An increase in the weight of the diabetic groups treated with the 2ml dose (DIABO) was observed, but it remains lower than that observed in the control rats (Control). This suggests that olive oil exerted a slight effect on the insulin activity of the pancreas, resulting in a slight lipogenesis which allowed the recovery of rat body weights; this weight gain is also related to the normal growth of rats (Davis, 2004).

### Relative organ weights

The results of the relative weights of organs (liver and kidney) obtained are presented in Table 2.

**Table 2.** Relative weight of organs (liver and kidney).

Groups	Relative liver weight	Relative kidney weight
Control	5,15 ± 0,17	0,99 ± 0,05
DIAB	6,85 ± 1,08	1,35 ± 0,38
NDIABO 02 ml	6,05 ± 1,08	0,99 ± 0,18
DIABO 02 ml	6,65 ± 0,39	1,24 ± 0,06

The previous results show that the relative weights of kidneys and livers of diabetic rats (DIAB) are higher compared to the rats of batches (Control) and (NDIABO).

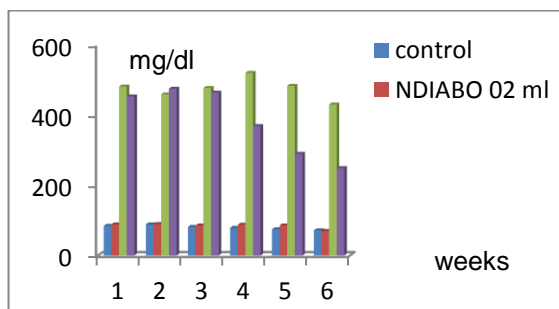
The liver plays a major role in the metabolic regulation of dietary nutrients, including carbohydrates and lipids (Mezey *et al.*, 1999), and the increase in relative organ weights can be considered as an indicator of the toxicity of substances used, in this case streptozotocin. Our results are consistent with the bibliographic data of (Horiguchi *et al.*, 1996, Asagba *et al.*, 2002). Several studies show that animals fed on PUFA-rich diets reduce liver fat accumulation compared to diets rich in saturated fatty acids (Crescenzo *et al.*, 2012).

In this regard, Bjeremo and al (Bjeremo *et al.*, 2012) indicate that a 10-week PUFA-rich isocaloric diet reduces the fat content of the liver and tends to reduce insulin resistance compared to a diet rich in saturated fatty acids in people with abdominal obesity and diabetes type 2.

#### Blood samples analysis

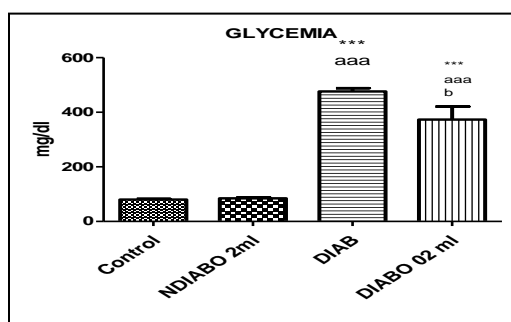
##### Fasting glycemic

Fasting blood glucose measurements taken during the treatment period are shown in Fig.2.



**Fig. 2.** blood glucose during the experimental period.

The "control" group shows no change in blood glucose concentrations for 38 days of experience. However, for the diabetic group (DIAB), an increase in blood glucose levels was observed during this period. There was also a significant decrease in blood glucose from week 4 in the diabetic lot treated with olive oil (DIABO).



**Fig. 3.** Comparison of fasting glucose averages.

Statistical results obtained using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey multiple comparison tests (Fig. 3), show that the fasting glucose levels of DIAB and DIABO rats are higher in these lots compared to control lots and NDIABO with a very highly significant difference ( $p \leq 0.001$ ). Similarly, there is a significant decrease ( $P \leq 0.05$ ) between the fasting blood glucose levels of the DIAB and DIABO lots, but the blood glucose levels of DIABO remain higher than that of the control lot; the period of treatment and the dose used did not normalize blood glucose.

From these results it can be deduced that the increase in fasting blood glucose in diabetic lots is related to the diabetic effect of streptozotocin on pancreatic cells (Junod *et al.*, 1967) and lack of treatment of rats. (Guillausseau *et al.*, 2003).

The extra virgin olive oil treatment improved the fasting blood glucose level by causing a decrease in the DIABO lot compared to the NDIABO lot; this result is in agreement with those obtained by Violi and al (Violi *et al.*, 2015). But this treatment and its duration did not allow a normalization of this glycemia. This decline could be related to the richness of olive oil in antioxidants such as tocopherols (Psomiadou *et al.*, 2000) and polyphenols (Visioli and Bernardini, 2011). According to Schuler (Schuler, 1990), the antioxidant activity of tocopherols, mainly vitamin E, which may have beneficial effects on oxidative stress-related diseases through various mechanisms (Devaraj *et al.*, 1999).

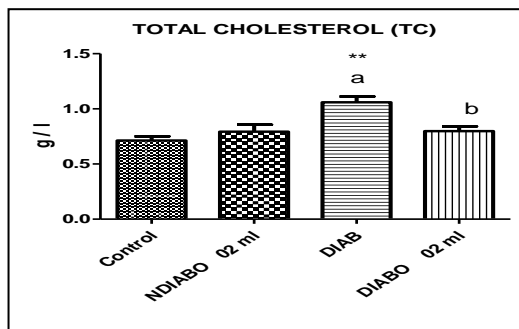
The mechanism of the hypoglycaemic effect of natural antioxidants may be due to the potentiation of insulin release, increased peripheral glucose uptake and attenuation of oxidative stress as well as improved antioxidant defenses of the body (Wainstein *et al.*, 2012).

##### Impact on the lipid profile.

Cholesterol and triglycerides as many of the basic elements and components of the body. Abnormal levels generally occur due to defects in the synthesis, degradation and transport of their associated lipoprotein particles (Mensink *et al.*, 2003).

### Total Cholesterol

The cholesterol levels after sacrifice are shown in Fig.4.



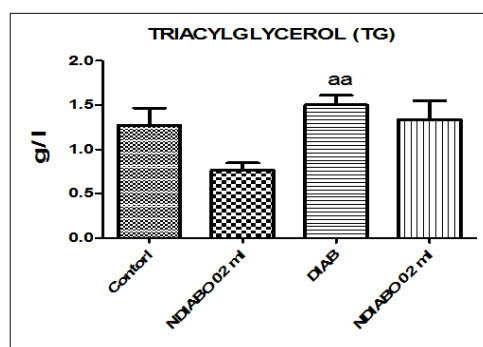
**Fig. 4.** Evaluation of total cholesterol levels (TC) (g/l).

The results, using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey multiple comparison tests (Fig.4), show that cholesterol levels in DIAB rats are higher in this lot compared to batches. Control and NDIABO with a highly significant difference ( $p \leq 0.01$ ). Similarly, there is a significant decrease ( $P \leq 0.05$ ) between the cholesterol levels of DIABO and DIAB, but the cholesterol levels of DIABO remain slightly higher than those of the control group.

The consumption of HOEV improved the total cholesterol by causing a decrease in the rates in the DIABO lot compared to the DIAB lot; this result is consistent with that of Mattson *et al*, Kris-Etherton (Mattson and Grundy, 1985; Kris-Etherton *et al.*, 1999) who showed that a diet rich in monounsaturated fatty acids decreased plasma cholesterol. This effect could be related to the quantities of phytosterols brought by this diet rich in extra virgin olive oil (Pelletier and al, 1995).

### Triglycerides

The triglyceride (TG) levels after sacrifice are shown in Fig. 5.



**Fig. 5.** Evaluation of triacylglycerol (TG) levels (g / l).

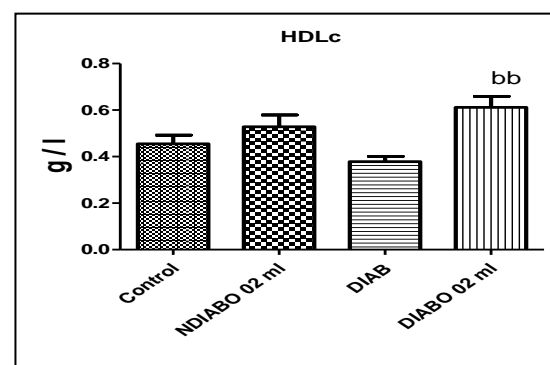
The results obtained, using the one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey multiple comparison tests (Fig. 5), show that the triglyceride (TG) levels of the batch of DIAB rats are higher compared to lot DIABO with a highly significant difference ( $p \leq 0,01$ ) with a non-significant difference with the control batch and NDIABO.

In our study, olive oil is associated with a nonsignificant reduction in TG, consistent with studies by Kris-Etherton and al, Berglund and Allman-Farinelli (Kris-Etherton *et al.*, 1999; Berglund, 2007; Allman-Farinelli, 2005) but disagree with other authors who have shown no significant changes in lipid profiles (Madigan, 2000; Ródenas *et al.*, 2005) while Chang and Huang found that TG increased after a high monounsaturated diet (Chang and Huang, 1990).

The increased consumption of MUFA improves insulin sensitivity and therefore reduces TG levels as lipoprotein lipase, the enzyme responsible for plasma TG degradation, is an insulin-sensitive enzyme (Berry, 1997).

### HDLc

The levels of HDLc after sacrifice are shown in Fig.6.



**Fig. 6.** Evaluation of HDLc levels (g / l).

Using the one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey multiple comparison tests (Fig.6), the results show that the HDLc levels of DIABO rats are higher than that of control and NDIABO batches with a non-significant difference and with a highly significant difference ( $p \leq 0.01$ ) compared to the DIAB lot.

Indeed, olive oil may reduce LDL levels (Mensink and Katan, 1992) and increase HDLc levels (Mattson and Grundy, 1985). Olive oil, which contains a high level (70% - 80%) of oleic acid, is responsible for reducing triglycerides and increasing HDLc (Covas, 2008).

The decrease in HDLc is a major risk factor for cardiovascular disease. Conversely, each 1% increase in this "good" cholesterol reduces the coronary risk by 3%. The existence of an inversely proportional relationship between the plasma concentration of HDLc and the occurrence of myocardial infarction, especially in women (Henry, 2003).

Extra virgin olive oil of the "Rougette" variety could be effective in the treatment of diabetes by significantly lowering fasting blood glucose and preventing cardiovascular disease by decreasing total cholesterol and increasing HDLc.

#### References

- Alirezaei M, Dezfoulian O, Neamati S, Rashidipour M, Tanideh N, Kheradmand A.** 2012. Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. *Journal of Physiology and Biochemistry* **68(4)**, 583-592.  
DOI: 10.1007/s13105-012-0177-8.
- Allman-Farinelli MA, Gomes K, Favalaro EJ, Petocz P.** 2005. A Diet Rich in High-Oleic-Acid Sunflower Oil Favorably Alters Low-Density Lipoprotein Cholesterol, Triglycerides, and Factor VII Coagulant Activity. *Journal of the American Dietetic Association* **105**, 1071-1079.
- Benrachou N, Henchiri C, Djeghaba Z.** 2011. Caractérisation de trois huiles d'olives issues de trois cultivars de l'Est Algérien. *Revue synthèse* **22**, 12-22.
- Berglund L, Lefevre M, Ginsberg HN, Kris-Etherton PM, Elmer PJ, Stewart PW.** 2007. Comparison of Monounsaturated Fat with Carbohydrates as a Replacement for Saturated Fat in Subjects with a High Metabolic Risk Profile: Studies in the Fasting and Postprandial States. *The American Journal of Clinical Nutrition* **86**, 1611- 1620.
- Berry EM.** 1997. Dietary Fatty Acids in the Management of Diabetes Mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition* **66**, 991S-997S.  
DOI: 10.1093/AJCN.66.4.991S
- Bjermo H, Iggman D, Kullberg J, Dahlman I, Johansson L, Persson L, Berglund J, Pulkki K, Basu S, Uusitupa M, Rudling M, Arner P, Cederholm T, Ahlström H, Risérus U.** 2012. Effects of n-6 PUFAs compared with SFAs on liver fat, lipoproteins, and inflammation in abdominal obesity: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition* **95**, 1003-1012.  
DOI: 10.3945/ajcn.111.030114.
- Chang NW, Huang PC.** 1990. Effects of dietary monounsaturated fatty acids on plasma lipids in humans. *Journal of Lipid* **31**, 2141-2147.
- Crescenzo R, Bianco F, Falcone I.** 2012. Hepatic mitochondrial energetic during catch-up fat with high-fat diets rich in lard or safflower oil. *Obesity* **20**, 1763- 1772.  
DOI: 10.3389/fphys.2017.00178
- Davis SN.** 2004. The role of glimepiride in the effective management of Type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications* **18**, 367-376.
- Devaraj S, Jialal I.** 1999. Alpha-tocopherol decreases interleukin-1 beta release from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **19**, 1125-33.
- Doveri S, Baldoni L.** 2007. *Olive. Fruits and Nuts*, Springer 253-264.
- Drouin P, Blickle JF, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau PJ, Plouin PF, Daninos JM, Balarac N, Sauvanet JP.** 1999. Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères. *Diabetes & Metabolism (Paris)* **25** (1), 72- 83.  
DOI: DM-05-1999-25-1-1262-3636-101019-ART66
- Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, et al.** 2006. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Annals of Internal Medicine* **145**, 1-11.



- Ghedira K.** 2008. L'olivier. *Phytothérapie* **6**, 83-89. DOI: 10.1007/s10298-008-0294-2.
- Grundy SM.** 1986. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *The New England Journal of Medicine* **314**, 745-748.
- Guillausseau PJ, Laloi-Michelin M.** 2003. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *La revue de médecine Interne* **24**, 730-737.
- Henry S.** 2003. L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Phd thesis, Nancy University, France.
- Horiguchi H, Sato M, Konno N, Fukushima M.** 1996. Long-term cadmium exposure induces anemia in rats through hypoinduction of erythropoietin in the kidney. *Archives of Toxicology* **71**, 11-19.
- Jacotot B.** 1997. Intérêt nutritionnel de la consommation de l'huile d'olive. *Corps Gras Lipides* **4(5)**, p373-374.
- Junod A, Lambert AE, Orci L, Pictet R, Gonet AE, Renold AE.** 1967. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **126**, 201-5.
- Karunanayake EH, Hearse DJ, Mellows G.** 1975. The metabolic fate and elimination of streptozocin. *Biochemical Society Transactions* **3**, 410-14.
- Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, Etherton TD.** 1999. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Dec **70(6)**, 1009-15.
- Lapillone A, Clarke SD, Heird WC.** 2003. Plausible mechanisms for effects of long-chain polyunsaturated fatty acids on growth, *Journal of Pediatrics* **143**, p226-238.
- Lean ME, Noroozi M, Kelly I, Burns J, Talwar D, Sattar N, Crozier A.** 1999. Dietary flavonols protect diabetic human lymphocytes against oxidative damage to DNA. *Diabetes Care* **48**, 176-181.
- Madigan C.** 2000. Dietary unsaturated fatty acids in type 2 diabetes: higher levels of postprandial lipoprotein on a linoleic acid-rich sunflower oil diet compared with an oleic acid-rich olive oil Diet. *Diabetes Care* **23 (10)**, p1472-1477.
- Mancini M.** 1997. Le régime méditerranéen, meilleur choix dans le diabète Société Internationale de l'athérosclérose, Paris, octobre P. 125.
- Martinez-Gonzalez MA, Sanchez-Villegas A.** 2004. The emerging role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology: MUFA, olive oil, red wine or the whole pattern? *European Journal of Epidemiology* **19**, 9-13.
- Mattson FH, Grundy SM.** 1985. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in men. *Journal of Lipid Research* **26**, 194-202.
- Mensink RP, Katan MB.** 1992. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: A meta analysis on 27 trials. *Arteriosclerosis and Thrombosis* **12**, 911-919.
- Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB.** 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* **77**, 1146-1155.
- Mezey E.** 1999. Fatty Liver in Schiff's Diseases of the Liver (Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC. Eds). Philadelphia, Lippincott-Raven pp. 1185-1197.
- Paniagua JA, de la Sacristana AG, Sanchez E, Romero I, Vidal-Puig A, Berral FJ,** 2007. MUFA-rich diet improves postprandial glucose, lipid and GLP-1 responses in insulin-resistant subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* **26**, 434-44.

- Prabhakar PK, Doble M.** 2008. A target based therapeutic approach towards diabetes mellitus using medicinal plants. *The Journal Current Diabetes Reviews* **4**, 291-308.
- Psomiadou E, Tsimidou M, Boskou D.** 2000. Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 1770-1775.
- Ródenas S, Rodríguez-Gil S, Merinero MC, Sánchez-Muniz FJ.** 2005. Dietary Exchange of an Olive Oil and Sunflower Oil Blend for Extra Virgin Olive Oil Decreases the Estimate Cardiovascular Risk and LDL and Apolipoprotein AII Concentrations in Postmenopausal Women. *Journal of the American College of Nutrition* **24**, 361-369.
- Ros E.** 2003. Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition* **78(suppl)**, 617-25S.
- Schuler P.** 1990. Natural antioxidants exploited commercially. In: *Food antioxidants*. Hudson B. J. F. Ed: Elsevier Science Publishers, London 99-170.
- Violi F, Loffredo L, Pignatelli P, Angelico F, Bartimoccia S, Nocella C, Cangemi R, Petruccioli A, Monticolo R, Pastori D, Carnevale R.** 2015. Extra virgin olive oil use is associated with improved postprandial blood glucose and LDL cholesterol in healthy subjects. *Nutrition & Diabetes* **5**, e172.  
DOI: 10.1038/nutd.2015.23
- Visioli Fand Bernardini E.** 2011. Extra virgin olive oil's polyphenols: biological activities. *Current Pharmaceutical Design* **17(8)**, 786-804.
- Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z.** 2012. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Journal of Medicinal Food* **15(7)**, 605-610.  
DOI: 10.1089/jmf.2011.0243.