



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT EN SCIENCE

Filière : Sciences biologiques

Présentée par
Mme AYARI Djamila Ep Boukazoula
Intitulé

**Etude des effets toxiques des huiles végétales oxydées sur la
physiologie et le métabolisme cellulaire des lapins**

Soutenue le : 22/03/2021

Devant le Jury composé de :

Mr CHEMMAM Mabrouk	professeur	Univ. de Guelma	Président
Mme SOUIKI Lynda	professeur	Univ. de Guelma	Rapporteur
Mme GRARA Nojoud	professeur	Univ. de Guelma	Examineur
Mr CHEFROUR Azzedine	Professeur	Univ. de Souk-Ahras	Examineur
Mr LALAOUI Korichi	Professeur	Univ. de Constantine	Examineur
Mme TADJINE Aicha	Professeur	Univ. de Al tarf	Examineur

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

En tout premier lieu mon respect et reconnaissance sont adressés à monsieur **CHEMAM Mabrouk** ; professeur à l'université 8 mai 1945 Guelma, qui ma fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

J'adresse mes remerciements aux membres de jury :

Madame le Professeur **GRARA Nojoud**,

Monsieur le professeur **CHEFROUR Azzedine**,

Monsieur le professeur **LALAOUI Kourichi**,

Madame le professeur **TADJINE Aicha**.

Qui ont accepté de faire partie du jury de cette thèse comme examinateurs et de juger ainsi ce travail. Leurs remarques et leurs critiques seront pour moi une source d'enrichissement.

Mes sincères remerciements vont à mon encadreur : Madame **SOUIKI Lynda**; professeur à l'université 8 mai 1945, Guelma. , je vous dis que ce sont vos exceptionnelles qualités d'enseignant, votre sens élevé du professionnalisme et surtout votre sérieux qui m'ont poussé à vous solliciter comme encadreur. Votre compétence, votre droiture et votre simplicité sont autant de qualité qui font de vous quelqu'un d'exceptionnel.

Merci pour avoir été attentive et de m'avoir toujours accueillie, guidée, assistée, orientée dans toutes les étapes de préparation de ce document.

Merci infiniment.

Une part importante de ce travail a été réalisée au Laboratoire des écosystèmes aquatiques et terrestres, Université Mohamed cherif messadia, Souk ahras ; sous la responsabilité de Professeur **KOUACHI Nouha**, je tiens à le remercier, pour son aide et son accueil chaleureux au laboratoire.

Je remercie du fond du cœur tout le personnel du centre de recherche de biotechnologie (CRBT) à Constantine pour leur gentillesse et leurs portes ouvertes. Merci pour leur implication à tous les niveaux dans la réalisation des profils chromatographiques. Votre esprit d'équipe, votre rigueur scientifique et vos compétences techniques m'ont beaucoup fasciné.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance aux enseignants de l'institut d'agro-vétérinaire à Université MOHAMED Cherif Messadia pour leur aide. Merci de m'avoir aidé à monter ce travail de bout en bout, à faire la composition et la préparation des différents régimes et la commande des animaux. Merci de nous avoir fait confiance, en nous ouvrant

grandement les portes de votre institut pour y réaliser les élevages des lapins. Merci pour vos précieux conseils, votre disponibilité et surtout votre patience, car dans les moments difficiles de cette étude, vous m'avez prêté une oreille attentive et vous avez su me guider. Pour ce faire, je vous dis MERCI, MERCI, MERCI... J'ai été particulièrement marqué par la bonne organisation de votre équipe. Je voudrais témoigner ma gratitude à Docteur **BAROUR Djanette** pour son aide précieuse dans la réalisation de certains travaux et pour ses précieux conseils concernant l'élevage des lapins.

J'exprime mon infinie gratitude à mon époux, **Docteur BOUKAZOULA Fouad**. Merci pour ton aide quotidienne, pour la réalisation des analyses statistiques et ton soutien sans faille. Merci pour ta patience et ta gentillesse sans borne.

En fin, merci à tous ceux que j'ai connus et que j'ai omis de citer.

Résumé

Dans cette étude nous avons simulé les effets de la consommation d'une l'huile d'olive vierge thermo-oxydée sur l'apparition des facteurs de risque associés aux problèmes métaboliques, dans un modèle nutritionnel de lapins. Une huile d'olive vierge a été soumise à un traitement thermique pendant 1h, 2h, 3h et 4h en continue et à l'obscurité. Certaines caractéristiques chimiques (acidité, indice de peroxyde, indice d'iode) ainsi que l'étude par GC-MS de la composition en acides gras ont été analysés. Les résultats obtenus ont montré une augmentation de l'acidité et de l'indice de peroxyde des huiles d'olive vierge chauffées par rapport à celle non chauffée. De plus, le traitement thermique a provoqué une diminution du degré d'insaturation traduit par la diminution de l'indice d'iode et une dégradation des acides gras qui a conduit à l'obtention de composés très toxiques qui sont les acides gras trans. Des régimes à base de 15% de l'huile d'olive vierge non chauffée et chauffée respectivement pendant 1h, 2h, 3h et 4h et ont été administrés aux lapins mâles adultes pendant 1 mois. Le gain de poids, la quantité d'aliment consommée, le poids du foie, le profil lipidique sanguin et les paramètres du statu oxydatif ont été déterminés après les 4 semaines d'expérimentation. Les résultats révèlent que les régimes riches en huile d'olive vierge thermooxydée provoquent, un retard de croissance chez les lapins traités malgré une consommation alimentaire similaire aux lapins témoins. Par ailleurs, une hypertrophie hépatique chez les lapins ayant consommés une huile d'olive vierge thermooxydée est notée. En outre, l'analyse du profil lipidique plasmatique, montre une augmentation significative du taux de cholestérol total (CT), triglycérides (TG), LDL, et une diminution du taux de HDL chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge thermooxydée. Les teneurs en lipides hépatiques sont nettement supérieures après consommation de l'huile thermooxydée et une baisse du taux de protéine hépatique est observée par rapport aux témoins. Une diminution de l'activité catalase (CAT) et du glutathion réduit (GSH) a été observée chez les lapins nourris avec un régime d'huile d'olive vierge thermo-oxydée. Par ailleurs l'apport de l'huile d'olive oxydée a conduit à une augmentation du taux de glutathion-s-transférase (GST) et à des niveaux plus élevés de peroxydation lipidique justifiée par une augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA). Par conséquent, le traitement thermique de l'huile d'olive vierge pendant une longue période n'est pas appropriée car la thermo-oxydation conduit à la dégradation de l'huile et l'apparition de composés toxiques.

Mots clés : huile végétale, huile d'olive, oxydation, thermo-oxydation, toxicité, lapins, stress oxydatif.

Abstract

In this study we simulated the effects of consuming thermo-oxidized virgin olive oil on the onset of risk factors associated with metabolic problems, in a nutritional model of rabbits. Virgin olive oil was heat treated for 1, 2, 3 and 4 hours continuously and in the dark. Certain chemical characteristics (acidity, peroxide number, iodine number) as well as the GC-MS study of the fatty acid composition were analyzed. The results obtained showed an increase in the acidity and the peroxide value of heated virgin olive oils compared to unheated ones. In addition, heat treatment caused a decrease in the degree of unsaturation resulting in the decrease of the iodine value and degradation of fatty acids has led to the production of highly toxic compounds which are trans-fatty acids. Diets based on 15% unheated virgin olive oil and heated for 1h, 2h, 3h and 4h respectively were administered to adult male rabbits for 1 month. Weight gain, amount of food consumed, liver weight, blood lipid profile and oxidative status parameters were determined after 4 weeks of experimentation. The results show that diets rich in thermooxidized virgin olive oil caused growth retardation in treated rabbits despite similar food consumption to control rabbits. In addition, hepatic hypertrophy in rabbits having consumed thermooxidized virgin olive oil is noted. In addition, analysis of the plasma lipid profile shows a significant increase in the level of total cholesterol (CT), triglycerides (TG), LDL, and a decrease in the level of HDL in rabbits treated with thermooxidized virgin olive oil. The levels of hepatic lipids are clearly higher after consumption of the thermooxidized oil and a decrease in the level of hepatic protein is observed compared to the controls. A decrease in Catalase activity (CAT) and reduced glutathione (GSH) was observed in rabbits fed a diet of thermo-oxidized virgin olive oil. In addition, the intake of oxidized olive oil led to an increase in the level of glutathione-s-transferase (GST) and to higher levels of lipid peroxidation justified by an increase in the level of malondialdehyde (MDA). Therefore, heat treatment of virgin olive oil for a long time is not appropriate as thermo-oxidation leads to degradation of the oil and the appearance of toxic compounds.

Key words: vegetable oil, olive oil, oxidation, thermo-oxidation, toxicity, rabbits, oxidative stress.

ملخص

في هذه الدراسة، قمنا بدراسة تأثيرات استهلاك زيت الزيتون البكر المؤكسد حرارياً على ظهور عوامل الخطر المرتبطة بمشاكل التمثيل الغذائي، في نموذج غذائي للأرانب. تمت معالجة زيت الزيتون البكر بالحرارة لمدة 1 و 2 و 3 و 4 ساعات متواصلة وفي الظلام. تم تحليل الخصائص الكيميائية (الحموضة، رقم البيروكسيد، رقم اليود) وكذلك دراسة GC-MS لتركيب الأحماض الدهنية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها زيادة في الحموضة وقيمة البيروكسيد لزيت الزيتون البكر المسخنة مقارنة بالزيوت غير المسخنة. بالإضافة إلى ذلك، تسببت المعالجة الحرارية في انخفاض درجة عدم التشبع مما أدى إلى انخفاض في عدد اليود وتلف الأحماض الدهنية مما أدى إلى الحصول على مركبات شديدة السمية وهي الأحماض الدهنية المتحولة. نظام غذائي يعتمد على 15% زيت زيتون بكر غير مسخن أو مسخن لمدة ساعة، ساعتين، 3 ساعات أو 4 ساعات على التوالي تم إعطاؤه للأرانب الذكور البالغة لمدة شهر واحد. تم تحديد زيادة الوزن، كمية الطعام المستهلكة، وزن الكبد ونسبة الدهون في الدم ومعايير التأكسد بعد 4 أسابيع من التجربة. أظهرت النتائج أن الغذاء المضاف له زيت الزيتون البكر المؤكسد حرارياً تسبب في تأخر نمو الأرانب المعالجة بالرغم من استهلاكها الغذائي المماثل للأرانب الشاهدة. بالإضافة إلى ذلك، لوحظ تضخم كبدي عند الأرانب التي تناولت زيت الزيتون البكر المؤكسد حرارياً. علاوة على ذلك، يوضح تحليل الدهون في البلازما زيادة في الكوليسترول الكلي (TC)، والدهون الثلاثية (TG، LDL)، وانخفاض مستويات HDL في الأرانب المعالجة بزيت الزيتون البكر المؤكسد حرارياً. كما اثبتت الدراسة ارتفاع في مستويات الدهون الكبدية بشكل ملحوظ بعد استهلاك الزيت المؤكسد بالحرارة و انخفاض في مستوى البروتين الكبدي مقارنةً بالأرانب الشاهدة. لوحظ أيضاً انخفاض في نشاط الكاتالاز (CAT) و الجلوتاثيون (GSH) في الأرانب التي تتغذى على نظام غذائي من زيت الزيتون البكر المؤكسد حرارياً. بالإضافة إلى ذلك، أدى تناول زيت الزيتون المؤكسد إلى زيادة مستوى الجلوتاثيون-أس-ترانسفيراز (GST) وإلى مستويات أعلى من بيروكسيد الدهون الذي يبرره زيادة مستوى مالونديالدهيد (MDA). لذلك فإن المعالجة الحرارية لزيت الزيتون البكر لفترة طويلة غير مناسبة لأن الأوكسدة الحرارية تؤدي إلى تحلل الزيت وظهور مركبات السامة.

الكلمات المفتاحية: الزيت النباتي، زيت الزيتون، الأوكسدة، الأوكسدة الحرارية، السمية، الأرانب، الإجهاد التأكسدي.

SOMMAIRE

Sommaire

Liste des figures	i
Liste des tableaux	ii
Liste des abréviations	iii
Introduction	1

I. Synthèse Bibliographique

I.1. Les huiles végétales.....	5
I.1.1. structure des huiles végétales.....	7
I.1.2. L'huile d'olive.....	8
I.1.2.1. Techniques de transformation de l'olive à l'huile.....	11
I.1.2.2. Production de l'huile d'olive.....	12
I.1.2.3. Composition et caractéristiques de l'huile d'olive.....	14
I.1.2.4. Définition et critères de qualité de l'huile d'olive.....	18
I.1.2.5. Consommation de l'huile d'olive.....	19
I.1.2.6. L'utilisation de l'huile d'olive en cuisson.....	20
I.1.2.7. Effet de la cuisson sur les attributs de qualité de l'huile d'olive	30
I.2. Assimilation et rôle nutritionnel des huiles végétales.....	31
I.3. Oxydation des huiles végétales	32
I.3.1 oxydation des acides gras.....	33
I.4. Interaction huile oxydée-aliments.....	41
I.5. Digestion et absorption des produits d'oxydation des huiles alimentaires chauffées	42
I.6. Effets toxicologiques des huiles végétales chauffées.....	42
I.6.1. Toxicité des produits d'oxydation des huiles végétales.....	42
I.6.2. Effets des acides gras <i>trans</i>	44
I.7. Conséquences du stress oxydant sur les tissus.....	45
I.7.1. Le stress oxydant.....	45
I.7.2. Les espèces réactives.....	45
I.7.3. Les antioxydants.....	53
I.7.3.1. Les antioxydants endogènes.....	53
I.7.3.2. Les antioxydants exogènes.....	55
I.8. Le stress oxydant et la santé.....	55
Objectifs	56

II. Matériel et méthodes

II.1. l'huile d'olive utilisée	57
II.1.1. Procédés d'oxydation de l'huile d'olive vierge.....	57
II.1.2. Indices analytiques de l'huile d'olive vierge	58
II.1.3. Analyse chromatographique en phase gazeuse des acides gras.....	60
II.2. modèle biologique.....	61
II.3. Sacrifices et prélèvements du sang et des organes.....	62
II.4 analyses biochimiques.....	63
II.4.1. Profil lipidique plasmatique.....	63

II.4.1.1. cholestérol total (CT).....	63
II.4.1.2. Triglycéride (TG).....	63
II.4.1.3. HDL – Cholestérol.....	64
II.4.1.4. LDL- Cholestérol.....	65
II.4.2. paramètres biochimiques du stress.....	65
II.4.2.1. Lipides hépatiques.....	65
II.4.2.2. Les protéines totales hépatiques.....	65
II.4.3. Les biomarqueurs du stress oxydant.....	65
II.4.3.1. L'activité Catalase (CAT).....	65
II.4.3.2. Glutathion réduit (GSH).....	66
II.4.3.3. Glutathion S-transférase (GST).....	67
II.4.3.4. Malondialdéhyde (MDA).....	68
II.5 Analyses statistiques	
III. Résultats et discussion	
III.1. Résultats.....	69
III.1.1. Indices de qualité de l'huile d'olive vierge	69
III.1.2. Teneur totale en acides gras de l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée.....	72
III.1.2.1. Huile d'olive vierge non chauffée.....	72
III.1.2.2. Huile d'olive chauffée pendant 1 heure.....	74
III.1.2.3. Huile d'olive chauffée pendant 2 heures.....	76
III.1.2.4. Huile d'olive chauffée pendant 3 heures.....	78
III.1.2.5. Huile d'olive vierge chauffée 4 heures.....	80
III.1.3. La composition en acides gras de l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée.....	82
III.1.3.1. la composition en acides gras saturé.....	82
III.1.3.2. la composition en acides gras mono-insaturé.....	82
III.1.3.3. la composition en acides gras polyinsaturé.....	82
III.1.3.4. la composition en acides gras trans.....	83
III.1.4. Paramètres physiologiques des lapins.....	86
III.1.5. effet de la consommation de l'huile d'olive vierge thermooxydée sur les paramètres biochimiques des lapins.....	88
III.1.5.1. Taux de cholestérol total.....	88
III.1.5.2. Triglycérides.....	88
III.1.5.3. Taux de LDL cholestérol.....	90
III.1.5.4. Taux de HDL cholestérol.....	90
III.1.5.5. Les lipides hépatiques.....	92
III.1.5.6. Les Protéines hépatiques totales.....	92
III.1.6. effet de la consommation de l'huile d'olive vierge thermooxydée sur les biomarqueurs de stress oxydant.....	94
III.1.6.1. L'activité Catalase (CAT).....	94
III.1.6.2. Le glutathion réduit (GSH).....	94

III.1.6.3. L'activité de la glutathion S-transférase (GST).....	96
III.1.6.4. Le taux de malonedialdéhyde (MDA).....	96
III.2. Discussion.....	98
IV. Conclusion et perspective.....	111
V. Références bibliographiques.....	114

Liste des figures

Figure	Titre	Pages
01	consommation des huiles végétales	6
02	l'auto-oxydation des acides gras insaturés	36
03	l'auto-oxydation des acides gras insaturés	37
04	évolution de l'auto-oxydation des gras insaturés	39
05	les espèces réactives de l'oxygène ERO et les espèces réactives de l'azote ERN	48
06	origine des espèces réactives	48
07	Effets des espèces réactives sur l'ADN, les lipides et les protéines	52
08	profil chromatographique de l'huile d'olive vierge non chauffée	73
09	Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 1heures	75
10	Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 2heures	77
11	Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 3heures	79
12	Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 4heures	81
13	variation des teneurs en acides gras saturé de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage	84
14	variation des teneurs en acides gras mono-insaturé de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage.	84
15	variation des teneurs en acides gras polyinsaturé de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage.	85
16	variation des teneurs en acides gras trans de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage.	85

17	Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge thermooxydée sur le taux de cholestérol total chez les lapins	89
18	Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge thermooxydée sur le taux de triglycéride chez les lapins	89
19	Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge thermooxydée sur le taux de LDL-c chez les lapins	91
20	Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge oxydée sur le taux de HDL-c chez les lapins	91
21	Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge oxydée sur le taux de lipides hépatiques chez les lapins	93
22	Effet de la consommation de l'huile d'olive vierge thermo oxydée sur le taux des protéines hépatiques chez les lapins	93
23	Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur l'activité catalase (CAT) chez les lapins.	95
24	Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur le taux de GSH chez les lapins	95
25	Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur le taux de GST chez les lapins.	97
26	Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur le taux de MDA chez lapins.	97

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
01	Paramètres analytiques Standards de qualité de l'huile d'olive	10
02	Revue de la littérature sur l'huile d'olive dans le cadre d'études de friture dans graisse profonde	27
03	Revue de la littérature sur l'huile d'olive dans le cadre d'études de friture dans poêle	28
04	Revue de la littérature sur l'huile d'olive dans le cadre d'études des grillades, cuisson en microonde et ébullition	29
05	Les variations de critères de qualité de l'huile d'olive chauffée et non chauffée	71
06	Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV non chauffée	73
07	Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée pendant 1 heure	75
08	Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée 2 heures	77
09	Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée pendant 3heures	79
10	Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée pendant 4 heures	81
11	gain de poids corporel, quantité d'aliment consommée, poids du foie des lapins traités avec l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée.	87

Liste des abréviations

AAL : acide alpha linoléique
AND: acide desoxyribonucleique
AG: acides gras
AGI: acide gras insaturé
AGL: acide gras libre
AGP: acides gras polyinsaturés
AGS: acide gras saturé
AGT : acide gras trans
BBC : bleu brillant de coomasie
CAT : catalase
CD : diène conjugué
CE : cholestérol esterase
CG : corps gras
CG-MS: chromatographie en masse solide
CO: cholestérol oxydase
CT: cholestérol total
DO: densité optique
ECN: espèce chimique nouvelle
ER: Espèce réactive
ERN: espèce réactive de l'azote
ERO: espèce réactive de l'oxygène
GPx: glutathion peroxydase
GSH: glutathion réduit
GST: glutathion-s-transférase
HDL: high density lipoprotein (lipoprotéine de haute densité)
HOEV: huile d'olive extra vierge
HOR: huile d'olive raffinée
HOV: huile d'olive vierge
IDL: intermediary density lipoprotein (lipoprotéine de densité intermédiaire)
I₂: indice d'iode
IP: indice de peroxyde
LDL: low density lipoprotein (lipoprotéine de faible densité)
MCAG: monomères cycliques d'acides gras
MCV: maladie cardiovasculaire
MDA: malondialdéhyde
NIST: national institute of standards and technology
NOS : mono-oxyde d'azote synthase
Nox : NADPH oxydases
PNDA : plan national de développement agricole
SOD : superoxyde dismutase
TAG: triacylglycérols
TBAS: thiobarbituric acide reacting substance
TG: Triglycéride
UV: ultra violet
VLDL: very low density lipoprotein. (lipoprotéines de très faible densité).
4-HNE : 4-hydroxy nonenal

Introduction

Introduction

Aujourd'hui les aliments doivent être surs, sains et bons ils doivent être perçus comme naturels et frais, avec une durée de vie la plus longue possible, tout en conservant leurs qualités sensorielles et nutritionnelles. Dans ce contexte, de nombreux industriels du secteur agroalimentaire souhaitent développer des produits aux propriétés maîtrisées pour répondre à la demande sociale et aux préconisations en matière de santé publique.

A partir du milieu des années 1970, les huiles végétales ont commencé à substituer aux graisses animales en tant que source principale de lipides et leur consommation a progressé depuis au même rythme que l'augmentation de la population.

Les nutritionnistes recommandent donc d'augmenter la part relative des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans la ration alimentaire. Or, la présence dans les aliments de ces AGPI pose problème car ils sont particulièrement sensibles à l'oxydation, que ce soit pendant des traitements thermiques en conditions industrielles ou domestiques ou au cours de la conservation. (Olesea, 2013)

Les huiles végétales de cuisson sont une partie essentielle de l'alimentation humaine étant la principale source de lipides, qui servent de source d'énergie et d'entier de la biomembrane (Vaskova, 2015) et de construction hormonal.

Les huiles végétales brutes sont, certes, riches en tocophérols, mais une grande partie de ces molécules lipophiles est perdue durant le raffinage industriel, d'où la nécessité de restaurer ces huiles de tables avant leur conditionnement et commercialisation et par voie de conséquence les protéger contre le rancissement. (Sadoudi, 2014)

Au cours de la cuisson ces huiles végétales sont principalement utilisées pour améliorer la palatabilité des aliments (Warner et Frankel., 1989), tandis que les produits de cuisson et l'huile sont exposés à une chaleur élevée, entraînant son oxydation (Oboh et *al.*, 2014). Il s'agit d'une pratique courante dans les foyers de nombreux pays (Falade, 2015). Plusieurs études ont découvert et signalé l'effet toxique de l'oxydation thermique sur les huiles végétales utilisées en cuisson et les aliments transformés (Oboh et *al.*, 2014), mais malgré tout, cette pratique semble se poursuivre. Pour ces raisons, les consommateurs essaient d'inclure une alimentation plus saine dans leurs habitudes de vie. (Vanessa, 2015).

Les AGPI *n*-3 présent dans les huiles tendent à se dégrader lorsqu'ils sont en présence de certains facteurs, dont l'oxygène et les hautes températures. Les insaturations vont alors former des peroxydes et des radicaux libres (Frankel, 1984), néfastes pour la santé. De plus, lorsqu'on effectue un traitement thermique prolongé, les AGPI présents dans les huiles peuvent subir des réactions de polymérisation, d'isomérisation en acides gras *trans*, et peuvent également former des monomères cycliques d'acides gras (MCAG). Inévitablement, toutes ces dégradations se produisent aux températures utilisées dans l'industrie pour la désodorisation des huiles au cours du raffinage (environ 180°C) et pour la friture (Aladedunye et Przybylski, 2009 ; Sébédio et Grandgirard, 1989). À titre d'exemple, les MCAG peuvent être retrouvés à des teneur de 0,01 à 0,7% dans les huiles (Frankel, 1984 ; Sébédio et Grandgirard, 1989). Plus le degré d'insaturation est élevé, plus l'AG aura tendance à se cycliser. Ainsi, l'acide α -linoléique (AAL) sera l'acide qui formera le plus de MCAG dans les huiles végétales. Les monomères de cet acide sont bien connus et leurs structures ont déjà été caractérisées (Christie, 2000 ; Dobson et *al.*, 1996a ; Mossoba et *al.*, 1995). Toutefois, leurs mécanismes de formation ne restent qu'hypothétique à ce jour.

L'oxydation des huiles est un phénomène chimique qui provoque la dégradation des qualités nutritionnelles des aliments. En effet, d'un point de vue sensoriel, l'oxydation conduit à l'apparition de composés volatiles aux saveurs indésirables. D'un point de vue nutritionnel, l'oxydation des lipides peut conduire à une diminution de la teneur en AGPI. De plus, elle implique la production de molécules nocives pour la santé (Halliwell et Gutteridge, 1990 ; Kubow, 1993 ; Ichinose et *al.*, 2004). De manière générale, l'oxydation des lipides se produit en présence d'oxygène et peut être catalysée par plusieurs facteurs tels que la température, la lumière, les enzymes et les métaux de transition, facteurs qui peuvent intervenir au cours du procédé de fabrication du produit alimentaire ou de son stockage.

Le chauffage de l'huile végétale en présence de l'air produit des dégradations thermo-oxydatives ; ces réactions d'altération concernent les groupes acyles insaturés des triacylglycérols (TAG) et autres composés insaturés présents dans ces CG. Ces changements génèrent beaucoup de composés oxydés et polymérisés de polarité plus élevée que celle des TAG originaux (Sanchez-Muniz, 2004).

Une consommation de l'huile végétale thermooxydée peut induire une accumulation excessive des produits d'oxydation et par voie de conséquence une augmentation de leur toxicité (Frankel, 1980 ; Halliwell et Gutteridge, 1984 ; Addis, 1986 ; Kubow, 1992). Ces

produits sont, en effet, absorbés (Staprans et *al.*, 1999) et incorporés dans les phospholipides membranaires induisant ainsi une modification de la fluidité des membranes (Hayam et *al.*, 1993). Cette dernière est influencée par la composition en AG de cette bicouche lipidique. Ainsi, en contradiction aux effets bénéfiques des AGPI, il a été démontré qu'un régime alimentaire hautement insaturé augmente le rapport AGPI / AGS dans toutes les membranes biologiques et par conséquent leur sensibilité à l'oxydation.

L'ingestion d'une huile thermo-oxydée induit une accumulation excessive de peroxydes lipidiques dans le foie (Nwanguma et *al.*, 1999) ; Par ailleurs, la réduction de l'activité de plusieurs enzymes est considérée comme l'une des conséquences de l'ingestion de l'huile oxydée (Odutuga et *al.*, 1997 ; Odutuga et Ologan, 1999).

Le traitement thermique des huiles végétales a également été considéré comme une source de production d'acides gras trans qui est étroitement liée à la température et au temps de traitement. Une association a été démontrée entre l'apport d'acides gras trans et le risque de maladie coronarienne. Il est prouvé qu'ils produisent des effets indésirables sur les lipides sanguins. (Khor et Mohd, 2008).

Pour mettre en évidence les effets nutritionnels des huiles végétales thermooxydées nous avons entrepris cette étude dont l'objectif général était de montrer les effets d'une huile végétale thermooxydée sur le statut antioxydant, et le métabolisme cellulaire chez les lapins. Cette thèse vise à étudier l'oxydation des huiles végétales, à travers la mesure des composés d'oxydation et leurs effets toxiques sur les consommateurs.

Les objectifs spécifiques visent à :

- ✓ Evaluer les effets du traitement thermique sur la qualité de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette.
- ✓ Déterminer l'effet de l'ingestion de cette huile thermo-oxydée sur les lapins.
- ✓ Etudier l'effet de l'ingestion de cette huile thermo-oxydée sur les lapins en effectuant des mesures pondérale (poids, gain de poids, quantité d'aliment ingéré).
- ✓ Evaluer le niveau de défense antioxydante par la détermination dans le foie du taux de glutathion réduit (GSH), l'activité de la glutathion S-transférase (GST), et de l'activité catalase.
- ✓ Déterminer l'intensité du stress oxydant par le dosage dans le foie des lipides et des protéines totales.

- ✓ Estimer la peroxydation lipidique par le dosage du taux de malonedialdéhyde (MDA) au niveau du foie.
- ✓ Déterminer le profil lipidique par le dosage du CT, des TG, du LDL et des HDL.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Synthèse bibliographique

I.1. Les huiles végétales

Les huiles végétales sont des corps gras extraits à partir des graines de plantes. Elles font partie de la culture humaine depuis des millénaires. Selon leur degré de saturation, elles peuvent être sous formes liquide ou solide à température ambiante. Les huiles majeures comprennent les huiles de palme, d'olive, de palmiste, de soja, de colza, de tournesol, d'arachide et de coton. Leurs structures chimiques sont sous forme de triglycérides, dans lesquels les trois groupes hydroxyle du glycérol sont estérifiés par des acides gras (Jun, 2016).

La production mondiale des huiles végétales est en croissance rapide ces dernières années, L'utilisation industrielle de ces huiles végétales augmente également rapidement, depuis les années 90. Elle représente environ 23% de la consommation totale mondiale (Figure 01).

Ces huiles sont des lipides composés d'acides gras (AG), qui jouent un rôle dans de nombreuses fonctions métaboliques de l'organisme. Or les changements dans les habitudes alimentaires des consommateurs ont entraîné avec le temps un déficit de certain de ces acides gras (de la famille des n-3) par rapport à d'autres (de la famille des n-6) (Jun, 2016)

L'oxydation des lipides est l'une des principales causes de l'altération de la qualité des aliments ; cette réaction de détérioration diminue la valeur nutritionnelle, altère le goût, modifie la texture et l'aspect de la denrée alimentaire (Warner et Frankel., 1989) ; elle peut, même, réduire sa durée de conservation et limiter les vertus des lipides dans les aliments fonctionnels (Sun et *al.*, 2011). Ceci est en contradiction avec les recommandations nutritionnelles préconisant un apport supplémentaire d'acides gras insaturés (AGI) dans la prévention de maladies dégénératives (Forsythe *et al.*, 2008 ; Persaud, 2008 ; Willemsen *et al.*, 2008).

Cette oxydation est le principal processus de détérioration se produisant pendant le traitement thermique des huiles végétales (Gertz *et al.*, 2000 ; El anany, 2007). Il est bien connu que les huiles alimentaires utilisées en cuisson à très hautes températures et en présence d'oxygène subissent la thermo-oxydation, la polymérisation et l'hydrolyse (Nzikou et *al.*, 2009 ; Rehab, 2010). Le chauffage de l'huile en présence de l'air produit des dégradations thermooxydatives qui génèrent beaucoup de composés oxydés et polymérisés (Sanchez-muniz, 2004).

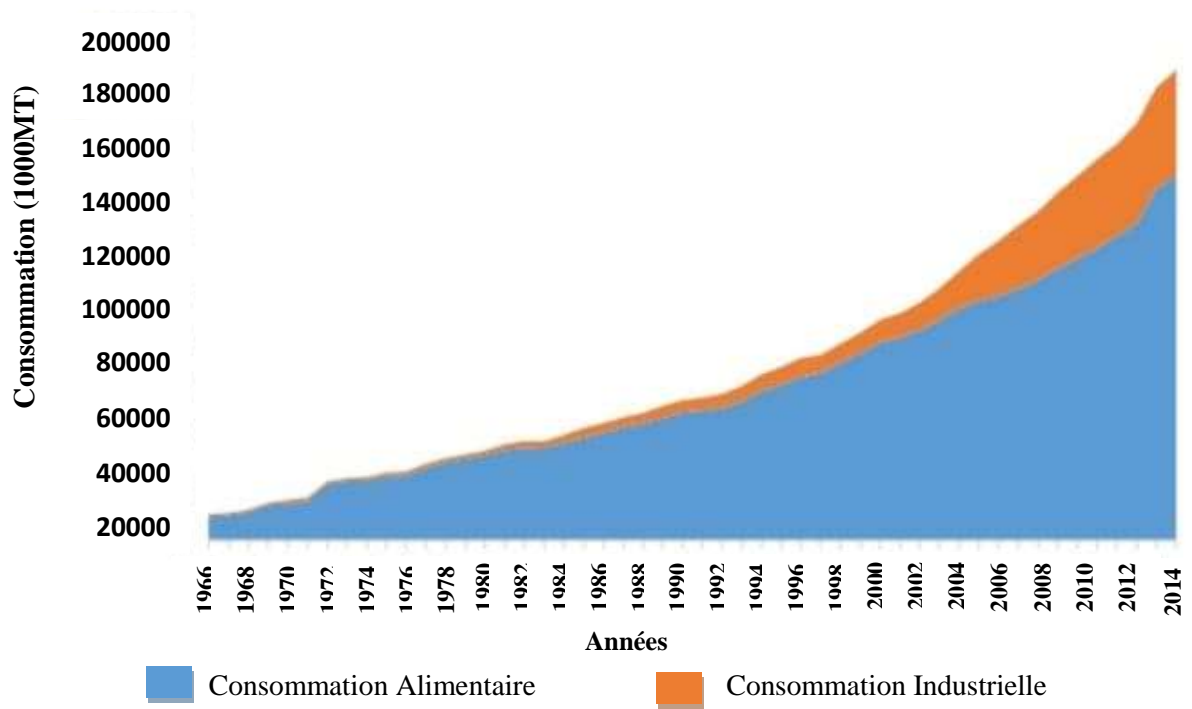


Figure 01 : consommation des huiles végétales (Jun, 2016)

Le lien entre la nutrition et la santé a fait l'objet de nombreux débats aux cours des dernières décennies. Nombre de maladies humaines peuvent être liées à la quantité et/ou la nature des lipides alimentaires (athérosclérose, obésité, cancer ...), d'où un intérêt croissant des consommateurs humains pour les qualités nutritionnelles des matières grasses (MG) qu'ils ingèrent, car elles ne sont pas toutes équivalentes sur le plan diététique. (Anses, 2011).

Il a été admis que la substitution des matières grasses (MG) saturées alimentaires par des huiles riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) diminue le risque des maladies cardiovasculaires. Par conséquent, des aliments riches en AGPI, tels que les huiles végétales, les poissons gras et les suppléments $\omega 3$ d'origine marine sont recommandés.

Compte tenu de sa carence en AGS, sa grande teneur en AGI de la série des $\omega 3$, sa saveur légère et notamment sa richesse en vitamine E, l'huile d'olive est très utilisée dans la préparation des aliments.

Cependant, ces AGI sont facilement oxydables ; une ingestion excessive de lipides oxydés induit un effet néfaste sur la santé. C'est la raison pour laquelle la recherche sur l'oxydation des lipides, en particulier sur l'oxydation des AGPI est devenue un sujet de grande importance qui a fait l'objet de nombreuses études (Binkoski *et al.*, 2005).

L'oxydation des lipides est le principal processus de détérioration se produisant pendant le traitement thermique des huiles végétales contenant des AGPI (Gertz *et al.*, 2001 ; El Anany, 2007). Il est bien connu que les huiles alimentaires utilisées en cuisson à très hautes températures et en présence d'oxygène subissent la thermo-oxydation, la polymérisation et l'hydrolyse (Nzikou *et al.*, 2009 ; Rehab, 2010).

I.1.1. structure des huiles végétales

Les huiles végétales sont des lipides constitués principalement de triacylglycérides (TAG), de cholestérol, d'alcools gras libres ou estérifiés par des AG et de quelques composés mineurs. Les TAG sont des lipides neutres, c'est-à-dire de triesters du glycérol et d'AG ; ils représentent 98 à 99 % de l'huile végétale; ils résultent de l'union de trois AG au glycérol. Les composés mineurs intègrent les mono et diacylglycérols, acides gras libres (AGL), phosphatides, stérols, vitamines liposolubles et autres substances (Strayer, 2006). Ces composés sont appelés non saponifiables car ils ne produisent pas de savons lors de l'hydrolyse ; certains d'entre eux sont perdus pendant le raffinage. (Jun, 2016)

Les AG sont les constituants prédominants des TAG : 100g d'huile ou de matière grasse (MG) contiennent 95g d'AG. Ils sont peu abondants à l'état libre. Ce sont des acides carboxyliques (R-COOH) dont le radical R *alkyle* est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable donnant à la molécule son caractère hydrophobe. Le radical se termine par un groupe méthyle (CH₃). Ceci impliquera que la solubilité dans l'eau des AG diminuera avec l'augmentation du nombre de carbones : en-dessus de C₄ et C₅, les AG sont insolubles (Jun, 2016).

Les acides gras saturés ont pour formule générale brute : C_nH_{2n}O₂ et pour formule développée CH₃ – (CH₂)_{n-2} – COOH ; il s'agit, donc, d'une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue, apolaire, avec un groupement carboxylique polaire ou chargé négativement (carboxylate).

Contrairement aux AGS, la chaîne aliphatique des AGI comporte au moins une insaturation, c'est-à-dire une double liaison ; ces liaisons sont relativement instables et généralement de configuration « *cis* ». Les AGI représentent plus de la moitié des AG des plantes et des animaux. (Jun, 2016)

Ainsi, les AGI peuvent être classés dans la série des ω₃, ω₆ et ω₉ ; cette classification est basée sur la structure chimique des AG. Elle se base sur l'emplacement de la première double liaison de l'AG située respectivement à la troisième, sixième et neuvième à partir de l'extrémité méthylrique : l'atome de carbone de rang *x*, en partant du méthyle terminal, est désigné par (n-x), quelle que soit la condensation en carbone de la chaîne. (Jun, 2016)

I.1.2. L'huile d'olive

L'olivier est une plante emblématique de la Méditerranée. En effet, il n'est pas étonnant que la plupart de la superficie mondiale dédiée à cette culture se trouve, justement, dans le Bassin méditerranéen. C'est ici que se concentrent 95 % de la production et 85 % de la consommation mondiale (Mili, 2006). Les propriétés nutritionnelles, biologiques, gustatives, et physicochimiques de l'huile d'olive expliquent l'intérêt du consommateur pour cette huile qui est reconnue pour être un composant essentiel de la diète méditerranéenne (Claude, 2014). L'huile d'olive est composée d'environ 99 % de triglycérides. Sa composition en acides gras est caractérisée par une teneur importante en acides gras mono-insaturés, en particulier en acide oléique et en acides gras polyinsaturés (linoléique, et acide linoléique). Outre ce bagage intéressant, l'autre attrait de l'huile d'olive réside en sa richesse en composés minoritaires tels

que les polyphénols. L'intérêt nutritionnel de ces composés phénoliques réside dans leur forte capacité antioxydante qui pourrait prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies dégénératives ainsi que les maladies cardiovasculaires (Velleits, 2010). Les polyphénols ont une grande importance pour la stabilité de l'huile d'olive vierge comparativement à d'autres huiles raffinées où ces derniers sont éliminés durant les processus du raffinage (Joaqin et Carmen, 2002). Les composés phénoliques majoritaires dans les huiles d'olives vierges sont le tyrosol et l'hydroxytyrosol, suivis de traces d'acides cinnamiques substitués dont l'acide caféique, d'oléuropeilglycone et d'oléuropéine (Chimi *et al.* , 1988).

Parmi les huiles végétales alimentaires, l'huile d'olive occupe un rang privilégié notamment par le fait que cette huile, soit consommée surtout à l'état vierge. Le Conseil Oléicole International (COI, 1996) a classé l'huile d'olive en quatre catégories selon un ensemble de paramètres reportés dans le tableau **01**.

L'huile d'olive est le produit méditerranéen idéal. Elle est la principale source de matières grasses du régime méditerranéen qui sont bien connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. L'huile d'olive est une huile de table qui est issue d'un fruit sans passé par les étapes de raffinage. En effet, selon les normes officielles, l'huile d'olive est obtenue à partir du fruit de l'olivier et seulement par de procédés physiques. Afin de lui permettre de conserver tous ses antioxydants car ils ne vont pas être éliminés lors de ce procédé. (Selaimia, 2018).

Tableau 01 : Paramètres analytiques Standards de qualité de l'huile d'olive (COI, 1996)

Paramètres	Huile d'olive	
	Extra vierge	Vierge
Acidité libre (% d'acide oléique)	$\leq 1,0$	$\leq 2,0$
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	≤ 20	≤ 20
Absorbance K270 dans l'UV	$\leq 0,25$	$\leq 0,25$
ΔK	$\leq 0,01$	$\leq 0,01$
Evaluation Organoléptique	$\geq 6,5$	$\geq 5,5$
ΔK : Variation de l'extinction spécifique aux environs de 270nm		

I.1.2.1. Techniques de transformation de l'olive à l'huile

Le procédé de fabrication de l'huile d'olive est relativement simple mais nécessite de respecter avec soin ses différentes étapes : lavage, broyage, pressurage, décantation et stockage.

- **Le lavage, le broyage, le malaxage**

Au plus tôt après la cueillette, les olives destinées à la fabrication de l'huile sont triées pour éliminer les brindilles et les feuilles, puis lavées à l'eau froide. Ensuite, les olives sont broyées immédiatement, pour éviter toute oxydation, avec les noyaux, qui contiennent un antioxydant, comme conservateur naturel. Le broyage peut être effectué avec des meules en pierre ou avec un broyeur métallique. Le broyage ne suffit pas à briser la totalité des vacuoles contenant l'huile. Pour libérer le maximum d'huile, un malaxage est appliqué à la pâte jusqu'à l'obtention d'une pâte onctueuse pour faciliter l'extraction.

Le broyage et le malaxage permettent d'obtenir une pâte qui contient de la matière solide (débris des noyaux, d'épiderme, de parois cellulaires,...) et du fluide (huile et l'eau de végétation, c'est-à-dire l'eau contenue dans les cellules de l'olive).

- **L'extraction :**

On peut exprimer l'huile soit par décantation soit par pression. La décantation se fait dans un décanteur, cylindre métallique tournant à grande vitesse (4000 tours/minute), dans lequel les différents composants de la pâte se séparent en fonction de leur densité. L'huile, plus légère que l'eau et les matières solides, se recueille séparément des autres éléments au centre du cylindre. La pression est le procédé le plus ancien. La pâte est répartie sur des disques en fibre naturelle ou synthétique tressés appelés scourtins, qui servent à la fois d'armature et de filtre lors de la pression. Une centaine de ces disques sont empilés pour être pressés. La partie liquide, constituée d'eau de végétation (margines), et d'huile, s'écoule, alors que la partie solide (noyaux et pulpe) reste entre les scourtins : c'est ce que l'on appelle le grignon. C'est durant ce processus que l'oleuropéine au goût amer est éliminée dans les eaux de végétation.

- **La décantation ou centrifugation**

Le liquide obtenu à l'extraction est composé d'huile et d'eau. Il est entraîné dans un décanteur centrifuge qui va séparer l'huile, les déchets solides résiduels et la margine. Jadis, la décantation se faisait par un procédé naturel : l'huile, plus légère que l'eau, remontait à la surface des margines et était recueillie.

- **Le stockage**

L'huile d'olive est immédiatement stockée dans des cuves en inox afin d'éviter l'oxydation. L'huile peut alors être filtrée pour la rendre limpide et brillante ou bien être mise en bouteille en l'état. Une fois embouteillée, l'huile d'olive doit être conservée à l'abri de la chaleur et de la lumière.

Il existe deux méthodes d'extraction de l'huile d'olive: la méthode traditionnelle artisanale et la méthode moderne.

La méthode traditionnelle artisanale est la plus ancienne est la plus répandue, elle utilise la meule en pierre pour le broyage des olives, le pressoir manuel pour les moulins les plus anciens ou le pressoir hydraulique. La décantation et la séparation de l'huile s'effectuent en bassin. Le ramassage de l'huile s'effectue après filtration manuelle (Camps et Faber, 1953).

L'industrie oléicole algérienne est composée dans sa majorité d'huileries traditionnelles :

- Huileries traditionnelles : 1460
- Huileries avec presse : 85
- Huileries modernes : 198

D'après le Ministère de l'agriculture et du développement rural (2002), le plan national de développement agricole (PNDA) prévoit 272 huileries modernes en 2005.

I.1.2.2. Production de l'huile d'olive

La production d'huile d'olive représente une très faible part de la fourniture en huiles végétales dans le monde (3,3% contre 27% pour l'huile de soja) ; mais elle occupe une place

notable dans la consommation en lipides des pays méditerranéens : 54% de la consommation d'huile végétale en Grèce.

Le Conseil Oléicole International, Novembre 2005, a examiné la situation du marché international de l'huile d'olive au cours des campagnes 2004/05 (données provisoires) et 2005/06 (données prévisionnelles).

La campagne 2004/2005 a débuté avec des disponibilités de 1 015 500 tonnes, nettement supérieures aux besoins normaux et la production mondiale s'est élevée à 3 001 000 tonnes. À elle seule, la Communauté Européenne participe à plus de 78% de la production mondiale.

Les principaux pays producteurs dans la Communauté Européenne sont l'Espagne (41,7%), l'Italie (37,4%), la Grèce (18,5%) et le Portugal (2%). La Tunisie, la Turquie (pays candidat à l'adhésion), la Syrie et le Maroc jouent également un rôle important, puisque leur production pour la campagne 2000-2001 s'est établie à un total de plus de 500 000 tonnes (soit à peu près 25% de la production de l'UE et 20% de la production mondiale) (Benabid, 2009).

En Algérie, la filière oléicole est en grande partie à caractère familiale et localisée en zone de montagne (Kabylie, 55%) où l'autoconsommation est privilégiée (Nouad, 2004). En termes de production d'olives nationale, la moyenne annuelle est estimée à 200 000 tonnes (2 millions de quintaux), dont un peu plus de 68% sont réalisés par les wilayas de Béjaïa, Tizi Ouzou, Bouira, Jijel et Sétif. 88% de la production totale est destinée à l'extraction de l'huile. La production d'huile d'olive obtenue est évaluée à 265 000 hectolitres dont 82% sont réalisés par les cinq wilayas classées par ordre d'importance : Béjaïa (37,2%), Tizi ousou (17%), Jijel (11,6%), Sétif (9,7%) et Bouira (6,5%). Le reste de la production (12%) est destiné à la consommation en tant que olives de table. (MADR, 2003)

La production moyenne d'huile d'olive subit des variations annuelles importantes la campagne 1996-1997 avait atteint 50 000 tonnes.

Le rendement moyen au cours de ces dernières années a été de 170 litres d'huile d'olive/tonne d'olives (MADR, 2003). La diversité variétale ainsi que les conditions climatiques, en particulier la pluviométrie, influencent le rendement d'une zone à l'autre (170 à 240 litres/tonne).

I.1.2.3. Composition et caractéristiques de l'huile d'olive

L'huile d'olive contient un grand nombre de composés structurellement hétérogènes dont les principaux sont les triacylglycérols (>95%), une faible quantité d'acides gras libres, du glycérol, des pigments, et un grand nombre de composants dits «mineurs» présents en faibles quantités (0,5 à 15%) et qui ont des effets bénéfiques. On peut séparer ces composés en tocophérols, phénols, composés aromatiques, hydrocarbures et stérols (Kiritsakis, 1998).

Aparicio et ses collaborateurs (1999) ont estimé la contribution des composés phénoliques, acides gras, l' α -tocophérol et les pigments dans la stabilité de l'huile, à environ 30%, 27%, 11% et 6% respectivement. De nombreux facteurs affectent la caractérisation de l'huile d'olive, rassemblés dans quatre groupes principaux : environnemental (sol, climat), agronomique (irrigation, fertilisation), culture (maturité et récolte du fruit d'olive) et technologique (entreposage après la récolte, système d'extraction). (Benabid, 2009).

- **Les triglycérides**

Ce sont des triesters d'acides gras et du glycérol. Ils constituent environ 98% de l'huile d'olive et sont principalement mono insaturés.

Le principal acide gras de l'huile d'olive est l'acide oléique. La popularité croissante de l'huile d'olive a été principalement attribuée à sa teneur élevée en acide oléique, qui peut affecter les profils lipidiques de plasma (Delplanque *et al.*, 1999). L'huile d'olive est une huile naturelle mono-insaturée, constituée par l'acide oléique, mais contenant une quantité d'acides linoléique (3,5 à 21%) et linoléique (acides gras polyinsaturés essentiels). L'acide oléique représente 65 à 80 pour cent des acides gras de l'huile d'olive. Cet acide gras réduit particulièrement le taux de « mauvais cholestérol » (LDL - lipoprotéines de faible densité) responsable de la formation de l'athérosclérose (dépôts lipidiques dans les parois des artères) (Abbey *et al.*, 1993; Bonanome *et al.*, 1992; Reaven *et al.*, 1991; Reaven *et al.*, 1993) et augmente le « bon cholestérol » (HDL - lipoprotéines de haute densité).

L'huile d'olive contient de 10 à 16 % d'acides gras saturés dont les principaux sont l'acide stéarique et l'acide palmitique. (Benabid, 2009).

- **Les Tocophérols**

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, qui sont nécessaires à l'organisme et que l'homme ne peut synthétiser en quantité suffisante. Elles doivent donc être fournies par l'alimentation. Parmi elles, on distingue la vitamine E qui est une vitamine liposoluble de formule brute $C_{29}H_{50}O_2$ et de masse molaire 430. Vitamine E est le terme générique utilisé pour désigner les différents tocophérols qui se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (Le Grusse, 2003).

Cette différence structurale minime conduit à des pouvoirs antioxydants différents. Le α tocophérol est souvent considéré comme le plus efficace mais leur activité relative dépend de la température et de la nature du substrat et un ordre différent a parfois été obtenu (Jung et Min, 1990). L'huile d'olive contient des tocophérols α , β , γ , δ . Le α tocophérol est majoritaire à plus de 88% avec une teneur moyenne d'environ 12 à 25 mg/100g (Psomiadou *et al.*, 2000).

La quantité de tocophérol dans l'huile d'olive dépend non seulement de la présence de ces composés dans l'olive mais aussi d'autres facteurs impliqués dont la variété d'olive et sa maturité (Aparicio et Luna, 2002) ainsi que les conditions et la durée de la conservation (Kiritsakis et Markakis, 1987; Psomiadou *et al.*, 2000; Guillard, 2003), le transport et le procédé de traitement du fruit. Selon Viola (1997), le rapport entre la vitamine E et les acides gras poly-insaturés est meilleur dans l'huile d'olive que dans les autres huiles végétales. Les travaux de Horwitt (1960) et de Harriset (1963) suggèrent que le rapport «quantité de α -tocophérol/quantité de l'acide linoléique», correspondant à un apport en vitamine E suffisant pour protéger de la peroxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI), est compris entre 0,6 et 0,8mg/g.

Les tocophérols sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques. Ils sont peu sensibles à la chaleur, la lumière et les acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases.

Selon Schuler (1990) et Kochhar (1993), leur activité anti-oxydante repose principalement sur l'existence du système de réduction tocophérol – tocophérylquinone. En effet, une molécule de tocophérol peut réduire deux radicaux lipidiques en formant une

molécule de l'atocophérylquinone; en revanche, deux radicaux tocophéryls peuvent s'associer entre eux pour former des dimères qui peuvent avoir des propriétés anti-oxydantes.

Par ailleurs, il a été suggéré que la vitamine E pourrait exercer des effets bénéfiques à l'égard des maladies cardiovasculaires et contre le cancer par divers mécanismes (Freedman *et al.*, 1996; Heinonen *et al.*, 1998; Devaraj et Jialal, 1999; Shklaret, 2000).

- **Les Pigments**

La couleur de l'huile d'olive est essentiellement liée à la présence des chlorophylles, de la phéophytine ainsi qu'aux caroténoïdes (Gandul-Rojas, 1996; Mínguez-Mosquera *et al.*, 1991).

La chlorophylle est un chlorine (quatre noyaux pyrroles en cercle), chélatant un atome de magnésium au centre, ainsi qu'un alcool à longue chaîne, le phytol. Elle présente une structure comparable à celle de l'hème (présente dans les globules rouges sanguins). C'est la présence, dans sa structure, de nombreuses doubles liaisons conjuguées qui permet une absorption du rayonnement lumineux. Les chaînes latérales de chlorine sont variables et ceci entraîne une modification du spectre d'absorption entre les différentes familles de chlorophylles (Rowan, 1989 ; Hartmut et Lichtnetharler, 1987).

La composition et la teneur totale des pigments naturellement présents dans l'huile, sont des paramètres importants parce qu'elles sont corrélées à la couleur, qui est un attribut de base pour évaluer la qualité d'huile d'olive. Les pigments sont également impliqués dans les mécanismes de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation. Leur contenu dans l'huile d'olive s'étend entre 1 et 20 ppm (Boskou, 1996), mais change selon la variété, la température et la durée du traitement thermique de l'olive (Paull et Chen, 2000; Garcia *et al.*, 2001), ainsi que la culture, le sol, le climat, et le degré de maturation du fruit (Boskou, 1996 ; Criado *et al.*, 2007).

Par ailleurs, Mínguez-Mosquer et ses collaborateurs (1990) ont constaté qu'environ 80% et 40% de chlorophylle et de caroténoïde respectivement, sont perdus pendant l'extraction de l'huile olive. Cependant, la teneur des pigments chlorophylliens est plus élevée dans l'huile d'olive extraite par centrifugation et percolation, en raison de l'utilisation des broyeurs métalliques dans le meulage d'olive. Les broyeurs brisent les cellules de la pulpe d'olive, ainsi, les pigments sont libérés et les huiles obtenues sont plus vertes (Di

Giovacchino, 2000). De plus, l'huile d'olive particulièrement riche en chlorophylles, est plus sensible à l'oxydation (Sanelli, 1981). A la lumière, la chlorophylle favorise la formation des radicaux de l'oxygène et accélère l'oxydation mais dans l'obscurité, la chlorophylle agit en tant qu'antioxydant.

- **Les composés phénoliques**

La pulpe de l'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui passent dans l'huile en augmentant ainsi sa stabilité oxydative et en améliorant le goût. Owen et ses collaborateurs (2000a) ont évalué le potentiel antioxydant de différents composés phénoliques de l'huile d'olive et observé qu'un grand nombre d'entre eux, ont des propriétés antioxydantes ; c'est le cas notamment de l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide caféique, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, du 1-acétoxy-pinorésinol et de l'oleuropéine (Galli et Visioli, 1999). Par ailleurs, des études ont montré que les phénols simples et les acides phénoliques comme les flavonoïdes jouent un rôle capital dans l'élimination et la détoxification des radicaux libres, et permettent d'augmenter la résistance des LDL à l'oxydation et d'inhiber la peroxydation des lipides (Decker, 1995; Visioli *et al.*, 1995). La teneur en composés phénoliques de l'huile d'olive est fonction de la variété des olives, de leur maturité au moment de la récolte, de l'environnement et des conditions de traitement (Botía *et al.*, 2001; Brenes *et al.*, 1999 ; Bruni *et al.*, 1994; Cinquanta *et al.*, 1997; Esti *et al.*, 1998; Kiritsakis, 1998; Romani *et al.*, 1999; Salas *et al.*, 1997; Vinha *et al.*, 2005).

Le système d'extraction utilisé (classique, centrifuge, percloration) est critique pour le contenu total des poly-phénols. Les huiles produites par le système de centrifugation continu ont généralement un contenu de polyphénol inférieur à celui des huiles extraites au moyen d'autres systèmes, car l'eau tiède utilisée dilue la pâte d'olive et par conséquent dissout partiellement les polyphénols. En revanche, le système de presse qui ne nécessite pas d'eau supplémentaire n'affecte pas le taux de ces poly-phénols. Di Giovacchino *et al.*, (1980) évaluent la différence à environ 50%, tandis que De Felice *et al.*, (1979) trouvent une différence de 5 à 40% quand les mêmes olives sont transformées dans les systèmes classiques et continus. Les valeurs des phénols totaux trouvées varient entre 50-200ppm alors que dans les huiles extraites par les presses classiques, elles étaient légèrement inférieures (Istituto Federale Di Credito Agrario per la Toscana, 1991).

- **Les composés aromatiques**

On estime que plus de 70 composés contribuent au parfum et au goût particulier de l'huile d'olive. Parmi ceux-ci figurent des produits de dégradation d'acides gras insaturés tels que les aldéhydes dont le prédominant est l'hexanal (Tateo *et al.*, 1993). De plus, Kubo et son équipe, (1995), ont observé l'activité antimicrobienne de molécules appartenant au vaste groupe des composés aromatiques.

- **Les hydrocarbures**

Le squalène est le principal hydrocarbure de l'huile d'olive, c'est un triterpène qui apparaît dans la voie de la biosynthèse du cholestérol. Sa présence dans l'huile d'olive est d'environ 400-450mg/100g (Owen *et al.*, 2000b). Outre le squalène, l'huile d'olive contient aussi d'autres hydrocarbures, mais en très faibles quantités tels que le α -carotène (provitamine A): 0,03-0,36mg/100g (Kiritsakis et Markakis, 1987).

- **Les stérols**

C'est une famille de constituants essentiels des membranes cellulaires, d'origine animale et végétale. Ils ont le même noyau et diffèrent par leur chaîne latérale. La quantité totale de stérols dans l'huile d'olive extra vierge varie de 113 à 265mg/100g (Gutierrez *et al.*, 1999; Kiritsakis et Markakis, 1987). Dans l'huile d'olive, le principal stérol est le β -sitostérol, représentant jusqu'à 90-95% du total, et qui a une action anticarcinogène (Awad *et al.*, 1998; Awad *et al.*, 2000; Raicht *et al.*, 1980). Le campésterol et le stigmastérol comptent respectivement pour 3% et 1% du total. Il a été montré que les quantités de phytostérols apportées par un régime riche en huile d'olive extra vierge aient un effet bénéfique sur les concentrations sériques de cholestérol (Pelletier *et al.*, 1995).

I.1.2.4. Définition et critères de qualité de l'huile d'olive

Il y a plusieurs manières de définir la qualité et peut-être il n'y a aucune définition universelle applicable à toutes les situations. D'une façon générale, la qualité est définie comme étant « la combinaison des attributs ou des caractéristiques d'un produit qui ont une signification en déterminant le degré d'acceptabilité de ce produit par l'utilisateur » (Gould, 1992).

Le Conseil Oleicol International (COI, 1990) et le règlement de la Commission Européenne (CE, 2002) ont défini la qualité d'huile d'olive, basée sur les paramètres qui incluent le pourcentage d'acide gras libre, la teneur en indice de peroxyde, le coefficient de l'extinction spécifique K232 et K270, ainsi que les caractéristiques sensoriels.

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont proposé d'inclure les phénols comme un bon indicateur de qualité d'huile d'olive (Blekas *et al.*, 2002 ; Psomiadou *et al.*, 2003 ; Ranalli *et al.*, 1999).

Les normes du Codex Alimentarius (1993) ont établi des critères complémentaires de qualité des différentes catégories d'huile d'olive. Elles incluent des limites suggérées pour les substances volatiles, les impuretés insolubles, les insaponifiables, les oligo-métaux, la densité et l'indice de réfraction. Quant au règlement de la CE, il est plus spécifique au sujet de l'évaluation sensorielle.

I.1.2.5. Consommation de l'huile d'olive

La confirmation au niveau mondial des propriétés biologiques et nutritionnelles de l'huile d'olive a mis en évidence le caractère cardioprotecteur de ce produit. Le régime alimentaire de type méditerranéen est associé à un modèle sain d'alimentation et avec lui, un de ses ingrédients les plus caractéristiques – l'huile d'olive. Ces éléments ont contribué à l'augmentation de la consommation d'huile d'olive dans le monde.

Actuellement, l'huile est consommée pratiquement dans sa totalité dans les zones de production.

La consommation par habitant est passée d'une moyenne de 0,85kg au cours des années 1980 et 1990 à 1,43kg en 2000 et 1,53kg en 2004, soit une augmentation de 80%. (Benabid, 2009)

Depuis les années 90, la consommation mondiale de l'huile d'olive progresse de 4% environ par an. Pour la campagne 2004/2005, elle atteint 2 885 500 tonnes, dont près de 72% correspondent à la communauté européenne. Elle dépasse de quelque 3000 tonnes la campagne antérieure (2 882 500 tonnes). Ceci est dû surtout aux recherches récentes qui confirment les bienfaits de cette huile pour la santé. La consommation estimée à 2769000 tonnes pour la campagne 2005/2006 serait inférieure de 116 500 tonnes à celle de la

campagne précédente. La différence entre la production et la consommation est de plus de 184500 tonnes.

Au niveau national, les chiffres présentés ci-dessous montrent que l'Algérie est un pays où la consommation pourrait être très significative à l'avenir. La consommation algérienne d'huile d'olive par habitant est passée de 0,80 kg en moyenne dans les années 80 à 0,90 kg au début des années 90 et à 1kg à la fin des années 90 (Kerboua, 2003). Cependant, l'Algérie joue actuellement un rôle insignifiant en tant qu'exportateur. (Benabid, 2009).

I.1.2.6. L'utilisation de l'huile d'olive en cuisson

L'huile d'olive, semblable à d'autres huiles végétales, est utilisée dans la friture profonde et plate, la torréfaction, la cuisson au micro-onde, etc. (Boskou, 2009; Waterman, 2007). Chaque type de traitement thermique a des caractéristiques particulières, notamment en ce qui concerne la température et le temps de confection. Les tableaux 2,3 et 4 regroupent plusieurs études sur la cuisson à l'huile d'olive, regroupées par méthode de traitement. Dans chaque groupe, la cuisson réelle et simulée est incluse et comparée, en s'appuyant sur les paramètres analytiques choisis par les auteurs pour évaluer les performances de l'huile d'olive. (Santos *et al.*, 2013).

- La friture

La friture est l'une des plus anciennes méthodes de préparation des aliments. Il améliore la qualité sensorielle des aliments par la formation de composés aromatiques, une couleur, une croûte et une texture attrayantes, toutes très appréciées des consommateurs. Cependant, le niveau élevé de graisses incorporées est un résultat indésirable, augmentant l'apport calorique (Echarte, 2003; Pedreschi, 2012). En raison de la température élevée et de la durée prolongée utilisée pour les fritures répétées, les huiles sont progressivement dégradées par une série complexe de réactions chimiques, notamment l'oxydation, l'hydrolyse et la polymérisation.

Ces réactions, cependant, ne sont pas équivalentes pour toutes les huiles végétales, et il y a une préoccupation particulière concernant l'huile d'olive car ses attributs bioactifs pourraient être perdus au cours de ce processus, malgré leur haute résistance à l'oxydation thermique.

Les deux méthodes de friture ont été testées avec plusieurs qualités commerciales d'huile d'olive, à des températures allant de 170 ° C à 180 ° C en vraie friture, et de 160 ° C à

190 ° C en friture simulée, c'est-à-dire l'huile d'olive chauffée sans aucun aliment (Tableau 2). Certains auteurs ont également comparé les effets de l'ajout d'huile fraîche entre les séances de friture dans les performances de l'huile, comme cela sera discuté. (Santos *et al.*, 2013).

- **La friture dans des huiles profondes**

La friture de graisse profonde est la méthode de friture la plus courante, en particulier dans les restaurants et dans l'industrie alimentaire. Bien que dans d'autres processus de cuisson, une utilisation prolongée est généralement requise. Les lignes directrices générales incluent des références à la température, généralement jusqu'à 180 ° C, (Bastidaet Sánchez-Muniz, 2002).

Les acides gras libres, exprimé en acide oléique, est une mesure importante pour évaluer l'adéquation des huiles végétales à la consommation humaine, en corrélation avec la perception globale de l'acidité. Les quantités des acides gras libres sont également directement corrélées avec les limites de température supérieures en raison de leurs points d'ébullition inférieurs. Ce paramètre est généralement faible dans les huiles raffinées mais, en raison de l'absence de raffinage, il peut être plus élevé dans les huiles d'olive vierges. (Daskalaki, 2009).

Le degré d'oxydation des acides gras peut être évalué par les produits d'oxydation primaires, les hydroperoxydes, ou par des produits secondaires, généralement des aldéhydes insaturés. Les valeurs de peroxyde constituent une détermination standard pour l'oxydation primaire dans les huiles d'olive, avec des quantités maximales de 20 meq / kg pour l'huile d'olive vierge, et inférieures pour les huiles d'olive raffinées (règlement (UE) n ° 2568/91 de la Commission, 2568 / 91), car ces peroxydes sont réduits lors du raffinage. Daskalaki et al. (2009) ont signalé une augmentation de la valeur peroxyde de l'huile d'olive vierge pour un chauffage jusqu'à 60 min à 180 ° C. Cheikhousman *et al.*, (2005) ont chauffé l'huile d'olive extra vierge pendant une période prolongée (3 h; 170 ° C) et ont signalé une réduction globale de la valeur de peroxyde.

En présence de nourriture, une augmentation de la valeur peroxyde a été vérifiée pour l'huile d'olive vierge (Andrikopoulos *et al.*, 2002),

En ce qui concerne la composition en acides gras de l'huile d'olive, il est connu que celle-ci n'est que légèrement modifiée lors de la friture de pommes de terre fraîches à 180 ° C, avec une légère réduction des quantités de acides gras insaturés (Andrikopoulos *et al.*, 2002;

Casal *et al.*, 2010 ; Gortzi, 2006). Une augmentation linéaire des acides gras trans avec le temps de friture a également été observée, même après 27 h de friture, et avec des quantités similaires pour toutes les qualités d'huile d'olive (Casal *et al.*, 2010). Même pour une utilisation prolongée, comme a fait Romero *et al.*, (2003), avec 75 séances de friture utilisant l'huile d'olive extra vierge pour la cuisson des pommes de terre fraîches, les modifications ont été réduites. Cependant, ces auteurs ont utilisé une reconstitution avec de l'huile d'olive fraîche sur chaque lot de friture, contribuant aux résultats obtenus, car chaque session est remplie avec un nouveau composés protecteurs d'huile d'olive. Le principal facteur contribuant à une éventuelle altération de la composition en acides gras est l'aliment lui-même.

On ne peut pas oublier que le consommateur peut utiliser des pommes de terre pré-frites et que ses lipides seront mélangés à l'huile d'olive, modifiant son comportement thermique. Le même principe s'applique aux aliments riches en lipides, y compris le poisson, dont les quantités élevées des acides gras insaturés peuvent modifier les performances de friture de l'huile d'olive.

La vitamine E est également un antioxydant important dans toutes les huiles végétales. Bien qu'elle soit un composé mineur dans l'huile d'olive (Brenes *et al.*, 2002; Procida *et al.*, 2009), Certains auteurs confirment en outre que les polyphénols agissent comme stabilisateurs de la vitamine E pendant le chauffage de l'huile d'olive, créant un équilibre efficace de protection oxydante entre ces deux familles antioxydantes (Pellegrini, 2001; Valavanidis *et al.*, 2004). Le taux de dégradation de la vitamine E pendant le chauffage à 170 ° C (friture simulée) était inférieure à l'hydroxytyrosol, mais plus élevée que le tyrosol (Cheikhousman *et al.*, 2005) en comptant jusqu'à 70% de pertes après 3 h de chauffage. Brenes *et al.* (2002) ont également signalé des pertes élevées de vitamine E, après 5 h à 180 ° C, mais une nette dépendance vis-à-vis du cultivar a été notée, le cultivar d'olive «Arbequina», plus riche en AGPI, présentant un taux de dégradation plus rapide. En effet, après 10 h de chauffage, seules des quantités résiduelles de vitamine E ont été détectées dans cette huile d'olive, tandis que pour la variété «Picual», des niveaux équivalents ont été trouvés après plus de 20 h de chauffage. Sous friture de pommes de terre fraîches (170 ° C), la perte de vitamine E est également rapide, s'épuisant au bout de 3 à 6 h, selon la variété d'olive. Pourtant, pour d'autres huiles végétales avec des quantités accrues de tocophérol, comme l'huile de tournesol, l'épuisement total de la vitamine E a été perçu plus tôt, après seulement 3 h de friture (Casal *et*

al., 2010). Andrikopoulos *et al.* (2002) ont également testé la friture de pommes de terre fraîches à 170 ° C et après 10 séances de friture, il ne restait que 15% de vitamine E.

- **La friture plate**

La poêle est fréquemment utilisée dans la cuisine domestique, caractérisée par un rapport nourriture / huile plus élevé. En comparaison avec la friture, la friture de pommes de terre a induit une dégradation de HOV plus élevée. Pourtant, en comparaison avec d'autres huiles végétales, les tendances discutées pour la friture restent similaires, c'est-à-dire les huiles végétales raffinées présentent des taux de dégradation thermoxydative plus élevés que l'huile d'olive vierge en raison de la teneur accrue en AGPI (Andrikopoulos *et al.* , 2002). En fait, une perte de AGPI a été observée dans toutes les huiles testées (Andrikopoulos *et al.*, 2002). Une augmentation du phytostérol dans l'huile d'olive, des composés phénoliques et une perte de vitamine E ont été observée dans la poêle (Andrikopoulos *et al.*, 2002; Kalogeropoulos, 2007a, 2007b; Messina *et al.*, 2009; Salta *et al.*, 2008), avec et sans la présence de aliments.

La dégradation est plus élevée dans des conditions de friture plate, observée pour l'huile d'olive et d'autres huiles végétales, peut s'expliquer par: la surface de contact avec l'huile, une exposition plus élevée à l'oxygène atmosphérique et contrôle de température plus faible au cours du traitement (Andrikopoulos *et al.*, 2002) . Pourtant, en comparaison avec d'autres huiles végétales, les aliments frits à l'huile d'olive sont enrichis en antioxydants, tant que l'huile d'olive n'est pas chauffée de manière intensive (Kalogeropoulos *et al.*, 2007a, 2007b).

- **Grillade**

L'utilisation de l'huile d'olive pour préparer des grillades est courante dans la préparation des aliments domestiques et industriels dans les pays méditerranéens (Silva, 2010a). Cette procédure nécessite des quantités de graisse équivalentes à la friture dans la poêle, mais le processus est face à l'oxydation en raison de la plus grande surface exposée à l'air chaud conventionnel et des temps de traitement.

Le grillage a été testé avec l'huile d'olive extra vierge, l'huile d'olive vierge et l'huile d'olive raffinée à des températures allant de 180 ° C à 230 ° C, (tableau 4) .Lorsque le degré d'oxydation primaire a été évalué par la valeur de peroxyde, des résultats variables ont été

obtenus, soit en augmentant avec le temps d'exposition (Caponio, 2003; Mahmoud *et al.*, 2009) ou en diminuant (Albi *et al.*, 1997a).

La composition en acides gras a également été affectée par le grillage avec une augmentation du rapport acides gras saturés / polyinsaturés (Albi *et al.*, 1997a; Allouche *et al.*, 2007; Caponio *et al.*, 2003; Mahmoud *et al.*, 2009) . La formation de petites quantités d'acide trans-oléique, inférieures à 0,2 g / 100 g d'acides gras a été observée pour toutes les qualités d'huile d'olive, mais inférieure à la quantité trans dans d'autres huiles végétales raffinées (Albi *et al.*, 1997a; Caponio *et al.* , 2003; Mahmoud *et al.*, 2009).

- **Cuisson au four micro onde**

Seules des études de simulation ont été trouvées dans la littérature, mais couvrant plusieurs classes d'huile d'olive. Toutes les études ont chauffé l'huile d'olive telle quelle, généralement jusqu'à 15 minutes, et en utilisant des appareils domestiques (tableau 4). De telles fréquences employaient 2450 MHz mais, selon l'équipement, des puissances distinctes ont été testées, de 500 W (Brenes *et al.*, 2002; Mahmoud *et al.*, 2009) à 1100 W (Caponio *et al.*, 2002, 2003). La plupart des auteurs n'ont pas été en mesure de fournir des données précises sur les températures atteintes, car cela est difficile à mesurer dans ces appareils, nécessitant une adaptation instrumentale. Mahmoud *et al.* (2009) ont mesuré la température immédiatement après le traitement et comparé au chauffage dans la poêle, rapportant un cours de température plus faible pour les échantillons micro-ondes et des températures finales autour de 200 ° C (500 W, 15 min). Albi *et al.* (1997a, 1997b) ont utilisé une puissance équivalente (120 min) et ont signalé des températures de 170 ± 10 ° C. Pour 1100 W pendant 15 min, Caponio *et al.*, (2003) ont signalé des températures de 206 ± 8 ° C. Cependant, Cerretani *et al.*, (2009) ont présenté des températures significativement plus élevées et alarmantes (720 W; 15 min; 313 ° C).

Concernant la composition en acides gras, celle-ci n'a été évaluée que par certains auteurs. Tous ont vérifié une réduction des fractions insaturées (AGMI et AGPI) (Caponio *et al.*, 2003; Cossignani *et al.*, 1998; Mahmoud *et al.*, 2009) et une augmentation apparente de la teneur en acides gras trans. Ces valeurs étaient cependant similaires à celles observées pour le chauffage avec la poêle (Albi *et al.*, 1997a; Caponio *et al.*, 2003; Mahmoud *et al.*, 2009), et inférieures à celles rapportées pour l'huile de tournesol, le tournesol à haute teneur en acide oléique , huile d'arachide

Certains composés phénoliques de l'huile d'olive ont également été évalués par certains auteurs. Généralement, des pertes mineures ont été signalées après chauffage par micro-ondes pendant une courte période de traitement. Brenes *et al.* (2002), utilisant l'huile d'olive extra vierge et des conditions de traitement douces (10 min, 500 W), ont rapporté des pertes inférieures à celles obtenues pendant la friture. En opposition, une forte diminution du total des polyphénols en l'huile d'olive vierge (> 85%) a été rapportée par Albi *et al.* (1997b), pour un chauffage prolongé (120 min, 500 W). Cerretani *et al.* (2009), en utilisant des températures élevées, ont rapporté des diminutions similaires pour l'huile d'olive vierge et extra vierge, en particulier pour plus de 6 minutes de chauffage (> 255 ° C).

Le chauffage par micro-ondes provoque également une diminution de l' α -tocophérol de l'huile d'olive (Brenes *et al.*, 2002), ou sa disparition complète (Albi *et al.*, 1997b; Malheiro *et al.*, 2009). Le même résultat est observé pour les chlorophylles et les caroténoïdes, en particulier pour plus de 10 minutes de chauffage (1000 W) (Malheiro *et al.*, 2009). La fraction stérolique n'a pas été modifiée mais une légère réduction du squalène (b27%) a été observée par Albi *et al.*, (1997a).

En général, les résultats ont démontré une oxydation apparemment plus élevée par rapport au chauffage conventionnel, bien qu'ils soient probablement inférieurs à ceux obtenus avec d'autres huiles végétales (Malheiro *et al.*, 2011). Pourtant, comme mentionné précédemment, toutes les études ont été réalisées sans la présence d'aliments, nécessitant de réelles conditions de traitement pour des déductions correctes.

- **Ébullition**

Les études portant sur le comportement de l'huile d'olive dans des conditions d'ébullition de l'eau sont également rares. Dans certains pays, il existe une pratique courante de cuisson des légumes dans l'eau en présence de petites quantités d'huile d'olive. Il s'agit notamment de la préparation de la soupe et du ragoût, en utilisant des températures d'environ 100 ° C ou un peu plus élevées tout en utilisant des autocuiseurs, mais inférieures à toutes les méthodes susmentionnées. Par conséquent, plutôt que le stress oxydatif imposé par la température, les réactions hydrolytiques devraient être attendues par la présence d'eau. Brenes *et al.*, (2002) ont utilisé l'huile d'olive vierge pour simuler plusieurs conditions de cuisson, y compris l'ébullition. Trois pH différents ont été testés (4, 5 et 6) afin de simuler le pH habituel des légumes, et de l'huile d'olive a été ajoutée à 2,4%. Après 30 min de cuisson, les phases eau

et huile ont été analysées séparément pour les composés phénoliques par chromatographie liquide haute performance.

Les auteurs ont confirmé l'hydrolyse des aglycons d'hydroxytyrosol et de tyrosol ainsi que la migration des polyphénols hydrophiles de l'huile dans la phase aqueuse. Pourtant, aucune perte de composés phénoliques totaux (eau et huile) n'a été observée à pH 6, mais une nette dégradation était visible pour des valeurs de pH plus faibles. Par conséquent, faire bouillir des légumes acides en présence d'huile d'olive pourrait réduire sa teneur en phénols.

Pourtant, on ne peut pas oublier que les légumes eux-mêmes ont également des composés phénoliques, et ceux-ci vont inévitablement se diffuser dans l'eau bouillante et éventuellement interagir. La teneur en tocophérol et la composition en acides gras ont également été évaluées sans changement significatif, ce qui indique que l'huile d'olive n'est pas oxydée pendant l'ébullition de l'eau.

Silva *et al.*, (2010b) ont complété l'étude susmentionnée en utilisant des conditions de cuisson réelles, avec des légumes (pommes de terre, carottes et oignons) et 2% et 5% de chaque de l'huile d'olive extra vierge et vierge. Les huiles d'olive ont été ajoutées au début du processus de cuisson ou juste à 15 minutes de la fin. La présence des légumes dans l'eau de cuisson a considérablement augmenté la perte de polyphénols. Les auteurs suggèrent que cette perte pourrait être une conséquence de la présence de métaux (Fe et Cu) dans certains légumes. Les pertes étaient également dépendantes du temps de traitement, étant avantageuses pour ajouter l'huile d'olive seulement à 15 min de la fin. Une observation intéressante de ces auteurs est que l'huile d'olive extra vierge, bien qu'il présente plus de composés phénoliques, a montré des quantités similaires à l'huile d'olive vierge après traitement avec des légumes. Cela peut remettre en question les avantages de l'utilisation de l'huile d'olive extra vierge dans les processus d'ébullition des légumes.

Tableau 2 : Revue de la littérature sur l'huile d'olive dans le cadre d'études de friture dans graisse profonde (Sontos *et al.*, 2013)

Type de cuisson	Type d'huile	Type d'aliment	Conditions de chauffage	Acides gras libres	IP	Valeur de ρ Anisidine	Coef d'extinction	Composition en acides gras	Composants polaires	Composants phénoliques	Vi t E	Activité des antioxydants	Composant volatils	Références	
Friture dans graisse profonde	HOV vs autres	Pomme de terre	170°C ; 10 sessions (1jours) ; RN	x	x		x	x	x	x	x			Andrikopoulos <i>et al.</i> , 2002	
	HOEV vs HOR	/	180°C ; 12 sessions (2jours) ; RF						x	x		x		Gómez-Alonso <i>et al.</i> , 2003	
	HOEV vs autres	/	180°, 75 sessions (10 jours) ; FR					x	x	x				Romero <i>et al.</i> , 2003	
	HOV vs autres	/	170° ; 8session (1jour) ; RN										x	Boskou <i>et al.</i> , 2006	
	HOEV vs HOV vs HO vs autres	/	170° ; 27h (9h/jour) ; RN	x	x	x	x	x	x	x	x			Casal <i>et al.</i> , 2010	
	HOEV	Nourriture surgelée	180 °C; 20 sessions (2/jour); RF or RN						x						Romero <i>et al.</i> , 2000
	HO vs autres	/	180 °C; 40 sessions (2/jour); RF						x						Bastidaet Sánchez-Muniz,2002
	HOEV	Pomme de terre	180 °C; 40 sessions (10/jour); RN						x						Kalogianni <i>et al.</i> , 2010
	HOV	/	180 °C; 5–25 h						x	x	x	x			Brenes <i>et al.</i> , 2002
	HOEV vs HO vs autres	/	160 °C–190 °C; 2 h								x		x		Valavanidis <i>et al.</i> , 2004
	HOEV vs HO vs autres	/	180 °C; 1–15 h et 240 °C; 2–7 h											x	Fullana <i>et al.</i> , 2004
	HOEV	/	170 °C; 3 h		x						x	x			Cheikhousman <i>et al.</i> , 2005
	HOEV vs HOR vs HOBR	/	180 °C; 30 min–180 min			x					x				Carrasco-Pancorbo <i>et al.</i> , 2007
	HOV	/	180 °C; 10 min–60 min		x	x		x			x				Daskalaki <i>et al.</i> , 2009
	HOV	/	180°C; 30min-60min											x	Procida <i>et al.</i> , 2009
HOEV vs autres	/	190 °C; 40 h (8 h/day)							x				x	Uriarteet Guillén., 2010	

HOEV : huile d'olive extra vierge, **HOV** : huile d'olive vierge, **HOR** : huile d'olive raffinée ; **HO** : huile d'olive, **HOBR** huile d'olive brute raffinée, **RN** : reconstitution nulle, **RF** ; reconstitution fréquente

Tableau 3:Revue de la littérature sur l'huile d'olive dans le cadre d'études de friture plate (Santos *et al.*, 2013)

Type de cuisson	Type d'huile	Type d'aliment	Conditions de chauffage	Acides gras libres	IP	Valeur de ρ Anisidine	Coef d'extinction	Composition en acides gras	Composants polaires	Composants phénoliques	Vit E	Activité des antioxydants	Composant volatils	Références
Friture plate	HOV vs autres	Pomme de terre	180°C; 10 session (1jour) RF	X	x		X	X	X	X	x			Andrikopoulos et al., 2002
	HOV vs autres	/	175°C; 8 session (1jour) RN										x	Boskou et al., 2006
	HOV	Poisson méditerranéen	170°C; 1 session par type d'aliment							X	x			Kalogeropoulos et al., 2007a
		Des légumes	170°C; 1 session par type d'aliment							X	x			Kalogeropoulos et al., 2007b
	HOEV	Industriel	180°C; 15min-60min								x		x	Messina et al., 2009

HOEV : huile d'olive extra vierge, **HOV** : huile d'olive vierge.

Tableau 4 : Revue de la littérature sur l'huile d'olive dans le cadre d'études des grillades, cuisson en microonde et ébullition (Santos *et al.*, 2013)

Type de cuisson	Type d'huile	Type d'aliment	Conditions de chauffage	Acides gras libres	IP	Valeur de ρ Anisidine	Coef d'extinction	Composition en acides gras	Composants polaires	Composants phénoliques	Vit E	Activité des antioxydants	Composant volatils	Références
Grillade	HOV vs HO vs autres	industriel	180°C ; 2h	x	x		x	x	x	x	x	x		Albi <i>et al.</i> , 1997a, 1997b
	HOEV vs HO	/	160-190°C ; 30min-120min							x	x			Pellegrini <i>et al.</i> , 2001
	HO	/	230°C ; 36min-45min						x					Caponio <i>et al.</i> , 2002
	HOV vs autres	/	230°C ; 45 min	x	x		x	x						Caponio <i>et al.</i> , 2003
	HOEV	/	180°C ; 2-36h		x		x	x		x	x	x		Allouche <i>et al.</i> , 2007
	HOEV vs HOR	/	200°C ; 3min-30min		x		x	x						Mahmoud <i>et al.</i> , 2009
	HOEV vs HOV vs autre	/	180°C ; 1h				x	x	x	x	x			Silva <i>et al.</i> , 2010a
Cuisson au microonde	HOEV	/	500W;120min	x	x				x	x	x			Albi <i>et al.</i> , 1997a, 1997b
	HOV	/	750W; 1,5min-10min	x	x				x	x		x		Cossignani <i>et al.</i> , 1998
	HO	/	500W;15min-10min						x		x			Brenes <i>et al.</i> , 2002
	HOV vs autres	/	1100W; 12min15min						x	x				Caponio <i>et al.</i> , 2002
	HOEV vs HO vs HG	/	1100W; 15min	x	x		x	x						Caponio <i>et al.</i> , 2003
	HOEV vs HOR	/	750W; 1,5min-15min	x	x	x				x				Cerretani <i>et al.</i> , 2009
	HOEV vs HOV	/	500W; 3min-30min		x		x	x						Mahmoud <i>et al.</i> , 2009
	HOV vs HO vs autres	industriel	1000W ; 1min-15min	x	x							x		Malheiro <i>et al.</i> , 2009
Ebullition	HOV	Industriel	109°C; 30min				x	x		x	x			Brenes <i>et al.</i> , 2002
	HOEV vs HO	/	100°C; 60min			x				x	x		x	Silva <i>et al.</i> , 2010b

29

HOEV : huile d'olive extra vierge, **HOV** : huile d'olive vierge, **HG** : huile de grignon ; **HO** : huile d'olive.

I.1.2.7.Effet de la cuisson sur les attributs de qualité de l'huile d'olive

Limitée à l'origine aux régions méditerranéennes, où l'huile d'olive reste la principale source de graisses externes, la culture des arbres et la consommation d'huile d'olive *Olea europaea* L. se développent dans d'autres pays d'Europe du Nord, ainsi qu'aux États-Unis, en Argentine, au Chili et au Mexique. et en Australie, principalement en raison de ses attributs sensoriels et de ses avantages potentiels pour la santé (Boskou, 2009; García-González, 2008; Gustone, 2002).

L'huile d'olive est généralement obtenue par pression à froid des fruits d'olive, suivie éventuellement d'un lavage à l'eau, d'une filtration et d'une centrifugation. En comparaison avec d'autres huiles végétales courantes, obtenues par extraction au solvant et soumises à divers processus de raffinage, cette huile d'olive vierge (HOV) conserve une grande partie des composants d'origine du fruit. Par conséquent, alors que la plupart des huiles végétales commercialisées sont principalement des mélanges de triacylglycérol (TAG), l'huile d'olive présente d'autres composants naturels du fruit, comme les pigments, les composés phénoliques et les composés volatils. Outre les bienfaits pour la santé d'une riche graisse monoinsaturée, de plus en plus documentée dans la littérature, la présence de ces composés mineurs renforce la valeur ajoutée de l'huile d'olive, augmentant sa bioactivité potentielle (Stark *et al.*, 2002; Waterman, 2007).

L'huile d'olive vierge et extra vierge sont des huiles de qualité les plus prisées, et leurs attributs de qualité sont maximisés lorsqu'ils sont consommés sans avoir été préalablement soumis à un traitement thermique. Par conséquent, l'huile d'olive doit de préférence être ajoutée comme assaisonnement final dans les salades fraîches, les soupes ou les plats plus élaborés. Lorsque l'huile d'olive est utilisée comme base de cuisson, comme dans la torréfaction, le sautage (sauté) ou même la friture, des effets thermiques se produisent (Boskou, 2009; Waterman *et al.*, 2007). Par ailleurs, contrairement à d'autres huiles végétales raffinées, ces effets perturberont également les composés oléicoles intérieurs. Plusieurs auteurs ont abordé cette question, en particulier l'effet chauffant sur les propriétés nutritionnelles et biologiques de l'huile d'olive. Une telle connaissance est essentielle si l'on veut connaître les températures adéquates pour chaque catégorie d'huile d'olive. (Santos *et al.*, 2013).

I.2. Assimilation et rôle nutritionnel des huiles végétales

Les lipides se solubilisent dans l'eau grâce aux sels biliaires (glycocholate de sodium) et les phospholipides de la bile. Ils sont d'abord émulsionnés pour faciliter l'action des lipases pancréatiques. Ces enzymes agissent préférentiellement sur les AG estérifiés en position Sn-1 et Sn-3 du glycérol aboutissant, ainsi, à leur libération. Les produits issus de cette action rejoignent, par diffusion passive, les cellules épithéliales de l'intestin.

Les AG à courte chaîne (< 12 carbones) et le glycérol passent directement dans le sang ; ils sont acheminés vers le foie par la veine porte. Les AG à longue chaîne y seront activés par le coenzyme A, et ils seront neutralisés pour synthétiser à nouveau des TAG ; ceux-ci seront déversés dans les vaisseaux lymphatiques.

Les chylomicrons sont formés dans la muqueuse intestinale et sont conduits jusqu'au sang par les vaisseaux lymphatiques. Ils transportent les lipides alimentaires de l'intestin jusqu'aux tissus. Dans les muscles et les tissus adipeux, les chylomicrons déversent une grande partie de TAG sous l'action de la lipoprotéine lipase qui hydrolyse les TAG en glycérol et AG ; ils se transforment, alors, en résidus de chylomicrons et sont finalement captés par le foie.

Les lipoprotéines de basse densité (VLDL, IDL, LDL) transportent les TAG, le cholestérol et les phospholipides du foie aux cellules extra-hépatiques. Les VLDL sont formés dans le foie et se transforment en IDL puis en LDL en abandonnant des AG comme dans le cas des chylomicrons ; les HDL, au contraire, transportent au foie le cholestérol excédentaire des cellules extra-hépatiques et contribuent ainsi à débarrasser l'organisme d'une partie de son cholestérol via la bile et les fèces.

Comme les taux de lipoprotéines plasmatiques oxydées sont corrélés à la quantité de lipides alimentaires oxydés, il est admis de suggérer que les lipides alimentaires oxydés soient absorbés par l'intestin grêle et incorporés dans les chylomicrons ; ils atteignent la circulation sanguine où ils contribuent à la constitution du pool de lipides oxydés corporels (Staprans et *al.*, 1994). Ainsi, les produits d'oxydation des huiles et MG alimentaires peuvent exercer des effets cardiovasculaires délétères et contribuer à la pathogénicité de l'athérosclérose (Cohn, 2002).

Un tiers de l'énergie totale d'un homme adulte (estimée à 2500 Kcal / jour) est apporté par les lipides ; la quantité de lipides ingérée quotidiennement est d'environ 100g (Malvy *et*

al., 1999). Après leur absorption au niveau intestinal par les entérocytes, les AG sont transportés dans la circulation sanguine sous forme de lipoprotéines ; celles-ci approvisionnent les tissus périphériques (tissu adipeux, muscle et foie).

Dans le foie, les AG sont métabolisés puis redistribués sous forme de VLDL dans l'ensemble de l'organisme. Par leur catabolisme, notamment par la β -oxydation mitochondriale, tous les AG alimentaires fournissent de l'énergie (1 g en fournit 9 kilocalories, contre 4 kilocalories pour les glucides et les protéines) (Durand *et al.*, 2002). Cependant, les AGPI des deux séries, ω 3 et ω 6 sont distribués dans les cellules de l'organisme où ils sont impliqués dans une myriade de processus physiologiques, y compris le règlement des fonctions cardio-vasculaires, immunitaires, hormonales, métaboliques, neuronales et visuelles.

I.3. Oxydation des huiles végétales

Les huiles végétales riches en AGPI sont susceptibles de s'oxyder. La présence d'une double liaison dans la chaîne hydrocarbonée d'AG affaiblit les liaisons C-H de l'atome de carbone se trouvant à côté de la double liaison et ainsi facilite l'abstraction de l'hydrogène (H). L'oxydation génère un radical libre suite à une réaction catalysée par la chaleur, la lumière, des traces de métaux ou des enzymes. Le carbone radicalaire tend à se stabiliser par un réarrangement moléculaire pour former un diène conjugué (CD).

L'oxydation des lipides est l'une des causes principales de la détérioration de la qualité d'un aliment ; elle diminue la qualité nutritionnelle, altère le goût, modifie la texture et l'aspect de la denrée et raccourcit sa durée de conservation. Les facteurs qui influencent l'oxydation des lipides sont nombreux. Il s'agit d'une part de facteurs intrinsèques, tels que la composition en AGI (concentration et nombre d'insaturations), l'activité de l'eau, la présence de pro-oxydants (ions métalliques, hèmes, enzymes) ou d'antioxydants naturels (tocophérols, caroténoïdes, etc.), et d'autre part de facteurs environnementaux dont les principaux sont la température, la lumière et la pression partielle en oxygène (Hsieh *et al.* 1989).

Les huiles et MG alimentaires jugées de bonne qualité sont oxydativement stables. Toutefois, ces corps gras peuvent s'oxyder et développer des odeurs et goûts désagréables pendant leur élaboration, stockage et utilisations culinaires. Le traitement industriel de l'huile brute est conçu pour éliminer, en partie, les acides gras libres (AGL) et des impuretés (contaminants) susceptibles d'initier des réactions d'oxydation (Chow, 2008).

Le raffinage constitue une étape clé de la technologie de production des huiles ; il permet d'obtenir une huile de qualité conforme aux exigences des différentes utilisations alimentaires humaines, animales, cosmétiques (Francois, 1974). Ainsi, le but du raffinage est de prolonger la durée de conservation d'une huile en éliminant les composés indésirables. Cependant, les pertes en tocophérols et en phytostérols pendant ce procédé sont importantes (Tasan et Demirci, 2005).

Le raffinage a pour but de maintenir ou d'améliorer les caractères organoleptiques et la stabilité des CG alimentaires. La désodorisation, dernière étape du raffinage, consiste à injecter sous vide, de la vapeur d'eau dans l'huile portée à des températures comprises entre 180 et 240°C pendant une heure à quatre heures (Linden, 1994). Cette étape doit être maîtrisée afin de maîtriser et limiter la formation d'AG isomères *trans* (De Greyt *et al.*, 1998 ; Brededan *et al.*, 2000).

Ainsi, la qualité et la stabilité d'une huile dépend de ses caractéristiques chimiques telles que, sa composition en AG (plus le degré d'insaturation est élevé, plus l'huile est instable) et de sa teneur en antioxydants (tocophérols, flavonoïdes, etc.). De plus, la stabilité de l'huile est influencée par les différents procédés d'extraction, de raffinage et les conditions de stockage en présence de lumière et / ou d'oxygène (Verleyen, 2002).

Les principales conséquences du raffinage des huiles sont : altération des nutriments essentiels de l'huile, destruction de la vitamine E, anti-oxydante ; ce micronutriment est essentiel à la prévention de l'oxydation et les conséquences de cette réaction d'altération chez l'organisme vivant (athérosclérose, vieillissement accélérée et cancérisation), transformation de la structure des AG, saturation d'une partie des AGI et enfin, inversion de la configuration spatiale de la chaîne hydrocarbonée d'un AGPI autour de la double liaison et son passage de la forme *cis* à la forme *trans* (Legoff, 2003).

I.3.1 oxydation des acides gras

Les lipides contenant des AGI subissent une peroxydation spontanée. L'oxydation est catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres ; la photo-oxydation est initiée par la lumière UV en présence de photo-sensibilisateurs (exemples : la chlorophylle, la riboflavine ou les hémoprotéines) et catalysée par l'oxygène *singulet* ; l'oxydation enzymatique est initiée par la lipoxigénase.

L'oxydation aboutit à la formation de nombreux composés allant de la formation des produits primaires de type hydroperoxydes jusqu'à celle des produits terminaux (aldéhydes, composés cycliques, composés polaires et polymères).

Cette oxydation, est responsable de la dévalorisation des aliments et de la dénaturation des tissus de l'organisme vivant. La modification peroxydative des lipides insaturés peut être provoquée par des réactions déclenchées par des espèces de radicaux libres, tels que les radicaux *peroxyls* et des espèces non radicalaires, tel que l'oxygène *singulet* ($\bullet\text{O}-\text{O}\bullet$ ou O_2). Ce dernier est la forme excitée du dioxygène (O_2) qui est à l'état triplet ; il est rendu chimiquement très réactif par la présence d'électrons de valence non appariés.

Ce phénomène est purement chimique, se caractérise par son caractère évolutif (dû à la succession, dans le temps, de différentes réactions chimiques, conduisant à plusieurs familles de produits réactionnels intermédiaires et finaux), irréversible et altératif (puisque l'attaque des acides gras par l'oxygène atmosphérique conduit à des dégradations organoleptiques et fonctionnelles, affectant directement la qualité marchande des corps gras et des produits finis).

Parmi les produits de dégradations, les composés aldéhydiques volatils jouent un rôle clef car ils sont responsables des saveurs de « rance » : pour cette raison, la réaction d'oxydation est souvent associée à la notion de rancissement chimique aldéhydique (à distinguer du rancissement butyrique ou du rancissement cétonique, qui sont des phénomènes enzymatiques d'hydrolyse).

Plus précisément, la réaction d'oxydation est une réaction de type radicalaire : rappelons qu'un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron non apparié dit « célibataire », ce qui en fait un intermédiaire réactionnel instable à courte durée de vie, qui se stabilise en arrachant un électron à une autre espèce chimique, qui se trouve alors elle-même déstabilisée puisque porteuse d'un électron non apparié. Ceci permet de comprendre le caractère autocatalytique de la réaction d'oxydation, dont la cinétique suit une courbe exponentielle croissante, comportant trois phases distinctes (figure 2) :

- **phase d'initiation** : lente, elle correspond à la formation des radicaux libres ;
- **phase de propagation** : rapide, elle correspond à la formation, à partir des radicaux libres, des peroxydes et à l'apparition consécutive des composés secondaires d'oxydation ;

– **phase de terminaison** : elle correspond à la disparition des peroxydes, à l'accumulation des composés secondaires d'oxydation, c'est-à-dire à l'oxydation complète du substrat. D'un point de vue pratique, dans les produits cosmétiques, les cinétiques des réactions (en regard des durées de vie des produits) atteignent rarement le stade de terminaison.

La phase de propagation peut elle-même être découpée en deux étapes séquentielles :

- La première étape correspond à l'apparition des peroxydes, composés primaires d'oxydation, à partir des radicaux libres instables : la quantité de peroxydes formés peut être évaluée analytiquement grâce à la détermination de l'indice de peroxyde. À ce stade, dit de peroxydation, la flaveur de rance peut ne pas être perceptible, la qualité marchande du produit non encore altérée ;

- La deuxième étape se traduit par l'évolution des hydroperoxydes en composés secondaires d'oxydation, par deux voies principales :

- une voie dite **de scission**, conduisant par coupure à la libération de composés volatils (chaînes carbonées courtes et moyennes), notamment aldéhydiques, responsables des flaveurs de rance, caractérisés par un seuil de détection très faible ;

- une voie dite de **remaniement**, conduisant suite à différents types de pontage intra- ou inter-acides gras ou suite à l'apparition de fonctions oxydées (fonctions cétone, époxy, hydroxy) sur les acides gras, à la formation d'acides gras oxydés, de triglycérides oxydés, de polymères de triglycérides oxydés. À ce stade dit de rancissement, la flaveur de rance est bien entendu perceptible, et peut être accompagnée par d'autres conséquences d'ordre fonctionnel (aspect, couleur, texture) et d'ordre physiologique (altérations des acides gras essentiels et des vitamines liposolubles).

Au fur et à mesure des années, grâce au développement des méthodes d'analyses chromatographiques et spectroscopiques, des réactions supplémentaires ont été ajoutées à ce schéma afin d'expliquer certains aspects mécanistiques du phénomène d'oxydation (figure 3).

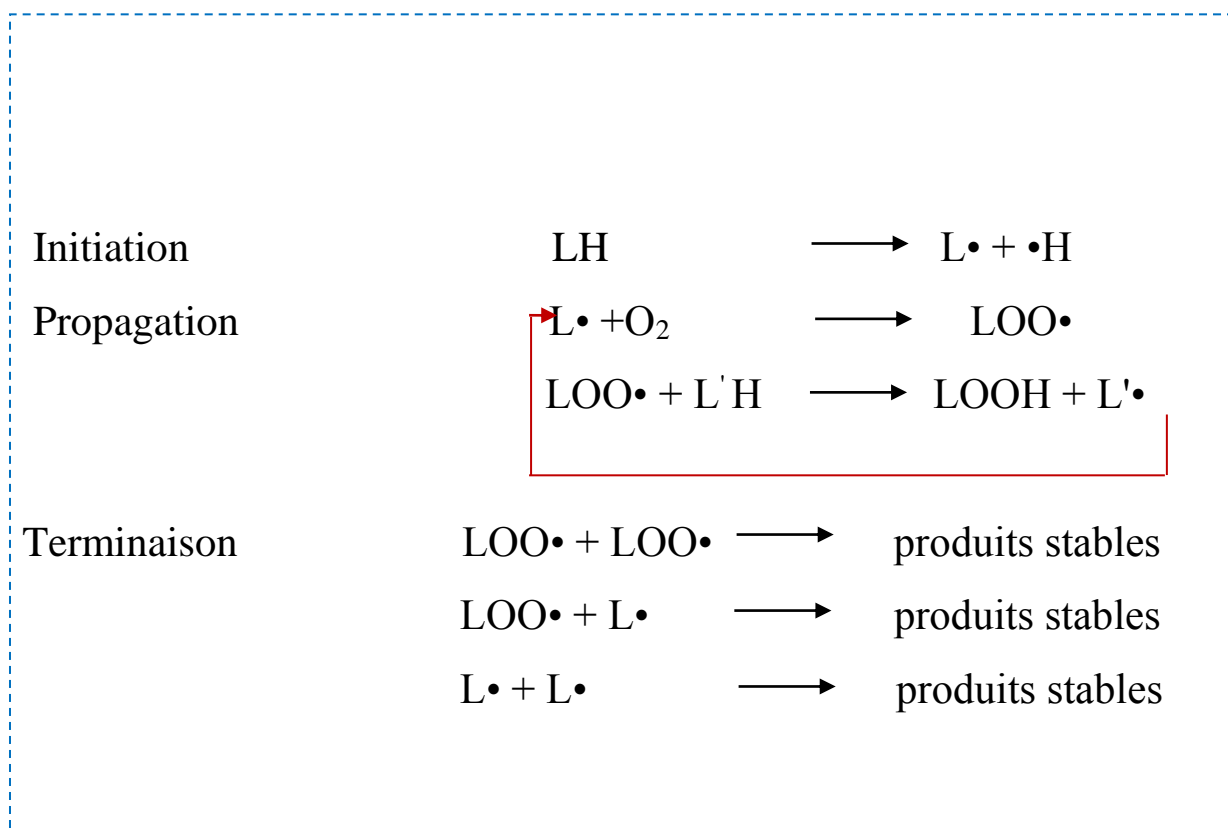
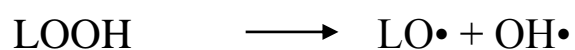
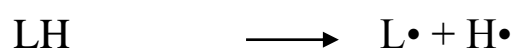
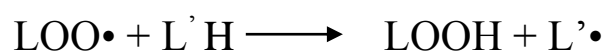
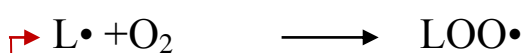


Figure 02 : l'auto-oxydation des acides gras insaturés (Labuza et Dugan, 1971)

Initiation



Propagation



Terminaison

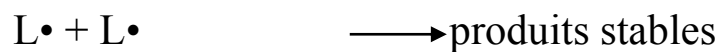
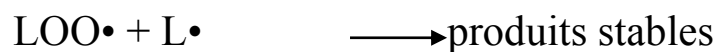
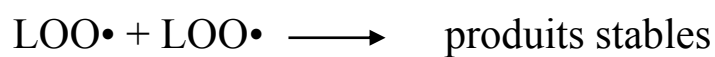


Figure 03 : l'auto-oxydation des acides gras insaturés (Kamal-Eldin *et al.*, 2003)

L'examen de la formation des radicaux et hydroperoxydes d'acides gras, en conditions d'autoxydation (en présence d'oxygène, en absence de lumière) illustre la complexité de la réaction d'oxydation. Suite à un apport énergétique, l'hydrogène situé en a (position allylique) de chaque côté de la double liaison de l'acide gras subit une coupure homolytique ; cet hydrogène est en effet le plus labile car il subit l'effet électrodonneur de la double liaison voisine. Apparaît alors un radical d'acide gras, sur lequel la double liaison peut migrer (isomérisation de position) et/ou s'isomériser (isomérisation géométrique *cis/trans*) : on parle de métamérie. (Kamal-Eldin *et al.*, 2003)

La vitesse d'oxydation dépend de la qualité initiale de l'huile, en particulier de sa concentration en hydroperoxydes, qui réduira d'autant plus le temps d'induction qu'elle est élevée, les hydroperoxydes exerçant alors une fonction d'initiateurs de radicaux, surtout s'ils sont en contact avec des ions métalliques. Si l'huile est incorporée dans un produit formulé, alimentaire ou cosmétique, d'autres paramètres pourront intervenir, notamment l'état de dispersion de l'huile, la nature des interfaces avec l'huile, la présence de sel ou de tensio-actifs. (Labuza et Dugan, 1971).

L'oxydation est un phénomène évolutif (figure 04). Il est intéressant d'établir les cinétiques d'évolution des marqueurs d'oxydation, ce qui permet de repérer le temps d'induction, c'est-à-dire le moment où commence à apparaître le phénomène d'oxydation. (Cuvelier, 2012)

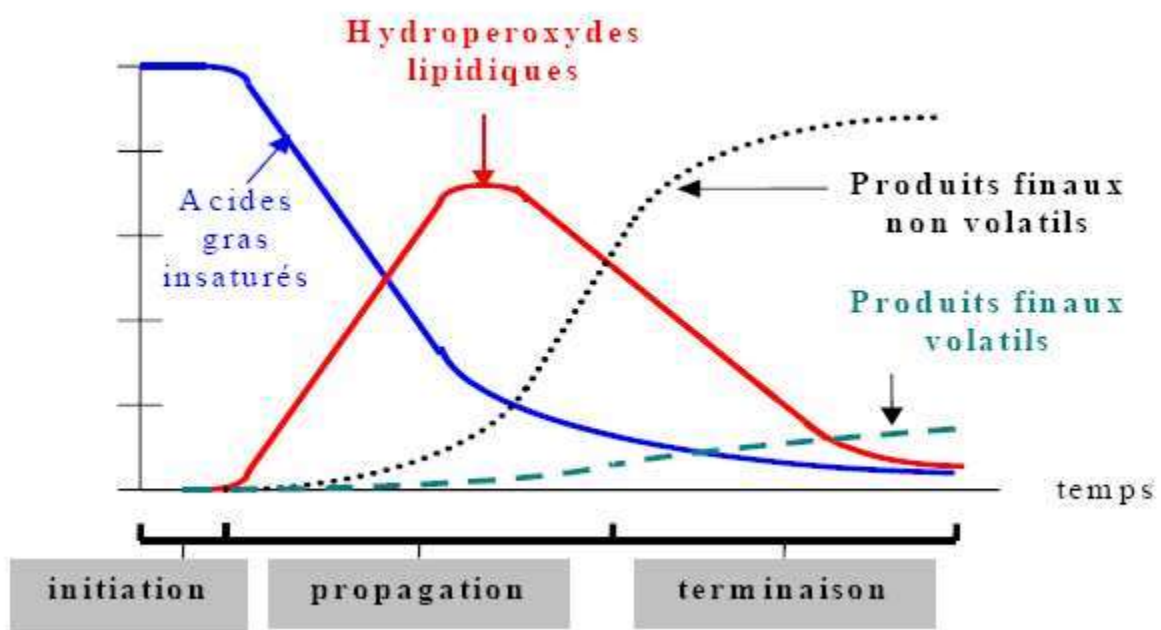


Figure 04 : évolution de l'auto-oxydation des acides gras insaturés
(Labuzaet Dugan, 1971)

a. Altération des acides gras

L'altération des huiles et des graisses est un phénomène complexe dépendant du type de corps gras, de leur passé, des traitements technologiques subis mais aussi des conditions de conservation (présence d'air, lumière, catalyseurs, antioxydants, etc.) et de mise en œuvre (fusion, cuisson, friture). (PCSS, 2011)

La friture est un mode de cuisson très employé autant dans les restaurants qu'à la maison. Les AGPI sont composés de deux insaturations et plus, ce qui les rend très sensibles aux dégradations lorsqu'ils sont en présence de certains facteurs, tels que l'oxygène, la vapeur d'eau ou les hautes températures. En présence d'oxygène, des réactions d'oxydation se produisent, formant des composés volatiles et non-volatiles. Les AGPI *n-3* formeront alors des hydroperoxydes, des alcools, des aldéhydes et des polymères (Dana et Saguy, 2001 ; Frankel, 1984 ; Marquez-Ruiz, 2007). Tous ces produits augmenteront la polarité de l'huile, ainsi que sa viscosité. En présence de vapeur d'eau, les AGPI *n-3*, ainsi que les AG présents, formeront des AGL, ainsi que des mono- et di-glycérides. Ces derniers augmentent la polarité des huiles, alors que les AG libres vont abaisser le point de fumée des huiles (Aladedunyeet Przybylski, 2009 ; Dana et Saguy, 2001 ; Perkins, 2007). Finalement, les hautes températures vont transformer les AGPI *n-3* en polymères, en AG *trans* et en monomères cycliques d'acides gras (MCAG) (Billek, 2000 ; Frankel *et al.*, 1984 ; Sébédioet Grandgirard, 1989 ; Sébédio et Juaneda, 2007). Tous ces produits sont à éviter dans une saine alimentation, car ils ont des répercussions néfastes sur la santé (Billek, 2000 ; Sébédio et Juaneda, 2007).

b. Facteurs qui influencent l'altération des acides gras

Certains facteurs permettent aux acides d'être convertis en radicaux libres plus ou moins facilement. Parmi ces facteurs nous pouvons citer :

- les traitements thermiques sévères, appliqués au cours du raffinage chimique, où les huiles végétales subissent un ensemble de réactions chimiques comme l'oxydation, la polymérisation, l'hydrolyse, l'isomérisation et la cyclisation. Ces réactions ont des effets néfastes sur les caractéristiques fonctionnelles, nutritionnelles et organoleptiques de l'huile, pouvant aboutir à la formation de composés ayant des effets nocifs sur la santé. L'autooxydation par exemple est à l'origine de la transformation des huiles qui conduit à une diminution de leur valeur nutritionnelle par la dégradation des acides gras essentiels, notamment l'acide linoléique. Elle conduit en outre à la formation de divers produits de

décomposition qui confèrent aux huiles une odeur et un goût indésirables. (Chimi, 1990 ; Gertz, 2000)

L'emploi des terres acides, à haute température pendant l'opération de décoloration pendant le raffinage, favorise les réactions secondaires telles que l'isomérisation cis/trans des acides gras insaturés. Ces conditions opératoires entraînent par ailleurs la conjugaison des doubles liaisons dans les acides gras polyinsaturés avec la formation de diènes et de triènes conjugués (Faur, 1989, Emangeared et Marchand, 1991). Ces transformations sont rencontrées souvent dans le cas des huiles végétales contenant des teneurs importantes de pigments colorés et qui nécessitent l'utilisation de grandes quantités d'adsorbants (Emangeared et Marchand, 1991)

- La présence de métaux lourds par exemple, en particulier le fer, va accélérer l'oxydation (Perkins, 2007).
- Une grande concentration d'oxygène, une température élevée et une grande surface de contact entre l'huile et l'air peuvent également augmenter l'oxydation et la dégradation des acides gras..

- L'eau, présente dans les aliments ou l'entraînement à la vapeur d'eau sous vide pendant l'étape de désodorisation durant le raffinage des huiles végétales, peut accélérer le processus d'oxydation.

En effet, lorsque l'activité de l'eau devient plus élevée, l'eau libre présente dans l'huile augmentera la mobilité des prooxydants, ce qui augmentera l'oxydation (Belitz *et al.*, 2009b, McClements et Decker, 2007).

- La composition de l'huile a également un impact sur la dégradation des acides gras. Comme il a déjà été expliqué, plus il y a des AG insaturés dans l'huile par rapport aux AG saturés, plus vite l'huile s'altère (Kamal-Eldin, 2005).

I.4. Interaction huile oxydée-aliments

L'interaction des produits d'oxydation avec d'autres nutriments, en particulier les protéines, entraîne selon Henrik *et al.* (1985) une réduction de l'utilisation protéique, de la valeur biologique ainsi que la digestibilité de l'azote, de ce fait, la valeur des protéines se trouve réduite, suite à des réactions des acides aminés dont la lysine, méthionine, cystéine et tryptophane avec les produits d'oxydation.

I.5. Digestion et absorption des produits d'oxydation des huiles alimentaires chauffées

L'ingestion des espèces chimiques nouvelles (ECN), présents dans une huile chauffée (dans les conditions de friture) s'accompagne d'un passage des ces composées dans le lymphé avec les taux d'absorption suivant la nature de l'ECN considéré (Combe *et al.*, 1978).

Combe *et al.*, (1978), ont démontré que parmi les ECN issues de l'huile de soja chauffée, 50% des monomères oxydés traversent la paroi intestinale chez le rat.

I.6. Effets toxicologiques des huiles végétales chauffées

Les effets néfastes de la consommation des huiles chauffées ont fait l'objet de nombreuses recherches. Les anomalies induites diffèrent d'un organisme à un autre. Les symptômes décelés sont variés, ils consistent en une perte d'appétit, diminution de la croissance, diarrhée, modifications histologiques des tissus et à l'extrême la mort (Izaki *et al.*, 1984). Les normes de référence recommandent un apport quotidien en matières grasses d'environ 25 à 33% de l'apport calorique total; les acides gras saturés (AGS) ne devraient pas dépasser 10% de l'apport calorique et le reste devrait être des acides gras insaturés (AGI). Une alimentation inadéquate peut entraîner des perturbations de l'équilibre pro-oxydant / antioxydant, connu sous le nom de stress oxydatif, conduisant à une production accrue de radicaux libres et à un système inhibiteur et piègeur de radicaux libres compromis. Généralement, les ROS sont inactivés par des systèmes enzymatiques spéciaux.

I.6.1. Toxicité des produits d'oxydation

Kanazawa *et al.*, (1985) ont prouvé, chez le rat, que quelques produits secondaires d'oxydation, tels que aldéhydes, des cétones, des polymères et des époxydes sont absorbés au niveau intestinal et véhiculés vers le foie. La détection du MDA dans les urines de rats après leur ingestion d'une dose de sel de sodium *énolique* indique l'absorption de ce produit secondaire d'oxydation des lipides (Draper *et al.*, 1984). Par ailleurs, Naruszewicz *et al.*, (1987) ont remarqué une augmentation marquée de TBARS dans le plasma de sujets ingérant l'huile de soja thermo-oxydée, alors que les sujets consommant l'huile fraîche en présentent des niveaux plus bas.

Contrairement aux produits secondaires d'oxydation, les hydroperoxydes lipidiques sont absorbés lentement ; les radicaux peroxyls ont tendance beaucoup plus à se lier à d'autres

AGI dans l'appareil gastro-intestinal ou dans l'enterocyte qu'à diffuser dans la lymphe ou le plasma (Sheehy *et al.*, 1994).

Ainsi, les produits d'oxydation des lipides peuvent être assimilés dans le tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux. Mais, leur devenir une fois arrivés dans le plasma demeure inconnu (Frei *et al.*, 1988). C'est la raison pour laquelle, des recherches sur les effets biologiques de la consommation des aliments contenant des niveaux élevés des produits d'oxydation des lipides doivent être entreprises (Sheehy *et al.*, 1994).

Staprans *et al.*, (1999) ont montré que les lipides oxydés alimentaires augmentent l'oxydation des lipides des chylomicrons chez les diabétiques ayant un mauvais équilibre glycémique par rapport aux sujets témoins ou des patients diabétiques ayant un bon équilibre glycémique. L'augmentation postprandiale de lipides oxydés potentiellement athérogènes peut contribuer à la survenue de l'athérosclérose associée au diabète.

Par ailleurs, Garrido-polonio *et al.*, (2004) ont montré que l'incorporation d'huile de tournesol ayant subi plusieurs cycles de fritures dans le régime alimentaire a augmenté les concentrations de cholestérol total et de cholestérol des VLDL, LDL; le taux de thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) sériques et hépatiques ont, également, augmenté.

Des produits d'oxydation d'AG et les oxydes de cholestérol ont été impliqués dans la mutagénèse, la carcinogénèse et en étiologie de maladie cardiaque coronaire (Addis et Warner, 1991). Par ailleurs, les produits d'oxydation des AG de l'huile (peroxydes lipidiques) peuvent avoir des effets mutagènes et carcinogènes en modifiant le matériel génétique de la cellule. Certains produits secondaires de dégradation des lipides, comme le malondialdéhyde (MDA) ou les *4-hydroxyalcénals* peuvent avoir des effets inhibiteurs sur les systèmes enzymatiques membranaires (chaîne respiratoire) et sur la synthèse protéique (Addis, 1986).

Mais, il semble qu'une consommation modérée ne semble pas être nocive puisque le taux de produits d'oxydation ingéré est bas (Artman, 1969).

Des études ont été effectuées sur les effets physiologiques des aldéhydes volatils. Le *4-hydroxy nonenal* (4-HNE), a été particulièrement étudié ; ce produit est biologiquement actif et présente des propriétés cytotoxiques, hépatotoxiques, mutagéniques et génotoxiques (Esterbauer *et al.*, 1990 ; Esterbauer *et al.*, 1991). Les aldéhydes se combinent, également, aux

protéines en formant des *aldimines* avec des groupes aminés libres (Gardner, 1983); les aldéhydes α , β -insaturés sont particulièrement réactifs vis-à-vis des groupements *sulphydryls*.

Par ailleurs, on a constaté que des fractions contenant des composés de bas poids moléculaire du linoléate de méthyle ou d'acide linoléique au carbone 14 marqué auto-oxydé ont été facilement absorbées et distribuées dans les tissus de rat (Kanazawa *et al.*, 1985 ; Oarada *et al.*, 1986). Enfin, on a rapporté que l'acide 9-oxononanoïque, l'acide aldéhydique majeur des lipides oxydés, pourrait induire la peroxydation des lipides hépatiques (Minamoto *et al.*, 1985) et affecter le métabolisme hépatique (Minamoto *et al.*, 1988 ; Kanazawa et Ashida, 1991).

I.6.2. Effets des acides gras *trans*

Au cours des traitements thermiques (la désodorisation ou la friture), les AGPI, tel que l'acide linoléique (C18 :2, 9*cis*, 12*cis*) sont soumis à des températures pouvant dépasser 200°C. Dans ces conditions, les liaisons éthyléniques de la géométrie *cis* subissent une isomérisation géométrique donnant un mélange d'AG possédant une ou plusieurs liaisons *trans* (Sebedio, 2007).

Les AG *trans* entrent dans la composition des aliments. Ils se retrouvent dans les tissus de l'organisme vivant. En général, la quantité d'AG *trans* mono-insaturés ingérée est plus grande que celle d'AG *trans* polyinsaturés (Eckel *et al.*, 2007). Pendant la friture (à 180°C), il se forme une quantité relativement négligeable d'AG *trans* (Romero *et al.*, 2000) ; la quantité formée est de l'ordre du mg/Kg (Gamel *et al.*, 1999). Néanmoins, cette quantité augmente lorsque l'huile de bain de fritures n'est pas régulièrement remplacée (Chow, 2008).

Des essais cliniques, menés en 1990, ont montré que la consommation d'AG *trans* induisait, comme les AGS, une augmentation du cholestérol plasmatique, notamment le C-LDL ; mais, à la différence des AGS, une baisse du taux de C-HDL pouvait se produire. En conséquence, les AG *trans* pouvaient être plus athérogènes que les AGS (Van de Vijver *et al.*, 2000 ; Sun *et al.*, 2007).

Mensink *et al.*, (2003) ont montré qu'une augmentation de 1% de la consommation en AG *trans* (18 :1 *trans*) entraînerait une élévation du C-LDL de +0,040 mmole/L ($p = 0,002$) ; par contre, l'effet sur le C-HDL serait similaire à celui des glucides. L'estimation de l'impact sur le rapport CT / C-HDL serait de +0,022 mmole/L ($p = 0,015$).

En outre, des études menées par Ascherio *et al.*, (1996) ; Pietinen *et al.*, (1997), Oomenet *al.*, (2001) ; OH *et al.*, (2005) ont montré qu'une augmentation de 2% de l'apport énergétique total par les AG *trans* augmentait de 23% le risque de maladies cardiovasculaire (Mozaffarian *et al.*, 2006). De plus, la consommation d'AG *trans* promouvait l'inflammation (Mozaffarian *et al.*, 2004 ; Lopez-Garcia *et al.*, 2005) et un dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire. Mais, la relation entre AG *trans* et diabète est encore controversée (Mozaffarian *et al.*, 2006).

I.7.Conséquences du stress oxydant sur les tissus

I.7.1. Le stress oxydant

Le stress oxydant se définit comme étant un processus physiologique ou physiopathologique résultant d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives (ER) et la capacité antioxydant de l'organisme, en faveur des ER (Boveris *et al.*, 1972). Autrement dit, le stress oxydant traduit une incapacité de l'organisme à se défendre contre les ER.

I.7.2. Les espèces réactives

Les espèces réactives ont été mis en évidence pour la première fois en 1971 dans la chaîne respiratoire mitochondriale (Loschen *et al.*, 1971). Les espèces réactives se divisent en deux familles : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN). Elles peuvent être de nature radicalaire ou non (figure 05).

Un radical se définit comme une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche périphérique lui conférant ainsi une grande réactivité. La production d'ER peut être soit d'origine endogène soit due à des facteurs exogènes (figure 06) tels que les métaux lourds, les rayonnements ionisants et les rayons ultra-violet, les polluants, mais également des médicaments (paracétamol, anthracyclines...) (Valko *et al.*, 2007).

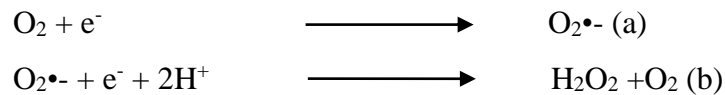
- Les espèces réactives de l'oxygène

• Origines des espèces réactives de l'oxygène

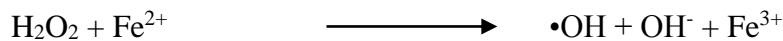
Grâce à sa chaîne respiratoire, la mitochondrie est la principale source d'énergie de l'organisme. Cependant, environ 0,4 à 4 % d'électrons de cette chaîne respiratoire vont réagir directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme, donnant ainsi naissance à une partie des ERO générées par la cellule (Haleng *et al.*, 2007). Celles-ci sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), les radicaux peroxydes (ROO^{\bullet}

ou LOO•) soit des molécules non radicalaires dont la toxicité est importante telles que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'oxygène singulet (1O₂) et l'acide hypochloreux (HOCl).

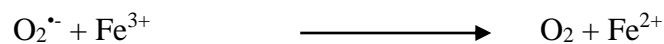
L'anion superoxyde provient de la réduction monovalente de l'oxygène. Il gagne un électron et devient un radical chargé négativement (a). La dismutation spontanée ou catalysée par la superoxyde dismutase (SOD) de l'anion superoxyde conduit à la formation d'oxygène à l'état fondamental et de peroxyde d'hydrogène (b) (Andreyev *et al.*, 2005) :



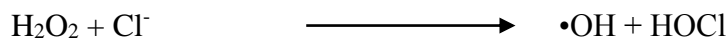
Le peroxyde d'hydrogène a un pouvoir oxydant important et une capacité importante à traverser les membranes lui permettant de diffuser à distance de son lieu de production. En présence de fer (réaction de Haber et Weiss, 1934), il se dismute en ion hydroxyle (OH⁻) et en radical hydroxyle (•OH) dont la cytotoxicité est importante.



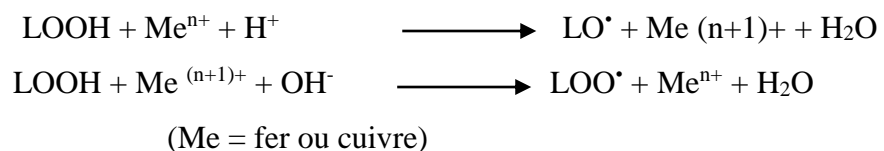
Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde, qui régénère Fe³⁺ en Fe²⁺ (Haber et Weiss, 1934) :



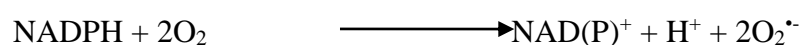
Le peroxyde d'hydrogène peut en présence d'une myeloperoxydase, réagir avec le chlore pour donner l'acide hypochloreux et le radical hydroxyle (Jolival *et al.*, 1996)



Les radicaux peroxydes sont formés à partir d'AGPI de façon enzymatique et non enzymatique. La formation non enzymatique est une réaction radicalaire en chaîne (Esterbauer *et al.*, 1992).



Il existe une autre source de production d'ERO *via* la NOX (NADPH Oxydase) qui est une enzyme catalysant la réaction suivante :



Où le Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate NADPH sert de donneur d'électrons (Migdal et Serres, 2011).

- **Rôles physiologiques des ERO**

Dans les conditions normales, les ERO sont générées en faible quantité et jouent un rôle important dans le fonctionnement de l'organisme. Au cours de l'inflammation, les macrophages et les neutrophiles activés *via* la NOX, produisent des ERO qui leur permettent de défendre l'organisme contre les agents pathogènes : c'est «le burst oxydatif» (Dröge, 2002). Dans les cellules non phagocytaires, les ERO produits interviennent dans la régulation de voies de signalisations intracellulaires (Migdal et Serres, 2011). Les ERO jouent également le rôle de seconds messagers, notamment dans les phénomènes d'apoptose en induisant une oxydation de l'ADN et dans l'activation des facteurs de transcription. (Haleng *et al.*, 2007).

- **Les especes reactives de l'azote**

- **Origines des especes reactives de l'azote**

Le monoxyde d'azote radicalaire (NO•) est produit au niveau cellulaire à partir d'arginine et d'oxygène (Moncada *et al.*, 1991). Cette réaction est catalysée par une famille d'enzymes, les NO synthases (NOS). Il existe trois types de NOS : la NOS neuronale, la NOS endothéliale et la NOS inductible présente dans de nombreux tissus et organes. Les deux premières sont exprimées constitutionnellement dans les cellules (Bredt, 1999) et leur activité est régulée par la concentration intracellulaire de calcium. Le NO• peut être converti en ion nitrosium (NO⁺), en anion nitroxyl (NO⁻) ou en peroxydinitrite (ONOO⁻).

- **Rôles physiologiques des ERN**

Le NO• est un agent vasodilatateur qui intervient dans la relaxation des muscles lisses. Au niveau cardiaque, il peut modifier la contraction cardiaque en modulant les flux calciques. Le NO• intervient également dans les phénomènes de neurotransmission et les réactions inflammatoires en tant qu'agent cytotoxique. C'est aussi un agent anti-apoptotique qui stimule la production de protéines anti-apoptotiques dont Bcl-2 (Hare, 2004).

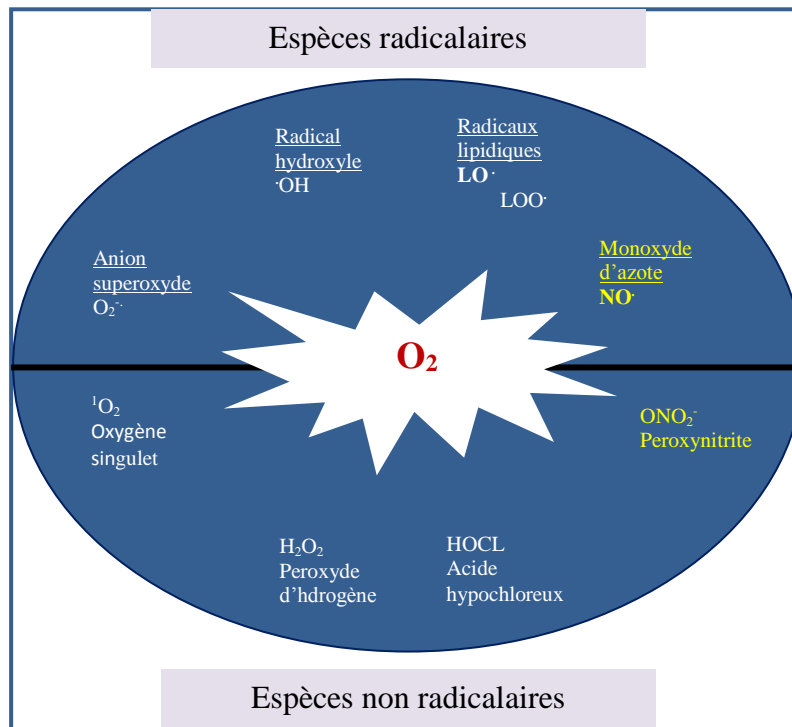


Figure 05: les espèces réactives de l'oxygène ERO et les espèces réactives de l'azote ERN (ERO en blanc, ERN en jaune) (Youzan, 2017)

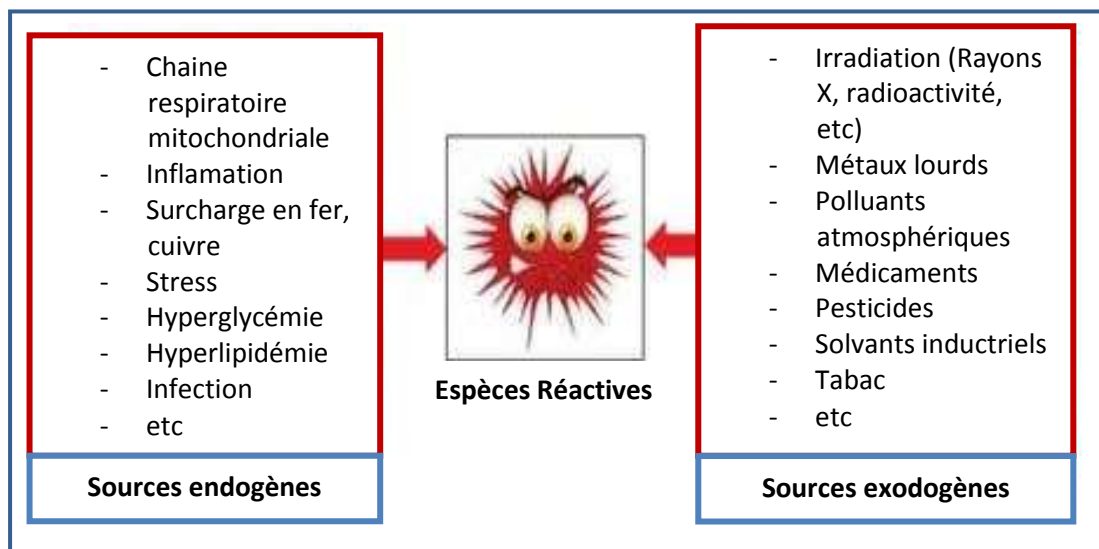


Figure 06: origine des espèces réactives (Youzan, 2017)

- Les cibles biologiques des espèces réactives

Si à faible quantité les ER jouent un rôle physiologique à divers niveaux du fonctionnement de l'organisme, formées en grande quantité elles deviennent pathologiques. Du fait de leur nature instable, elles sont très réactives vis-à-vis de substrats biologiques tels que les protéines, les acides nucléiques, les lipides et lipoprotéines, et sont capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (figure 07).

✓ Les lipides et lipoprotéines

Les AGPI sont caractérisés par un enchaînement malonique et sont très abondants dans l'organisme. La présence d'un groupement méthylène entre deux doubles liaisons les rend particulièrement sensibles à l'oxydation. Les AGPI des membranes cellulaires sont donc la cible privilégiée des ER. La peroxydation lipidique ou oxydation des AGPI est une réaction radicalaire en chaîne qui se déroule en trois étapes : initialisation (a), propagation (b) et réaction de terminaison (c) (Halliwell et Gutteridge, 1999).

Parmi les produits finaux formés, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont un potentiel mutagène et cancérigène (Valko *et al.*, 2006; Haleng *et al.*, 2007). La peroxydation lipidique peut être évaluée par diverses techniques de dosage : substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBARS) (Lefevre *et al.*, 1998) ou plus récemment, les isoprostanes. Ainsi, la 8-*epi*-prostaglandine PGF 2 α , appartenant à la famille des isoprostanes est un produit terminal issu de la peroxydation de l'acide arachidonique. L'isoprostane-F2 α et le 4-HNE peuvent être utilisés comme marqueurs dans le suivi de pathologies (Signorini *et al.*, 2013) ou suivi le suivi de traitements (Hockenberry *et al.*, 2014). Les AGPI sont aussi les constituants essentiels des LDL (Lipoprotéine de faible densité). L'oxydation des AGPI des LDL circulantes par les ER aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (Nakajima *et al.*, 2006). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages (Saad *et al.*, 2006).

✓ Les protéines

L'oxydation des protéines implique des acides aminés spécifiques entraînant la dégradation de la protéine. Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ER. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'une acide amine provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts dityrosines intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées peuvent former des agrégats qui s'accumulent à l'intérieur des cellules ainsi que dans le compartiment extracellulaire (Haleng *et al.*, 2007). Il existe différents types d'oxydation :

-Attaque directe : c'est la fragmentation des protéines et formation de produits carbonyles. Ainsi la fragmentation de l'arginine aboutit à la formation de semi-aldéhyde glutamique. Ces produits de fragmentation sont impliqués dans des maladies liées à des dysfonctionnements de neurotransmetteurs comme l'épilepsie (Wong *et al.*, 2003; Pearl *et al.*, 2007).

-Lipo-oxydation : c'est la réaction d'une protéine avec un aldéhyde produit au cours de la réaction de peroxydation lipidique (MDA, 4-HNE). L'accumulation de lipoprotéines oxydées au niveau de la paroi vasculaire et un dysfonctionnement endothélial favorisent l'athérosclérose (Nakajima *et al.*, 2006).

-Glyco-oxydation : il s'agit de réactions en plusieurs étapes dans lesquelles le glucose réagit avec les protéines selon un processus non enzymatique (réaction de Maillard), puis subit diverses oxydations. Les produits de ces réactions sont appelés produits de glycation avancée (AGE) dont la pentosidine et la Ne-carboxyméthyllysine (Hayase *et al.*, 1996). Ainsi, dans le cas du diabète de type 2, l'hyperglycémie conduit à renforcer le taux de ce type de réactions, induisant d'une part divers pontages entre protéines (par l'intermédiaire de la pentosidine) et d'autre part la production d'ER *via* la formation de produits de glycation avancée. Les ER en excès vont alors altérer la paroi des vaisseaux et induire des complications vasculaires telles que les micros et macros angiopathies (Gillery, 2001).

Les produits d'oxydation des protéines peuvent être déterminés par plusieurs méthodes spécifiques et en particulier par le dosage des protéines carbonylées et/ou les dityrosines.

✓ L'acide desoxyribonucleique

L'acide desoxyribonucleique (ADN) peut dans son ensemble réagir avec les ER, surtout avec le radical hydroxyle. Cette réaction peut endommager les bases puriques et pyrimidiques mais aussi le désoxyribose (Halliwell et Gutteridge, 1990). L'ADN mitochondrial est plus sensible aux ER que l'ADN nucléaire. Ceci est dû au faible niveau des systèmes enzymatiques de réparation qui opèrent au niveau des mitochondries, comparativement au génome nucléaire (Stevnsner *et al.*, 2002). Les réactions d'oxydation de l'ADN peuvent être classées en deux catégories :

-Oxydation directe : elle est le plus souvent due au radical hydroxyle et au peroxydinitrite qui entraînent des lésions des bases purines et pyrimidines (Cadet *et al.*, 1999). Le plus abondant des produits d'oxydation de l'ADN est la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) issue de l'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle (Helbock *et al.*, 1999).

-Lipo-oxydation : les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique (MDA, 4-HNE) peuvent réagir avec le groupement amine des bases de l'ADN et constituer une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN (Marnett, 1999; Nair *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2003).

Les modifications de l'ADN dues aux ER peuvent être corrigées dans l'organisme par des enzymes de réparation, non spécifiques des dommages oxydatifs, qui reconnaissent les anomalies de l'ADN et les éliminent par excision et resynthèse (Poulsen, 2005). Lorsque ces enzymes de réparation sont débordées, les dommages oxydatifs de l'ADN seront à l'origine de graves altérations du matériel génétique pouvant générer des cancers ou entraîner une mort cellulaire (Nair *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2003; Valko *et al.*, 2006).

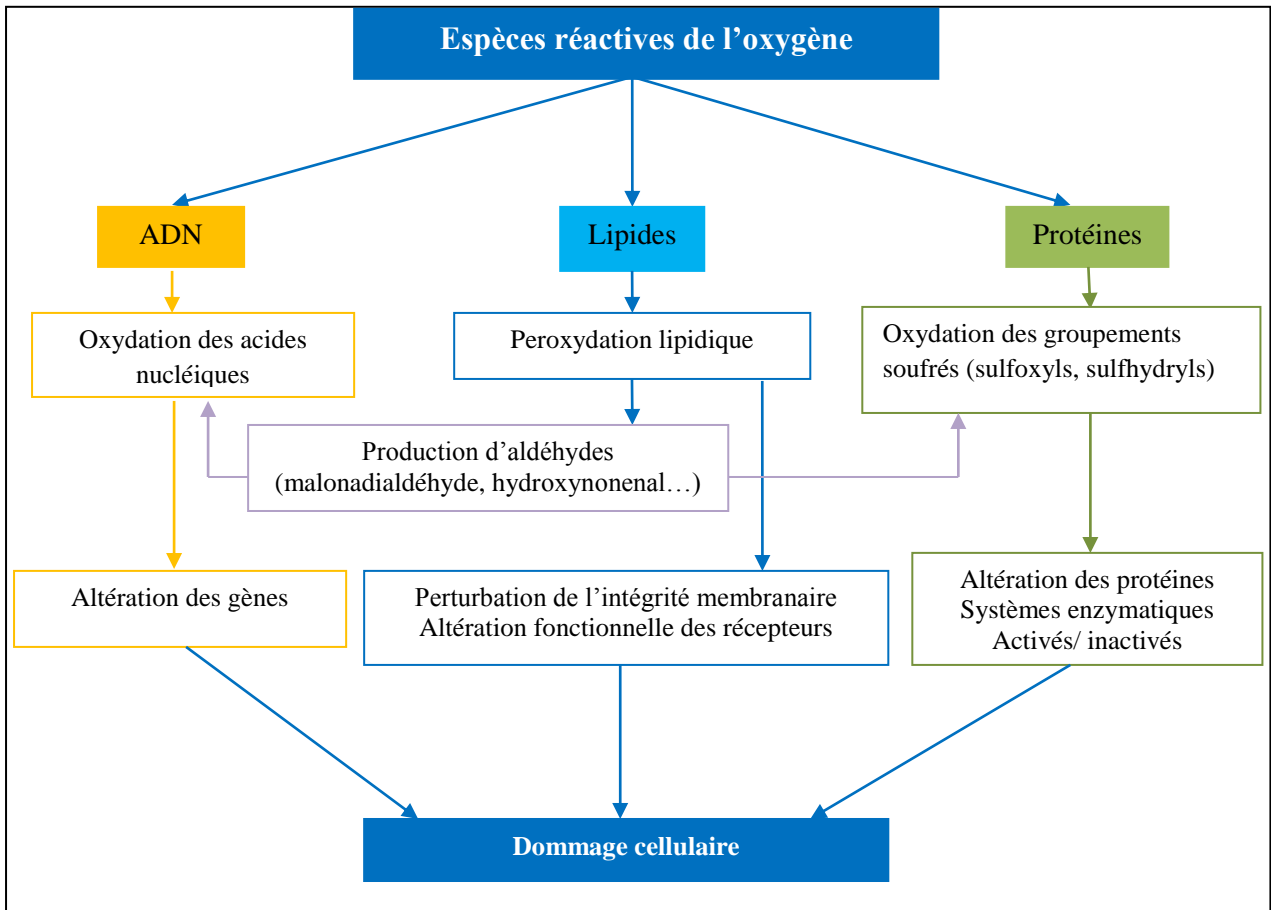


Figure 07 : Effets des espèces réactives sur l'ADN, les lipides et les protéines (Valko et *al.*, 2007).

I.7.3. Les antioxydants

Les espèces réactives sont produites de façon continue au sein de l'organisme. Pour se protéger de leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde considérablement ou inhibe l'oxydation de ce substrat (Halliwell et Gutteridge, 1990). Il a pour rôle d'empêcher la formation d'espèces réactives en excès, de permettre leur élimination ou bien de réparer les dégâts causés. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une provenant de l'alimentation (fruits et légumes) et l'autre étant endogène.

I.7.3.1. Les antioxydants endogènes

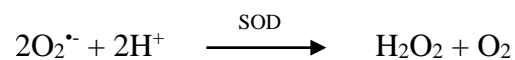
Les antioxydants endogènes sont soit enzymatiques (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) soit non enzymatiques (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine, oligoéléments, etc.).

✓ Les antioxydants endogènes enzymatiques

Les principales enzymes antioxydantes sont : la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT). A côté de ces dernières, il existe d'autres enzymes (hème oxygénase 1, NADPH quinone oxydoréductase 1, thioredoxines, etc.) ayant également des propriétés antioxydantes.

a) Les superoxydes dismutases

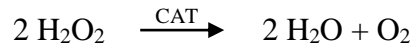
Les SOD sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.



Elles constituent une première ligne de défense très efficace en empêchant l'accumulation cellulaire d'anion superoxyde. Il existe trois isoformes de SOD qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique. Il s'agit de : i) la Cu/Zn-SOD1, associée aux ions cuivre et zinc, localisée dans le cytosol et la membrane mitochondriale; ii) la Mn-SOD2, associée au manganèse, localisée dans la mitochondrie et iii) la Cu/Zn-SOD3, de localisation extracellulaire (Sentman *et al.*, 2006).

b) La catalase

La catalase (CAT) catalyse la dismutation du H₂O₂ en H₂O et O₂ empêchant ainsi la formation de radical hydroxyle.



Elle permet également d'oxyder différents substrats, tels que les phénols et les alcools par une réaction utilisant le peroxyde d'hydrogène :



C'est une enzyme héminique particulièrement abondante dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Elle possède un turnover important. Une molécule de CAT peut convertir en une minute environ 6 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (Valko *et al.*, 2006). Son affinité pour l'H₂O₂ est élevée lorsque les taux de H₂O₂ sont élevés (Powers et Leeuwenburgh., 1999). Son activité catalytique est réduite dans le cerveau et le myocarde (Scholz *et al.*, 1997). Le rôle de la CAT dans l'élimination de H₂O₂ peut être complété par l'action des GPx.

c) Les glutathions peroxydases

La glutathion peroxydase (GPx) est une sélénoprotéine possédant 5 isoformes : i) la GPx1, la plus fréquente, est présente dans le cytoplasme et la mitochondrie; ii) la GPx2 dite gastro-intestinale; iii) la GPx3 présente au niveau plasmatique; iv) la GPx4 située à l'interface de la membrane interne et du cytoplasme et v) la GPx5 localisée dans l'épididyme (Mates *et al.*, 1999; Comhair, 2002).

La GPx réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action des ER sur les AGPI. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Alors que la GPx catalyse la dismutation d'H₂O₂ en eau et en oxygène moléculaire, le GSH est oxydé en GSSG (Mates *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 2008).

✓ **Les antioxydants endogènes non enzymatiques**

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique, bilirubine) (Kohen et Nyska, 2002). Des protéines telles que la ferritine, la ceruloplasmine et l'albumine contribuent à la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant ainsi de prévenir la formation du radical hydroxyle via la réaction de fenton (Halliwell et Gutteridge, 1990).

I.7.3.2. Les antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes nous sont apportés par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, flavonoïdes, et en oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Defraigne et Pincemail, 2008).

I.8. Le stress oxydant et la santé

Le processus de fonctionnement de l'organisme génère régulièrement des ER qui, dans les conditions normales lui sont utiles. Mais quand les ER sont produits en grande quantité, de sorte que le système antioxydant de l'organisme soit dépassé, il s'en suit un stress oxydant. De nombreuses pathologies, impliquant le stress oxydant au cours de leur développement, ont été recensées : i) la peroxydation des lipides sera à l'origine des MCV liées à l'athérosclérose, ii) l'oxydation de l'ADN pourra éventuellement générer des cancers, iii) leur implication dans les processus inflammatoires se manifeste dans diverses pathologies: vasculaires (Diabète, Athérosclérose, Cardiomyopathies), neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), rhumatoïdes (Arthrite, Sclérose amyotrophique), broncho-pulmonaires (Asthme, Syndrome respiratoire, Fibroses pulmonaires, Emphysème), gastro-intestinales (Colites, Maladie de Crohn) (Dröge, 2002; Valko *et al.*, 2007; Haleng *et al.*, 2007).

Objectifs

L'huile d'olive est un élément clé du régime méditerranéen. Très présente dans l'alimentation des pays méditerranéens et préconisée par de nombreux diététiciens, elle a acquis une place essentielle dans la recherche sur ses propriétés médicinales et cosmétiques.

Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable .

L'huile d'olive vierge peut être consommée crue dans des salades et d'autres produits alimentaires, mais elle est également consommée après le chauffage domestique, comme la friture, l'ébullition et le chauffage aux micro-ondes.

La friture est l'une des méthodes de préparation des aliments les plus populaires dans le monde et, au cours de ce processus, des réactions hydrolytiques, oxydatives et thermiques, conduisant à la formation de produits oxydés et polymérisés qui pourraient être indésirables d'un point de vue nutritionnel.

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude consiste à évaluer l'effet du temps de chauffage sur la qualité de l'huile d'olive vierge. Cette huile qui est utilisée par les ménages et dans l'industrie alimentaire pour la préparation des aliments, notamment des frites. Nous avons étudié l'influence de l'augmentation de la température sur la qualité de cette huile par une caractérisation de leurs compositions « l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'indice d'iode, la teneur en chlorophylles et la teneur en caracides gras ». Ces paramètres ont été réalisés selon les normes du Conseil Oléicole International.

Pour mettre en évidence les effets nutritionnels des huiles végétales thermo-oxydées nous avons entrepris cette étude dont l'objectif consiste en une évaluation de la répercussion de la consommation de huile d'olive vierge thermo-oxydée chez les lapins :

- sur le statut antioxydant par l'évaluation du niveau de défense antioxydant à travers la détermination de l'activité de la catalase, GSH et GST au niveau du foie
- sur la peroxydation lipidique par le dosage de MDA hépatique
- sur le profil lipidique par le dosage du CT, des TG, du LDL et HDL.

MATERIEL ET METHODES

II. matériel et méthodes

Le chapitre matériel et méthodes de cette thèse comporte 2 sections décrivant les procédures expérimentales mises en œuvre pour l'évaluation de l'effet de la température sur la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive, ainsi que l'effet toxique de la consommation de cette huile thermo-oxydée.

II.1. l'huile d'olive utilisée

L'huile d'olive vierge utilisée lors de la réalisation de notre travail provient d'une huilerie traditionnelle « ELHAJRA » située dans un village à Medjez Sfa à 45km de Guelma. C'est une huile extraite par première pression à froid. Les olives triturées sont de variété blanquette. Cette huile provient de la campagne oléicole 2015/2016. Cette variété à huile représente environ 20 % du verger oléicole de l'Est algérien. Elle est localisée surtout dans la région de Guelma et s'étend de l'oued El Kebir à la Tunisie. Les types de Blanquettes se confondent par des caractères constants avec la variété Chetoui du nord de la Tunisie.

Ces variétés ont été surtout répandues par greffage depuis la colonisation. Ses fruits mûrissent plutôt tard et sont employés pour la production d'huile et la préparation d'olives vertes. Leur teneur en huile est réduite. Leur taille varie fortement et leur pulpe se sépare difficilement du noyau. C'est une variété résistante au froid et moyennement tolérante à la sécheresse. La variété Blanquette se caractérise par des fruits de taille importante, avec un endocarpe de forme allongée à sommet pointu. Les feuilles elliptiques lancéolées de longueur moyenne et de largeur réduite (Benrachou, 2013).

II.1.1. Procédés d'oxydation de l'huile d'olive vierge

Des échantillons d'huile d'olive ont été distribués dans 4 récipients gradués de 1l en verre puis chauffés par la méthode classique de friture profonde (Guillaumin, 1973), pendant respectivement 1, 2, 3 et 4 heures, pendant 30 jours consécutive à raison d'un traitement par jour, en absence d'aliment et sans protection contre l'oxygène de l'air avec la même quantité et la surface d'échange de l'huile avec l'air. Les températures des huiles après chaque temps de chauffage sont mesurées à l'aide d'une sonde à résistance avec un thermocouple. Qui sont respectivement $91^{\circ}\text{C} \pm 1,02$, $183^{\circ}\text{C} \pm 0,93$, $222^{\circ}\text{C} \pm 1,23$ et $274^{\circ}\text{C} \pm 1,56$. Cette gamme chauffage a été choisie en rapport avec les usages quotidien. Les prélèvements sont faits avant chauffage, puis dès que l'huile atteint le temps de chauffage ciblé.

II.1.2. Indices analytiques de l'huile d'olive vierge

Afin d'étudier l'effet de thermo-oxydation sur le comportement de l'huile d'olive vierge, nous avons mesuré les indicateurs de qualité suivants :

- **L'acidité**

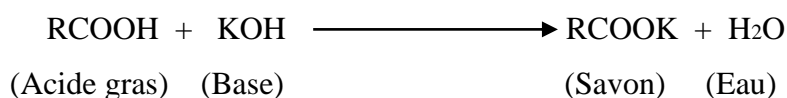
L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres contenus dans un corps gras, par convention, elle s'exprime en pourcentage d'acide oléique pour les huiles d'olive.

L'indice d'acide représente le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres dans 1g de corps gras. Il est exprimé en mg/g.

La détermination de l'acidité des huiles a été effectuée conformément à la norme A.F.N.O.R, (1981) dont le principe est le suivant :

On met en solution une prise d'essai dans un mélange de solvant (éthanol/éther diéthylique), puis en titre les acides gras présents à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium en présence de la phénolphthaléine comme indicateur coloré.

Le principe de la détermination de l'acidité d'une huile consiste en un dosage acidobasique correspondant à la neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant :



Expression des résultats :

$$\text{Acidité (\%)} = \frac{m \times 1000}{N \times V \times 282,5} \times 100$$

m : Masse de la prise d'essai en gramme ;
N : Normalité de la solution d'hydroxyde de potassium en eq.g/l;
V : Volume de titrage en ml ;
282.5g/mol : Masse molaire de l'acide oléique.

- **Indice de peroxyde (IP)**

L'indice de peroxyde d'un corps gras représente le nombre de microgramme d'oxygène actif présent dans 1g de matière grasse. L'oxygène actif est l'oxygène existant sous forme de peroxyde, d'hydroperoxyde ou d'époxyde dans une matière grasse. Il est déterminé conformément à la norme A.F.N.O.R, (1981) dont le principe est le suivant :

Une prise d'essai est mise en solution dans un mélange d'acide acétique et de chloroforme, traitée ensuite par une solution d'iodure de potassium. On titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon (indicateur coloré).

L'indice de peroxyde en milliéquivalent d'O₂/kg est calculé selon l'équation :

$$\mathbf{IP} = \frac{V - V'}{m} \times N \times 1000$$

V : Le volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai ;

V' : Le volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc ;

N : La normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisé ;

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

- **Indice d'iode (II)**

L'indice d'iode d'un corps est la masse d'iode, exprimée en gramme. Il permet d'évaluer le degré d'insaturation. Pour déterminer l'indice d'iode, nous avons appliqué la méthode **ISO 3961**(NA, 1990).

- **Dosage quantitatif des chlorophylles**

L'analyse des pigments colorants n'est pas exigée par les normes de commercialisation de l'huile d'olive, cependant la couleur est un attribut de base pour déterminer les caractéristiques de l'huile d'olive elle est par contre associée par la plupart des consommateurs à la notion de qualité (Benrachou, 2013). Deux sortes de pigments dans l'huile d'olive : les chlorophylles et les caroténoïdes (Benrachou, 2013).

En raison de leur caractère anti-oxydant dans l'obscurité et pro oxydant dans la lumière, semblent jouer un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile au cours de son stockage et dans la préservation de sa qualité (Tanouti *et al*, 2011).

La détermination de la teneur en pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive est effectuée selon la méthode décrite par Wolff (1968) et 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 chlorophylles est calculée selon la formule suivante :

$\text{Chlorophylle (ppm)} = \frac{A_{670} - (A_{630} + A_{710}) / 2}{0.1086 \times L}$	<ul style="list-style-type: none"> • A630 : absorbance à 630 nm • A670 : absorbance à 670 nm • A710 : absorbance à 710 nm • L : trajet optique = 1 cm • 0,1086 : coefficient lié au spectrophotomètre utilisé. chlorophylle dans l'huile
---	--

II.1.3. Analyse chromatographique en phase gazeuse des acides gras

La détermination de la composition des acides gras des huiles végétales testées dans le présent travail a été réalisée au niveau du centre de recherche de biotechnologie (CRBT), Constantine, Algérie. Pour la détermination de la composition en acides gras l'appareil utilisé est: Chromatographie gazeuse couplé à la spectroscopie de masse modèle GC 7890B MSD 5971A Agilent technology, colonne DB Wax. Les séparations sont effectuées sur un agilent colonne capillaire en silice fondue (30 m 0,25 mm i.d; 0,25 mm épaisseur du film). La température de l'interface GC – MS est maintenue à 210 C. Un microlitre d'échantillon non chauffé est injecté manuellement en mode sans division avec le port d'injecteur température à 200° C. Le débit de gaz vecteur d'hélium est 1 ml / min. le programme de température de colonne est le suivant: 90 ° C, tenue pendant 1 min; 12° C / min à 150° C, tenue pendant 1 min; 2° C / min à 210° C, maintenu pendant 3 min; et 10° C / min à 210 °C, tenue pendant 25 min. Le mode ionique sélectif est utilisé en analyse. Le temps de rétention et l'abondance des ions de confirmation relatifs à celle des ions de quantification sont utilisés comme critères d'identification. Le bouton de démarrage et l'injection d'un échantillon sont synchronisés pour avoir des valeurs RT cohérentes. La masse à la plage de charge est comprise entre 50 et 500 amu. Un programme de température du four est utilisé pour maintenir la température entre 50 et 210 C. Les spectres sont enregistrés sur un ordinateur interfacé. La même procédure est répétée pour chaque échantillon.

L'identification de composés est réalisée à l'aide de la base de données de spectre de masse National Institute of Standards and Technology(NIST), regroupant les spectres de plus de 100 000 composés

II.2. Modèle biologique

L'essai a eu lieu sur 30 lapins adultes répartis en 5 lots en raison de 6 lapins par lot. Ces animaux sont d'une population locale algérienne, (*Oryctolagus cuniculus domesticus*) provenant d'un élevage cunicol fermier traditionnel et d'un poids moyens de $1813g \pm 30,53 g$. Les caractéristiques et classification des lapins *Oryctolagus cuniculus domesticus* sont

Type de la classification	Lapin
Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Classe	Mammifères
Super ordre	Glires
Ordre	Lagomorphe
Famille	Léporidés
Genre	<i>Oryctolagus</i>
Espèce	<i>Oryctolagus Cuniculus</i>

Les lapins mis dans des cages métalliques (EXTRONA), sont maintenus dans une animalerie bien aérée, à température ambiante variant entre 18 et 21 C° et avec un éclairage de 8 à 12 heures par jour. Le nettoyage des cages et de l'animalerie est assuré au quotidien. Les cages utilisées sont des cages métalliques, équipées chacune d'une mangeoire en quart de cercle et d'un abreuvoir. Les lapins ont été répartis selon leur poids corporel en cinq lots de six lapins.

Ils ont été nourris, avec le même aliment granulé commercial à base de luzerne déshydratée (40%), d'orge (30%), de soja (5%), de maïs (20%), et des minéraux et vitamines (5%). L'eau est fourni ad libitum aux animaux et renouvelée quotidiennement.

Des essais de toxicité à court terme (4 semaines) ont été effectués sur les lapins pour l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée. Les régimes expérimentaux utilisés comportent, soit de l'huile d'olive vierge non chauffée, soit de l'huile d'olive vierge chauffée en raison de 15 g comme suit :

Lot témoin : comprend les lapins témoins qui ont reçu quotidiennement une huile d'olive vierge non chauffée. Les groupes expérimentaux qui étaient

Lot A : des lapins qui ont reçu quotidiennement une huile d'olive chauffée pendant 1 heure,

Lot B : des lapins qui ont reçu quotidiennement une huile d'olive chauffée pendant 2 heures.

Lot C : des lapins qui ont reçu quotidiennement une huile d'olive chauffée pendant 3 heures

Lot D: des lapins qui ont reçu quotidiennement une huile d'olive chauffée pendant 4 heures

Tous les lapins ont été soumis pendant une période pré-expérimentale d'adaptation durant une semaine au régime identique à celui décrit précédemment et soit un régime avec une huile d'olive vierge fraîche préparé en mélangeant 15 g de d'huile d'olive fraîche avec 85 g d'aliment, soit un régime avec une huile d'olive vierge oxydée préparé en mélangeant 15 g de cette huile oxydée avec 85 g de l'alimentation.

Le poids des lapins et la consommation d'aliment sont enregistrés quotidiennement pour la période de 30 jours.

II.3. Sacrifices et prélèvements du sang et des organes

Après quatre semaines de traitement, les lapins ont été anesthésiés avec une injection intramusculaire de chlorhydrate de kétamine (35 mg / kg) et xylazine (5 mg / kg), puis sacrifiée. Le sang est obtenu par la veine jugulaire, après décapitation. Il est récupéré dans des tubes sec, puis centrifugé à 3500tr/ min pendant 15 minutes. Le surnageant est par la suite aspiré à l'aide d'une micropipette, aliquoté dans des tubes eppendoffs et conservés à - 20°C jusqu'au moment des dosages. Après dissection, Le foie de chaque lapin a été récupéré soigneusement et pesé après l'élimination des tissus supplémentaires. Après la dissection, le foie, est prélevé, rincés dans une solution de chlorure du sodium (NaCl) à 0.9%, pesées puis maintenu à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

II.4 analyses biochimiques

II.4.1. Profile lipidique plasmatique

II.4.1.1. cholestérol total (CT)

La méthode de dosage est enzymatique décrite par Allain (1974), selon le schéma réactionnel suivant :

Cholestérol estérase

Ester de cholestérol + H₂O ----->cholestérol libre + acide gras

Cholesterol oxydase

Cholestérol libre + O₂ -----> cholesténone-4-one-3 + H₂O₂

Peroxydase

H₂O₂ + phénol +Amino-4-antipyrines ----->Quinoneimine rose

L'absorbance du complexe coloré (quinonéimine) proportionnel à la concentration en cholestérol dans l'échantillon, est mesurée à nm.

La concentration (C) du cholestérol sérique est calculée à partir de la formule suivante :

$$C = \frac{(A)Echantillon}{(A)Standard} \times (Cstandard)$$

Où C : est une solution standard de cholestérol à 2g/l.(5.17 mmol/l)

II.4.1.2. Triglycéride (TG)

La méthode utilisée pour doser les triglycérides dans le sang est celle de Fossati et *al.*, (1982) couplée à une réaction de Trinder, 1969. Le schéma réactionnel suivant :

Lipoprotéine lipase

Triglycéride -----> Glycérol + Acide gras

Glycerol kinase, Mg²⁺

Glycérol + ATP ----->Glycérol-3-Phosphate + ADP

Glycérol-3-phosphate oxydase

Glycérol-3-phosphate + O₂----->H₂O₂ + Dihydroxyacétone-Phosphate

Peroxydase

H₂O₂ + Amino-4-Antipyrine + chloro-5-phénol -----> Quinone rose + H₂O

La concentration (C) de l'échantillon en triglycérides est calculée à partir de la formule suivante :

$$C = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{standard}} \times (C \text{ standard})$$

II.4.1.3. HDL - Cholestérol

Les Lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et faible densité (LDL) du sérum ou plasma se précipitent avec le phosphotungstate en présence d'ions magnésium. Après leur centrifugation, le surnageant contient les lipoprotéines de haute densité (HDL). La fraction de cholestérol HDL est déterminée en employant le réactif de l'enzyme cholestérol total. (Grove, 1979).

$$\text{HDL} = \frac{\Delta \text{ Abs Dosage}}{\Delta \text{ Abs Etalon}} \times \text{X concentration du calibrant}$$

II.4.1.4. LDL- Cholestérol

Le cholestérol LDL est déterminé à partir des taux du cholestérol total, du cholestérol HDL et des triglycérides par la formule modifiée par Friedwald *et al.*, (1972)

$$\text{C-LDL} = \text{Cholestérol total} - ((\text{TG} / 5) + \text{C-HDL})$$

II.4.2. paramètres biochimiques du stress

II.4.2.1. Lipides hépatiques

Les lipides ont été déterminés selon la méthode de Golds wothey *et al* (1972).Le dosage est effectué sur des fractions aliquotes de 100µl des extraits lipidiques (surnageant II) ou de la gamme étalon, auxquelles on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré.

Après agitation, les tubes sont chauffés au bain marie pendant 10min à 100°C. Une fois refroidi, on prélève 200µl de chaque tube auquel on ajoute 2,5ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique et on laisse 30 min dans l'obscurité. Les densités optiques DO ont été lues dans le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530nm contre un blanc de gamme.

II.4.2.2. Les protéines totales hépatiques

Les protéines tissulaires ont été quantifiées selon la méthode colorimétrique de Bradford (1976) qui utilise le Bleu Brillant de Coomassie G250 (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de boeuf (BSA) comme standard. Le BBC réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines qui est mesurée spectrophotométriquement à 595nm.

II.4.3. Les biomarqueurs du stress oxydant

II.4.3.1. L'activité Catalase (CAT)

- **Préparation de l'homogénat** : le dosage de l'activité enzymatique du CAT a été fait au niveau du foie., 500 mg du tissu ont été mis en présence de 5 mL d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat, ce dernier est centrifugé à 5000 tours/min pendant 15 minutes.

Principe : la méthode utilisée dans le dosage de l'activité enzymatique du CAT est celle d'Aebi (1984). La CAT catalyse la destruction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. L'activité du CAT a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du H₂O₂ à une température d'incubation de 25 °C.

Calcul de l'activité enzymatique du CAT : L'activité de la CAT exprimée en micromoles de H₂O₂ par minute par milligramme de protéines (µmol de H₂O₂/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}) = \frac{\Delta \text{DO} \times d}{\varepsilon \times X \times L \times 0.02}$$

- ΔDO : variation de la densité optique par minutes
- d : dilution de l'échantillon au début ;
- ε : Coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée,

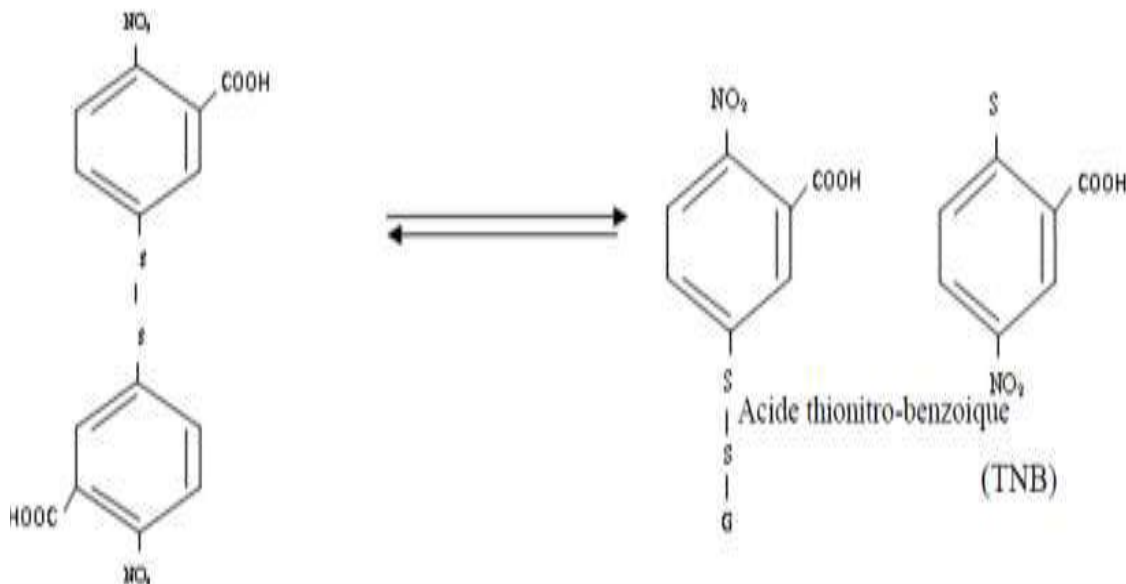
$$\varepsilon_{\text{H}_2\text{O}_2} = 0.04 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

- L : Trajet optique de la cuve = 1 cm ;
- X : Concentration de protéines en mg/ml.

II.4.3.2. Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion est un thiol intracellulaire le plus abondant présent dans toutes les cellules animales.

Principe : Pour le dosage du glutathion, la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) est la méthode la plus employée (Ellman, 1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5' dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel présente une absorbance à 412 nm selon la réaction d'Ellman suivante :



$$\text{GSH} = \frac{\text{DO} \times \text{L} \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg prot}}$$

- DO : Densité optique ;
- L : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation ;
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant ;
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm ;
- 0.8 : Volume de l'homogénat ;
- 0.5 : Volume du surnageant.

II.4.3.3. Glutathion S-transférase (GST)

Préparation de l'homogénat : le dosage de la glutathion S-transférase a été fait au niveau du foie. 500 mg du tissu ont été mis en présence de 5 ml d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

Principe : la mesure de l'activité des GST a été réalisée par la méthode de Habig et al. (1974), celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugué facilement avec glutathion sous l'action de nombreuses formes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

L'activité de la GST exprimée en nanomoles de C-DNB par minute par milligramme de protéines (nmol C-DNB/min/mg prot) (Habig et al., 1974) selon la formule suivante :

$$\text{GST (nmol/min/mg prot)} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO Blanc}}{\epsilon \times \text{L} \times \text{mg prot}}$$

DO échantillon – DO blanc : DO des échantillons par minute – DO des Blancs par minute ;

- ϵ : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, $\epsilon_{\text{C-DNB}} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;
- L : Trajet optique de la cuve = 1cm.

II.4.3.4. Malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (ADPI) méditées par les radicaux libres.

Le niveau de peroxydation lipidique a été évalué en mesurant le malondialdéhyde avec le test TBA (thiobarbituriques acide) selon la méthode de Draper et Hadley (1990). Le test TBA est le test le plus couramment utilisé pour déterminer indirectement la peroxydation des lipides, en mesurant le MDA.

On calcule la concentration de MDA exprimé en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$C = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot \chi \cdot L \cdot Fd}$$

- C : Concentration de MDA en nmoles/mg de prot ;
- DO : Densité optique lue à 532 nm ;
- ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA, $\epsilon_{MDA} = 1.55 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- L : Longueur du trajet optique;
- χ : Concentration du surnagent en protéines (mg/ml) ;
- Fd : Facteur de dilution, Fd = 0.2083.

II.5 Analyses statistiques

Tous les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart-type (n = 3). Une analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour évaluer l'effet des variations des différentes conditions expérimentales. Si un effet significatif était retrouvé, l'ANOVA était suivie d'un test post-hoc à comparaison multiple de Tukey-post hoc Des différences statistiques significatives ont été prises en compte lorsque le $p < 0,05$ et des différences très significatives ont été prises en compte lorsque le $p < 0,001$. En utilisant le logiciel SPSS version 16.0 pour identifier les différences entre les groupes (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Indices de qualité de l'huile d'olive vierge

Le tableau 5 intègre les résultats des indices de qualité de l'huile d'olive vierge utilisée dans notre étude avant et après le traitement thermo-oxydatif.

- **L'Acidité**

les résultats montrent que l'acidité de l'huile d'olive non chauffée a une valeur de 2,08% ce qui permet de la classer dans la catégorie de l'huile d'olive vierge ordinaire telle qu'elle est définie par les normes internationales. Pour le pourcentage de l'acidité des huiles chauffées pendant 2h, 3h et 4h on a noté une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport aux valeurs enregistrés chez l'huile d'olive vierge non chauffée. Les valeurs de l'acidité sont comprises entre 7,23% et 12,23% et dépassent les limites établies par le Conseil Oléicole International (COI) (2003), qui se situent entre 1 et 3,3%. Tandis que les échantillons analysés de l'huiles d'olive vierge chauffée pendant 1 heure présentent un taux d'acidité légèrement supérieure à 3,3% « la limite permise par la norme du COI ».

L'étude statistique relative à la comparaison de la variation de l'acidité libre des différentes huiles d'olive vierges chauffées, a révélé l'existence de différences significatives par rapport à l'huile d'olive vierge non chauffée ($p < 0,001$).

- **L'indice de peroxyde (IP)**

L'IP est un critère de qualité il permet de voir l'état d'oxydation des huiles et de contrôler les premières étapes de l'altération oxydative.

On remarque que l'IP pour les échantillons de l'huile d'olive chauffées pendant 1h et 2h, oscille entre 8.55 et 15.34 meq O₂/ kg d'huile ce qui indique une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport à l'huile non chauffée qui représente une valeur d'indice de peroxyde de 7,68 meq O₂/ kg. Mais ces valeurs restent inférieures à la limite établie par la norme commerciale du Conseil Oléicole International pour les huiles d'olives vierges qui fixe la valeur inférieure à 20 méq O₂ actif / kg d'huile olive.

Du point de vue de l'oxydation, les valeurs des indices de peroxydes obtenues pour l'huile d'olive vierge chauffée pendant 3h et 4h sont supérieures aux normes du codex alimentaire. Ce qui indique que ces huiles analysées sont oxydées.

- **Indice d'iode (II)**

On observe selon les résultats illustrés dans le tableau 5 une évolution décroissante de l'indice d'iode avec l'augmentation de la température. Cet indice est d'une valeur de 79,23 pour l'huile d'olive vierge non chauffée tandis qu'il diminue lors du traitement thermique pour obtenir une valeur de 35,67 après 4 heures de chauffage.

L'application du test d'ANOVA relatif à la comparaison de la variation de la l'indice d'iode en fonction du traitement thermique, a révélé la présence de différences significatives ($p < 0,05$)

Le tableau 5 montre également des valeurs très faibles d'indices d'iode de toutes les huiles chauffées analysées, comparées aux normes du codex.

- **Taux de chlorophylle**

Les chlorophylles sont des substances colorantes de l'huile d'olive, elles jouent un rôle important dans l'activité oxydante du produit. Selon les résultats du tableau 5 on constate une évolution décroissante du taux de chlorophylle avec l'augmentation de la température. L'huile d'olive vierge non chauffée a le plus grand taux de chlorophylle « 1,76 ppm ». Lorsque ces huiles ont été exposées à un temps de chauffage croissant, on remarque une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du taux de chlorophylle pour obtenir une valeur de 0,13ppm presque à 0 (transparent) chez l'huile d'olive vierge chauffée pendant 4 heures.

On déduit que les chlorophylles se dégradent sous l'effet de la température qui rend la teneur en chlorophylle très faible avec augmentation des risques d'oxydation des huiles.

Tableau 05 : Les variations de critères de qualité de l'huile d'olive chauffée et non chauffée

Le type d'huile	Huile d'olive vierge non chauffée	Huiles d'olive vierge chauffées			
		A	B	C	D
L'acidité (%)	2,08 ± 0.03 ^a	3,34 ± 0.02 ^b	7,23 ± 0.06 ^c	9,16±.001 ^d	12,23 ± 0.03 ^e
L'indice peroxyde IP (meqO₂/kg)	7,68 ± 1.02 ^a	8,55 ± 0.98 ^b	15,34 ± 0.87 ^c	21,46 ± 0.64 ^d	28.78 ± 0.4 ^e
L'indice d'iode II	79,23 ± 1.02 ^a	72,34 ± 1.98 ^b	68,45 ± 1.07 ^c	52,13 ± 1.98 ^d	35,67 ± 1.07 ^e
Taux de chlorophylle (ppm)	1,76 ± 0.4 ^a	1,04 ± 0.03 ^b	0,92 ± 0.3 ^c	0,43 ± 0.2 ^d	0,13 ± 0.1 ^e

A : huile d'olive vierge chauffée pendant 1h, **B** : huile d'olive vierge chauffée pendant 2h, **C** : huile d'olive vierge chauffée pendant 3h, **D** : huile d'olive vierge chauffée pendant 4h (Moyenne ± SD ; n = 3). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes.

III.1.2. Teneur totale en acides gras de l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée

III.1.2.1. Huile d'olive vierge non chauffée

L'analyse des chromatogrammes lipidiques obtenus figure (08), nous a permis d'établir le tableau (06) où sont consignées les valeurs chiffrées (%) des principaux AG détectés dans l'huile d'olive vierge non chauffée. Les acides gras déterminés ont été regroupés en acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés.

Le pourcentage d'acide gras majeur trouvé était l'acide oléique (C18: 1) pour une valeur de 62,08%, suivie par l'acide palmitique (C16: 0) avec 16,28% , l'acide linoléique (C18: 2), avec 9,97 %. Les valeurs obtenues à partir du profil chromatographique témoignent la richesse de cette huile d'olive vierge en acide oléique, palmitique et linoléique qui sont les composants majeurs.

Selon les résultats de la composition en acide gras de l'huile d'olive vierge de la variété blanquette, mentionnées dans le tableau 06, nous pouvons déduire selon l'importance des acides gras trois groupes classés comme suit :

- Les acides gras majeurs formés par l'acide oléique, palmitique et linoléique.
- Les acides gras mineurs dont les pourcentages obtenus pour la variété étudiée ne dépassent pas 4%, sont formés par l'acide Stéarique, Palmitoléique, Vaccinique
- Les acides gras présents à l'état de traces dont les pourcentages sont inférieurs à 0,2% formés par Myristique, Heptadécanoïque, Arachidique, Béhénique, Lignocérique, Heptadécénoïque, Gadoléique, Linoléinique.

Ainsi nous avons enregistré une teneur de 21,587% d'acides gras saturés (**AGS**) et 78,413% d'acides gras insaturés (**AGI**). Ces dernier sont répartis comme suit : 67,711% acides gras monoinsaturés (**AGMI**) et 10,62% acides gras polyinsaturés (**AGPI**).

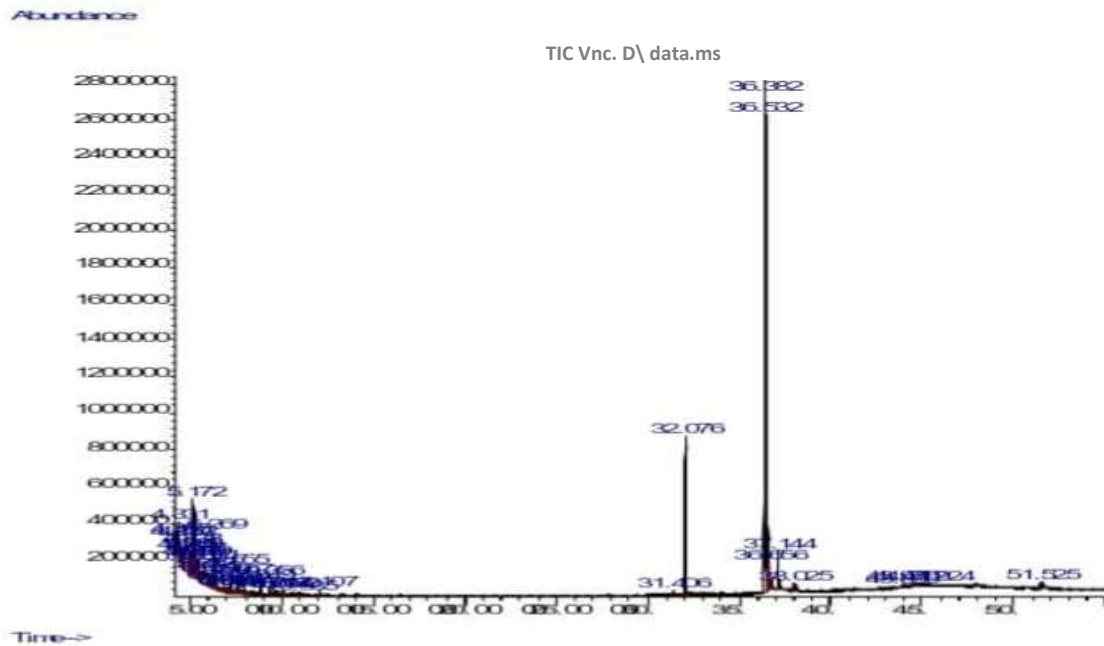


Figure 08: Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge non chauffée

Tableau 06: Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV non chauffée

Les Acides Gras		Teneur (%)
Acides gras saturés	Myristique C14:0	0,189± 0,002
	Palmitique C16:0	16,283±0,001
	Heptadécanoïque C17:0	0,173±0,000
	Stéarique C18:0	3,732±0,002
	Arachidique C22:0	0,673±0,000
	Béhénique C22:0	0,452±0,001
	Lignocérique C24:0	0,085±0,001
Acides gras mono insaturés	Palmitoléique C16:1	2,123±0,002
	Heptadécénoïque C17:1	0,189±0,002
	Oléique C18:1	62,087±0,001
	Vaccinique C18:1	3,081±0,000
Acide gras polyinsaturé	Gadoléique C20:1	0,231±0,000
	Linoléique C18:2	9,97±0,000
Acides gras trans	Linoléinique C18:3	0,732±0,000
	Elaidique C18:1	ND

III.1.2.2. Huile d'olive chauffée pendant 1 heure

L'analyse du chromatogramme lipidique obtenu (figure 09), nous a permis d'établir le tableau 07 où sont consignées les valeurs chiffrées (%) des principaux acides gras détectés dans l'huile d'olive vierge chauffée pendant 1h. Les acides gras déterminés ont été regroupés en acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés

On constate selon le tableau 07 que le traitement thermique de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette pendant 1 h n'a pas affecté la teneur en acides gras saturés de cette huile ($p > 0,05$) par rapport au témoin où nous avons enregistré une teneur en AGS de 21,57%

Le pourcentage d'acide gras majeur trouvé était l'acide oléique (C18: 1) pour une valeur de 60,43%, suivie par l'acide palmitique (C16: 0) avec 16,28% et l'acide linoléique (C18: 2), avec 8,47 %.

Selon ces résultats, nous avons remarqué une perte en AGI en particulier l'acide oléique et l'acide linoléique, les diminutions enregistrées respectivement sont de 2,65% et 15% par rapport au témoin. Quand à la teneur totale en AGI nous avons enregistré une valeur de 75,136% répartis comme suit : 65,996% **AGMI** et 9,14% **AGPI**

L'application du test d'ANOVA relatif à la comparaison de la variation de la teneur en acide gras en fonction du traitement thermique, a révélé la présence de différences significatives ($p < 0,05$) par rapport au témoin

Les changements dans la composition en AG de l'huile d'olive vierge après un traitement thermique d'une heure se traduit aussi par la diminution du rapport acide linoléique / acide palmitique (0,52) par rapport au témoin (0,61).

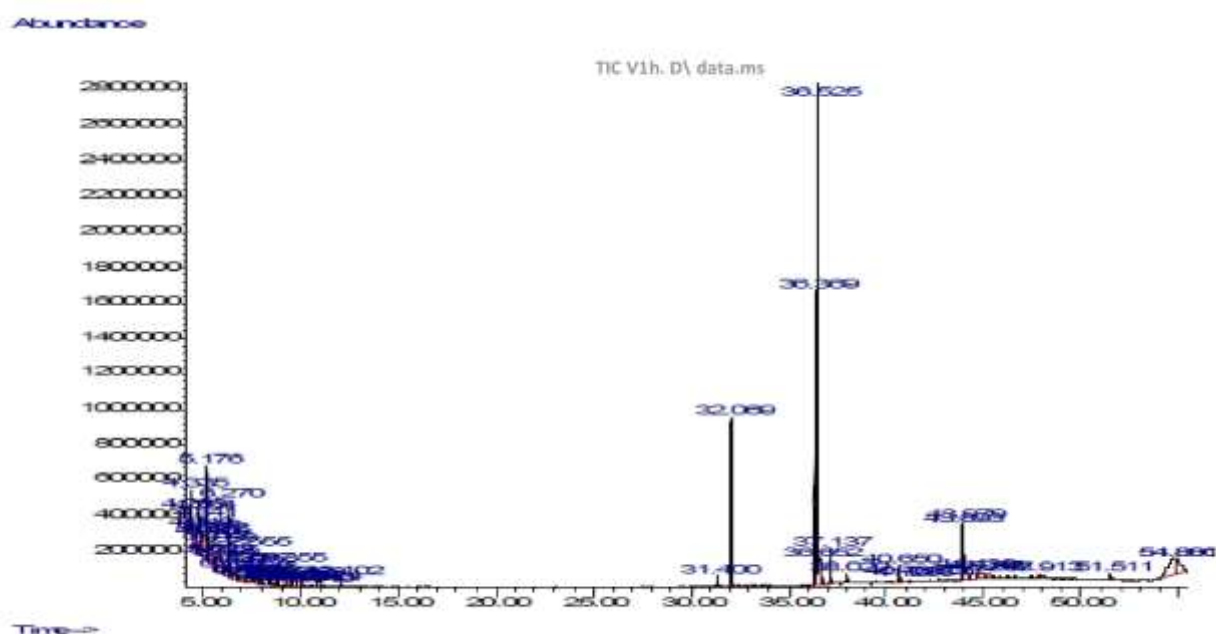


Figure 09: Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 1heure

Tableau 07: Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée pendant 1heure

Les Acides Gras		Teneur (%)
Acides gras saturés	Myristique C14:0	0,189±0,1
	Palmitique C16:0	16,282±0,01
	Heptadécanoïque C17:0	0,173±0,02
	Stéarique C18:0	3,706±0,1
	Arachidique C22:0	0,673±0,2
	Béhénique C22:0	0,452±0,1
	Lignocérique C24:0	0,082±0,01
Acides gras mono insaturés	Palmitoléique C16:1	2,104±0,02
	Heptadécénoïque C17:1	0,182±0,01
	Oléique C18:1	60,437±0,02
	Vaccinique C18:1	3,062±0,03
	Gadoléique C20:1	0,211±0,01
Acide gras polyinsaturé	Linoléique C18:2	8,473±0,02
	Linoléinique C18:3	0,667±0,2
Acides gras trans	Elaidique C18:1	ND

III.1.2.3. Huile d'olive chauffée pendant 2 heures

L'analyse du chromatogramme lipidique obtenu (figure 10), nous a permis d'établir le tableau 08 où sont consignées les valeurs chiffrées des principaux acides gras détectés dans l'huile d'olive vierge chauffée pendant 2h. Les acides gras déterminés ont été regroupés en acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés

Le pourcentage d'acide gras majeur trouvé était l'acide oléique (C18: 1) pour une valeur de 51,869%, suivie par l'acide palmitique (C16: 0) avec 16,28% et l'acide linoléique (C18: 2), avec 6,73 %.

On constate selon le tableau 08 que le traitement thermique de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette pendant 2 h n'a pas affecté la teneur en acides gras saturés de cette huile ($p > 0,05$) par rapport au témoin où nous avons enregistré une teneur en AGS de 21,57%

Par ailleurs, nous avons remarqué une perte en AGI en particulier l'acide oléique et l'acide linoléique, les diminutions enregistrées respectivement sont de 16,45% et 32,45% par rapport au témoin. Quand à la teneur totale en AGI nous avons enregistré une valeur de 64,406% répartis comme suit : 57,170% **AGMI** et 7,236% **AGPI**

L'application du test d'ANOVA relatif à la comparaison de la variation de la teneur en acide gras en fonction du traitement thermique, a révélé la présence de différences significatives ($p < 0,001$) par rapport au témoin

Les changements dans la composition en AG de l'huile d'olive vierge après un traitement thermique de 2h se traduit aussi par la diminution du rapport acide linoléique / acide palmitique (0,41) par rapport au témoin (0,61).

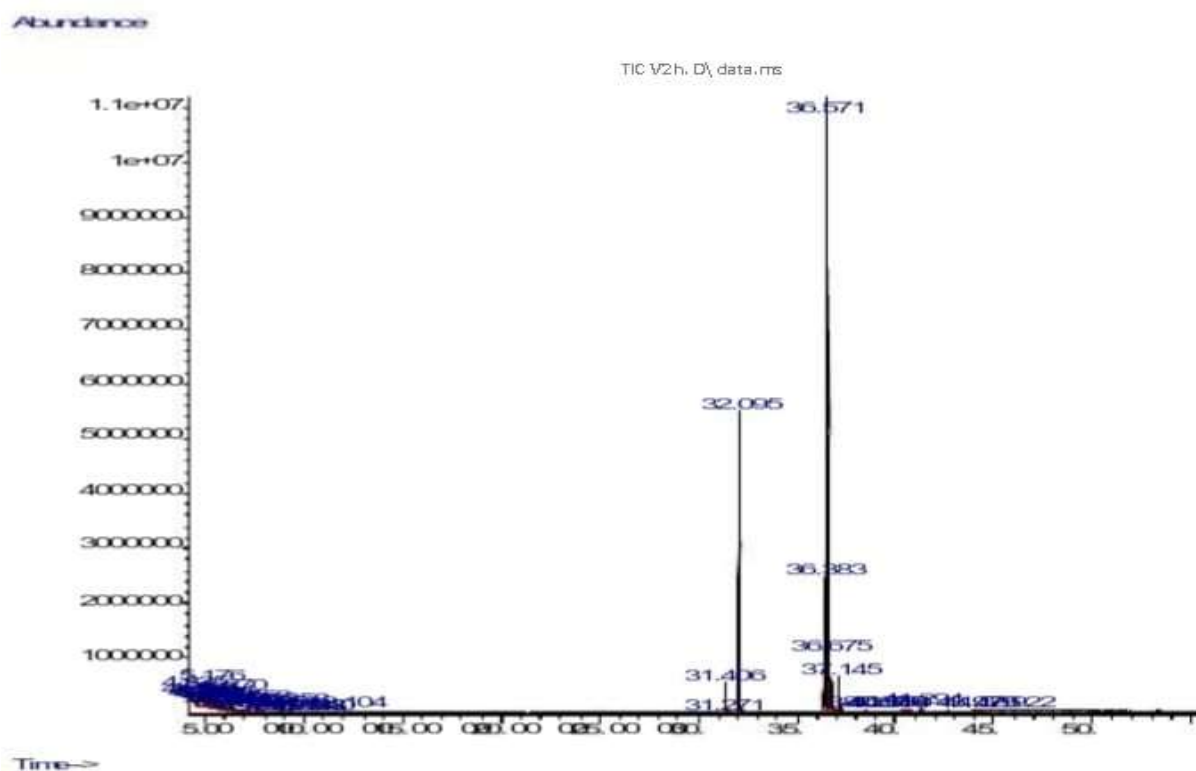


Figure 10: Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 2heures

Tableau 08: Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée pendant 2 heures

Les Acides Gras		Teneur(%)
Acides gras saturés	Myristique C14:0	0,189±0,001
	Palmitique C16:0	16,282±0,002
	Heptadécanoïque C17:0	0,170±0,004
	Stéarique C18:0	3,705±0,003
	Arachidique C22:0	0,671±0,003
	Béhénique C22:0	0,452±0,001
	Lignocérique C24:0	0,082±0,003
Acides gras mono insaturés	Palmitoléique C16:1	1,989±0,001
	Heptadécénoïque C17:1	0,153±0,02
	Oléique C18:1	51,869±0,001
	Vaccinique C18:1	2,983±0,004
	Gadoléique C20:1	0,176±0,003
Acide gras polyinsaturé	Linoléique C18:2	6,734±0,001
	Linoléique C18:3	0,502±0,002
Acides gras trans	Elaidique C18:1	ND

III.1.2.4. Huile d'olive vierge chauffée 3 heures

L'analyse du chromatogramme lipidique obtenu figure (11), nous a permis d'établir le tableau 09 où sont consignées les valeurs chiffrées des principaux acides gras détectés dans l'huile d'olive vierge chauffée pendant 3h. Les acides gras déterminés ont été regroupés en acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés

Le pourcentage d'acide gras majeur trouvé était l'acide oléique (C18: 1) pour une valeur de 32,278%, suivie par l'acide palmitique (C16: 0) avec 16,28% et l'acide linoléique (C18: 2), avec 4,33 %.

On constate selon le tableau 09 que le traitement thermique de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette pendant 3h n'a pas affecté la teneur en acides gras saturés de cette huile ($p > 0,05$) par rapport au témoin où nous avons enregistré une teneur totale en AGS de 21,56%.

Par ailleurs, nous avons remarqué une perte en AGI en particulier l'acide oléique et l'acide linoléique, les diminutions enregistrées respectivement sont de 48,011 % et 56,569% par rapport au témoin. Quand à la teneur totale en AGI nous avons enregistré une valeur de 42,945% répartis comme suit : 38,402% **AGMI** et 4,543% **AGPI**

L'application du test d'ANOVA relatif à la comparaison de la variation de la teneur en acide gras en fonction du traitement thermique, a révélé la présence de différences très hautement significatives ($p < 0,001$) par rapport au témoin

Les changements dans la composition en AG de l'huile d'olive vierge après un traitement thermique de 3h se traduit aussi par la diminution du rapport acide linoléique / acide palmitique (0,26) par rapport au témoin (0,61).

La détérioration de l'huile d'olive vierge de la variété blanquette par un traitement thermique de 3h se traduit par l'apparition de l'acide gras trans qui est l'acide élaidique avec une valeur de 3,66%.

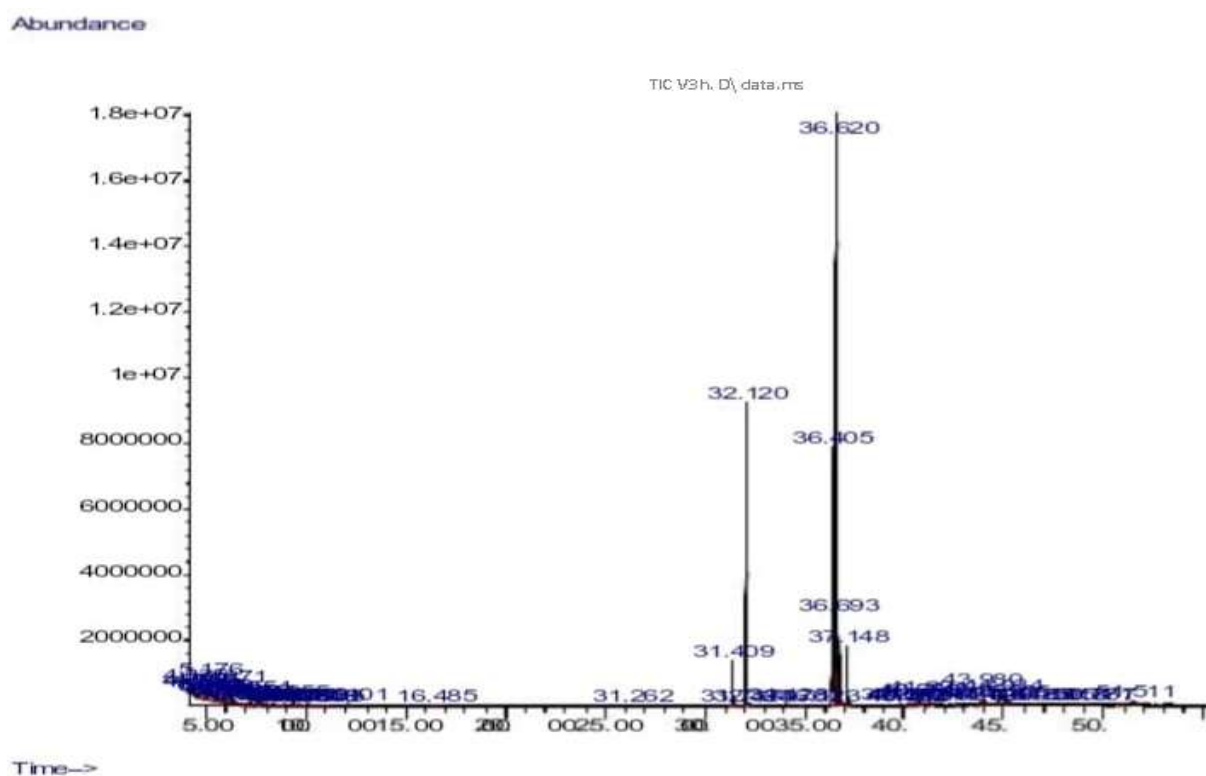


Figure 11: Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 3heures

Tableau 09: Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée 3heures

Les Acides Gras		Teneur (%)
Acides gras saturés	Myristique C14:0	0,186±0,002
	Palmitique C16:0	16,280±0,000
	Heptadécanoïque C17:0	0,170±0,000
	Stéarique C18:0	3,702±0,001
	Arachidique C22:0	0,671±0,002
	Béhénique C22:0	0,452±0,001
	Lignocérique C24:0	0,080±0,002
Acides gras mono insaturés	Palmitoléique C16:1	0,934±0,003
	Heptadécénoïque C17:1	0,102±0,001
	Oléique C18:1	32,278±0,003
	Vaccinique C18:1	1,280±0,001
	Gadoléique C20:1	0,148±0,02
Acide gras polyinsaturé	Linoléique C18:2	4,337±0,01
	Linoléonique C18:3	0,206±0,03
Acides gras trans	Elaidique C18:1	3,66±0,003

III.1.2.5. Huile d'olive vierge chauffée 4 heures

L'analyse du chromatogramme lipidique obtenu figure (12), nous a permis d'établir le tableau 10 où sont consignées les valeurs chiffrées des principaux acides gras détectés dans l'huile d'olive vierge chauffée pendant 4h. Les acides gras déterminés ont été regroupés en acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés

Le pourcentage d'acide gras majeur trouvé était l'acide oléique (C18: 1) pour une valeur de 16,34%, suivie par l'acide palmitique (C16: 0) avec 16,28% et l'acide linoléique (C18: 2), avec 2,28 %.

On constate selon le tableau 10 que le traitement thermique de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette pendant 4h n'a pas affecté la teneur en acides gras saturés de cette huile ($p > 0,05$) par rapport au témoin où nous avons enregistré une teneur totale en AGS de 21,557%

Par ailleurs, nous avons remarqué une perte en AGI en particulier l'acide oléique et l'acide linoléique, les diminutions enregistrées respectivement sont de 73,67 % et 77,04% par rapport au témoin. Quand à la teneur totale en AGI nous avons enregistré une valeur de 26,26% répartis comme suit : 23,938% **AGMI** et 2,322% **AGPI**

L'application du test d'ANOVA relatif à la comparaison de la variation de la teneur en acide gras en fonction du traitement thermique, a révélé la présence de différences très hautement significatives ($p < 0,001$) par rapport au témoin

Les changements dans la composition en AG de l'huile d'olive vierge après un traitement thermique de 4h se traduit aussi par la diminution du rapport acide linoléique / acide palmitique (0,14) par rapport au témoin (0,61).

La détérioration de l'huile d'olive vierge de la variété blanquette par un traitement thermique de 4h se traduit par l'apparition de l'acide gras trans qui est l'acide élaidique avec une valeur de 6,27%.

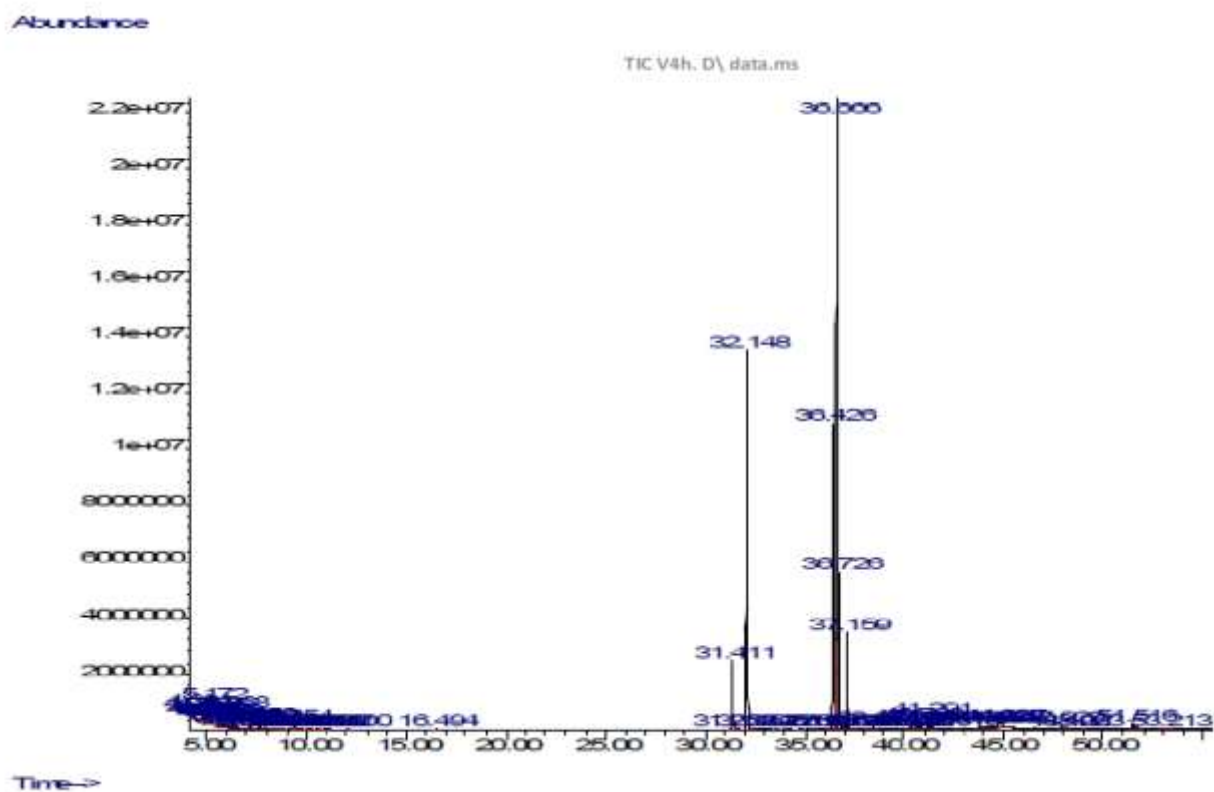


Figure 12: Profil chromatographique de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 4heures

Tableau 10: Valeurs moyennes de la composition en acides gras de l'HOV chauffée pendant 4 heures

Les Acides Gras		Teneur (%)
Acides gras saturés	Myristique C14:0	0,186±0,002
	Palmitique C16:0	16,280±0,003
	Heptadécanoïque C17:0	0,170±0,01
	Stéarique C18:0	3,702±0,000
	Arachidique C22:0	0,670±0,000
	Béhénique C22:0	0,450±0,001
	Lignocérique C24:0	0,079±0,002
Acides gras mono insaturés	Palmitoléique C16:1	0,241±0,001
	Heptadécénoïque C17:1	0,083±0,004
	Oléique C18:1	16,348±0,005
	Vaccinique C18:1	0,893±0,012
	Gadoléique C20:1	0,103±0,01
Acide gras polyinsaturé	Linoléique C18:2	2,289±0,3
	Linoléinique C18:3	0,033±0,1
Acides gras trans	Elaidique C18:1	6,27±0,000

III.1.3. La composition en acides gras de l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée.

III.1.3.1. la composition en acides gras saturé

Les résultats illustrés dans la figure 13 révèlent que le traitement thermo-oxydatif appliqué dans notre étude n'a induit aucune différence dans les teneurs en acides gras saturés de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette ($p > 0.05$).

Les valeurs enregistrées des teneurs totales en acide gras saturé pour l'huile non chauffée et chauffée pendant 1h, 2h, 3h et 4h sont respectivement : 21,587%, 21,557%, 21,551%, 21,539% et 21,537%.

Ces résultats montrent que notre huile d'olive vierge de la variété Blanquette renferme des quantités appréciables en AGS avant et après le traitement thermique, notamment l'acide palmitique avec une valeur de 16,28%.

III.1.3.2. la composition en acides gras mono-insaturé

Les résultats portés dans la figure 14 révèlent une diminution considérable de la teneur de l'huile d'olive en acides gras mono-insaturés notamment en acide oléique C18 :1 sous l'influence de la gamme de temps de chauffage : 1h, 2h, 3h et 4h.

Les valeurs enregistrées des teneurs totales en acide gras mono-insaturé pour l'huile d'olive non chauffée et chauffée pendant 1h, 2h, 3h et 4h sont respectivement : 67,71%, 65,99%, 57,17%, 38,40% et 23,93%. Ce qui indique une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport au témoin.

III.1.3.3. la composition en acides gras polyinsaturé

Les variations des teneurs en acides gras polyinsaturés au niveau de l'huile d'olive vierge non chauffée et chauffée sont illustrées dans la figure 15. On remarque une diminution importante en acides gras insaturés notamment l'acide linoléique (C18 :2).

Les valeurs enregistrées des teneurs totales en acides gras polyinsaturés pour l'huile d'olive non chauffée et chauffée pendant 1h, 2h, 3h et 4h sont respectivement : 10,62%, 9,14%, 7,236%, 4,543% et 2,322%. Ce qui indique une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport au témoin.

III.1.3.4. la composition en acides gras trans

Nos conditions expérimentales montrent que l'augmentation du temps de chauffage provoque l'apparition de l'acides gras trans (figure 16). En effet l'effet du temps de chauffage de 3h et 4h est significatif sur l'évolution des acides gras trans notamment l'acide élaidique (C18:1) pour donner des valeurs respectivement de 3.66% et 6.27%. Cette évolution de la teneur en acide gras trans étant plus importante que le chauffage pendant 1h et 2 h où nous avons enregistré une absence totale des acides gras trans.

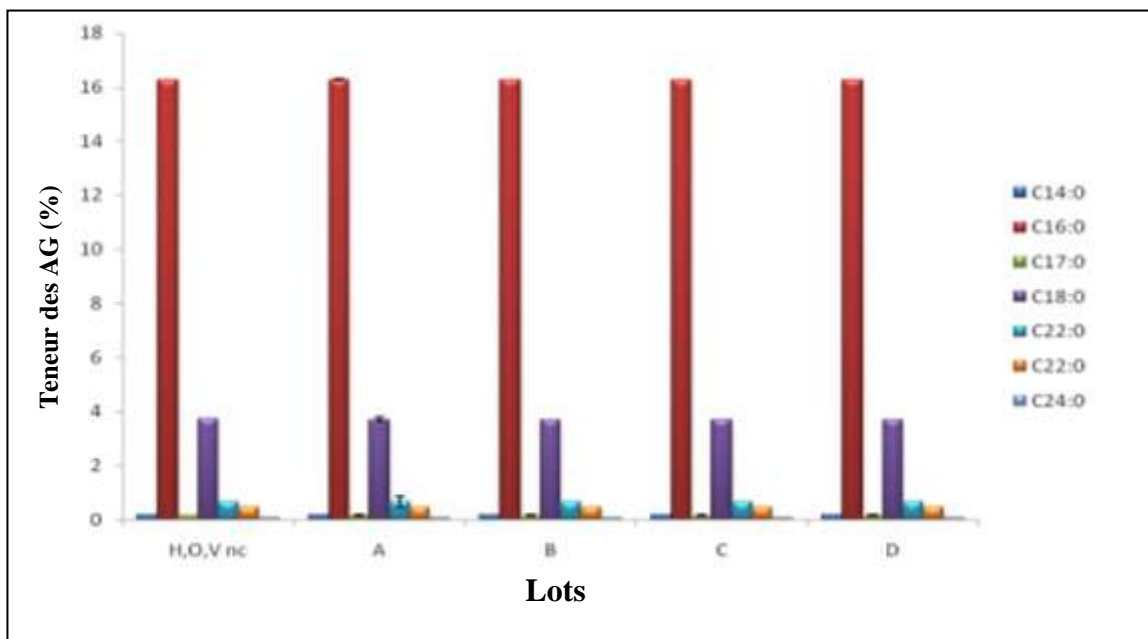


Figure 13 : variation des teneurs en acides gras saturé de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage

A : huile d'olive vierge chauffée pendant 1h, **B** : huile d'olive vierge chauffée pendant 2h, **C** : huile d'olive vierge chauffée pendant 3h, **D** : huile d'olive vierge chauffée pendant 4h (Moyenne \pm SD ; n = 3).

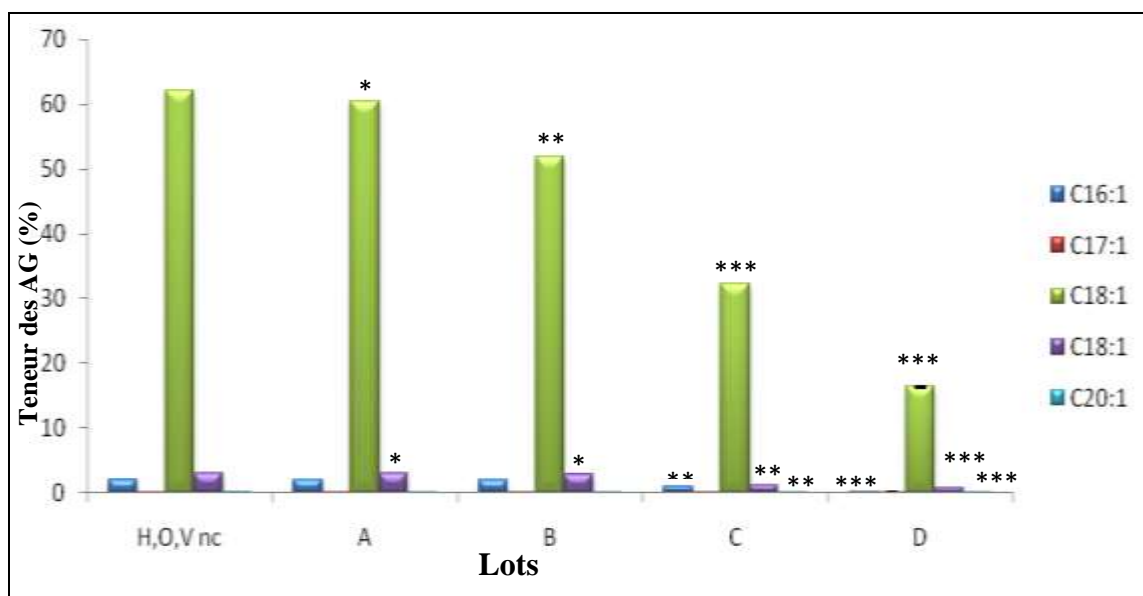


Figure 14 : variation des teneurs en acides gras mono-insaturé de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage.

A : huile d'olive vierge chauffée pendant 1h, **B** : huile d'olive vierge chauffée pendant 2h, **C** : huile d'olive vierge chauffée pendant 3h, **D** : huile d'olive vierge chauffée pendant 4h (Moyenne \pm SD ; n = 3). * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

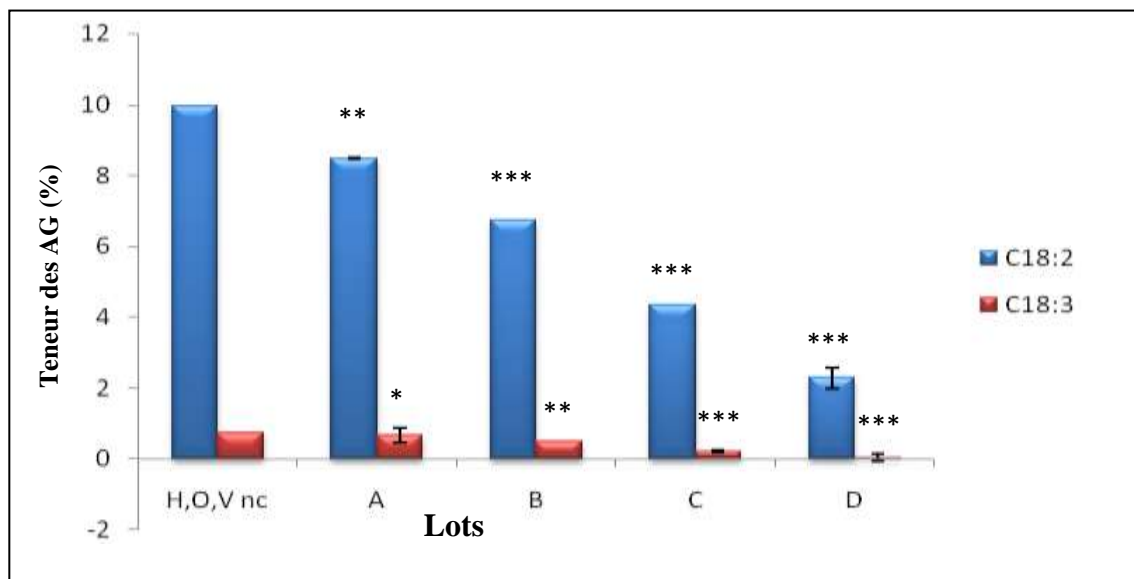


Figure 15 : variation des teneurs en acides gras polyinsaturé de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage.

A : huile d'olive vierge chauffée pendant 1h, **B** : huile d'olive vierge chauffée pendant 2h, **C** : huile d'olive vierge chauffée pendant 3h, **D** : huile d'olive vierge chauffée pendant 4h (Moyenne \pm SD ; n = 3). * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

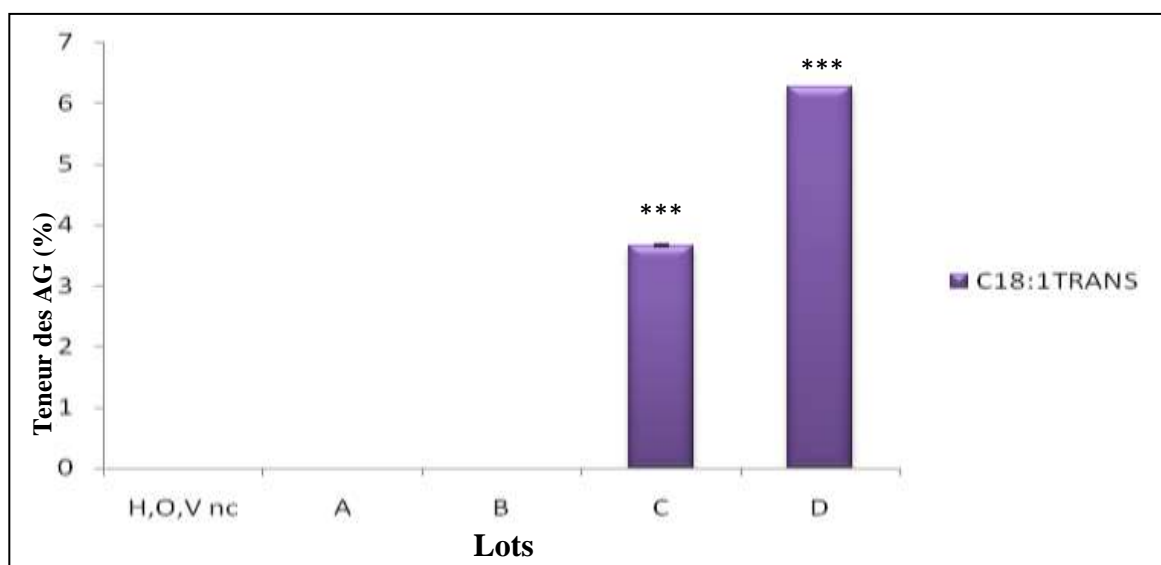


Figure 16 : variation des teneurs en acides gras trans de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette en fonction de la durée de chauffage.

A : huile d'olive vierge chauffée pendant 1h, **B** : huile d'olive vierge chauffée pendant 2h, **C** : huile d'olive vierge chauffée pendant 3h, **D** : huile d'olive vierge chauffée pendant 4h (Moyenne \pm SD ; n = 3). * p<0.05, ** p<0,01, *** p<0,001

III.1.4. Paramètres physiologiques des lapins

Le tableau 11 intègre Les résultats des paramètres de croissance des lapins après la période de traitement avec l'huile d'olive vierge chauffée ou non chauffée

Selon ce tableau 11 Les 30 lapins ont pris du poids pendant la durée du traitement. Mais le gain de poids moyen le plus élevés à la fin des 4 semaines était enregistrés chez les lapins témoins pour atteindre une valeur de 312,39 g. la progression du poids est statistiquement différente chez les 5 lots ($p < 0.001$). À la fin de la période de traitement nous avons enregistré un gain de poids de $312,39 \text{ g} \pm 5,71$. En revanche un retard de croissance de 13% est relevé chez les lapins traité avec une huile d'olive chauffée pendant 1 heure, de 23% chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 2 heures, 38% chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 3heures et un retard de 52% chez les lapins traité avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 4 heures par rapport aux lapins témoins.

D'autre part les résultats obtenus et illustrés dans le tableau 11, montrent que le régime alimentaire riche avec une huile d'olive vierge chauffée à des températures élevées augmente de manière significative ($p < 0,001$) le poids du foie des lapins par rapport au groupe témoin.

Quand aux quantités d'aliment ingéré nous avons enregistré une différence significative entre le lot témoin et le lot D ($p < 0,05$). Par contre aucune différence n'a été enregistré entre les autres lots par rapport au lot témoin ($p > 0,05$).

Tableau 11: gain de poids corporel, quantité d'aliment consommée, poids du foie des lapins traités avec l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée.

	Gain de poids (g)	Quantité d'aliment ingérée (g/jour/lot)	Poids du foie (g)
Lot témoin	312,39±5,71 ^a	792,71±6,59 ^a	46,15±3,23 ^a
Lot A	271,98±8,98 ^b	789,27±2,81 ^a	46±1,50 ^b
Lot B	239,70±5,03 ^c	785,09±5,56 ^a	49,77±0,64 ^c
Lot C	192,90±4,64 ^d	779,93±2,39 ^a	57,69±1,36 ^d
Lot D	147,03±6,99 ^e	776,71±4,46 ^b	80,60±4,84 ^e

Les valeurs (moyennes ± SD ; n=6) ne portant pas les mêmes exposants sont significativement différent à p<0.05

III.1.5. effet de la consommation de l'huile d'olive vierge thermooxydée sur les paramètres biochimiques des lapins

III.1.5.1. Taux de cholestérol total

L'évolution du taux de cholestérol total sérique chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge chauffée et non chauffée sont illustrés dans la figure 17

Nos résultats montrent qu'après 30 jours de consommation d'une huile d'olive vierge thermooxydée, une importante augmentation du taux de cholestérol total sérique est à noter. Ce taux est respectivement : $1,95 \pm 0,03$ pour les lapins du lot A, $2,97 \pm 0,01$ pour les lapins du lot B, $3,15 \pm 0,1$ pour les lapins du lot C et $3,79 \pm 0,09$ pour les lapins du lot D, comparativement à celui des lapins du lot témoin : $1,56 \pm 0,02$.

L'analyse statistique révèle une différence significative ($p < 0,05$) entre le taux de cholestérol sérique chez les lapins témoins et ceux du lot A.

En revanche une différence très hautement significative ($p < 0,001$) est observée entre le taux de cholestérol sérique des lapins témoins et celui de lot B, C et D.

III.1.5.2. Triglycérides

Les teneurs en triglycérides sérique chez les lapins ayant ingéré une huile d'olive vierge chauffée et non chauffée sont illustrés dans la figure 18.

Les teneurs en triglycéride sont augmentées significativement. Cette augmentation du taux de triglycérides chez les lapins traités est très remarquable par rapport aux témoins, ou nous enregistrons une valeur moyenne de $0,3$ g/l, alors qu'il est d'environ $1,3$ g/l chez les lapins du lot A et atteindre la valeur de $2,6$ g/l chez les lapins du lot C. Chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 4 heures, on remarque une augmentation importante de triglycéride dépassant $2,5$ g/l.

L'analyse statistique révèle une différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre le taux de triglycéride sérique chez les lapins témoins et ceux des différents lots traités.

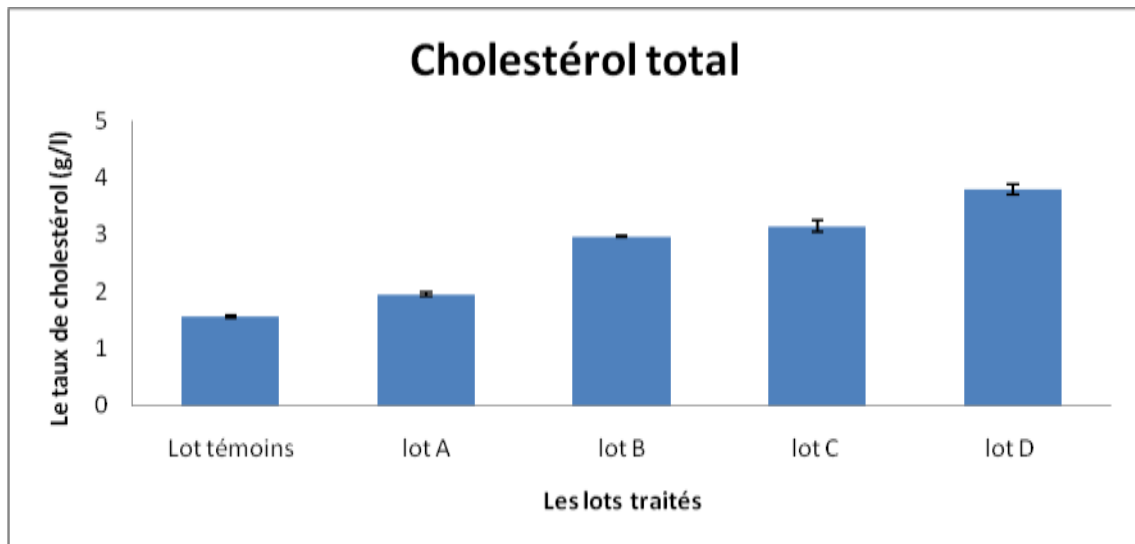


Figure 17: Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge thermooxydée sur le taux de cholestérol total chez les lapins

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h.

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001.

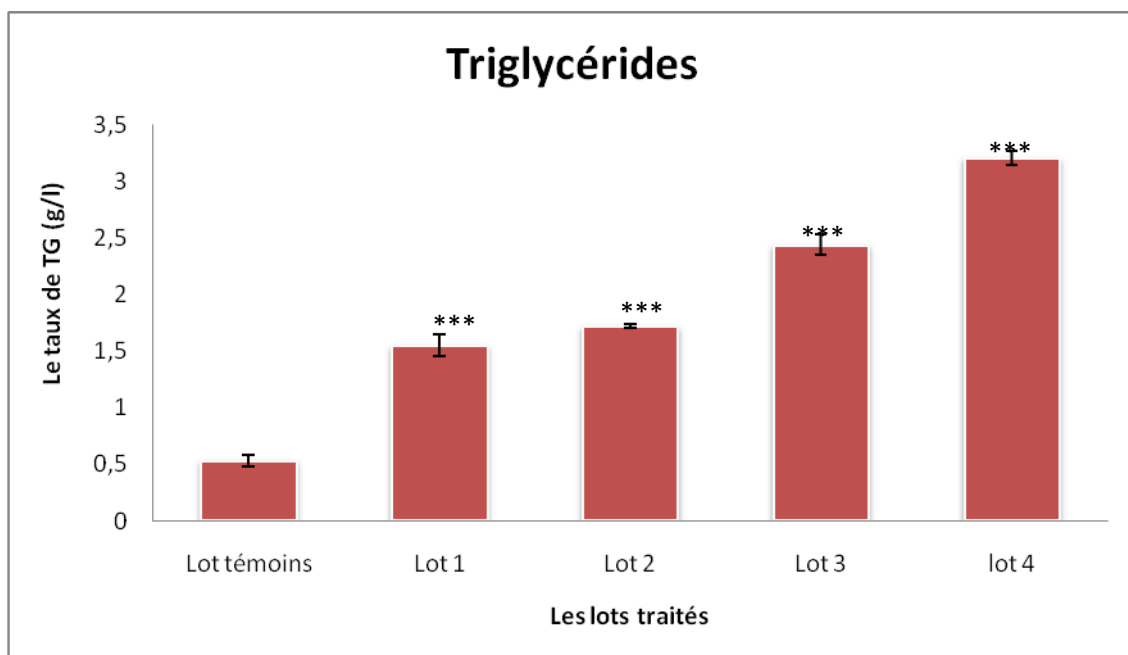


Figure 18: Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge thermooxydée sur le taux de triglycéride chez les lapins

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h.

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

** P < 0,01, *** P < 0,001.

III.1.5.3. Taux de LDL cholestérol

Les résultats de l'évolution de la teneur en LDL-c sont représentés dans la figure 19.

A la fin de l'expérimentation les teneurs en LDL-c augmentent de façon remarquable chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge thermooxydée. Elle passe de $0,95\pm 0,03$ chez les lapins témoins à $1,26\pm 0,04$ enregistrées chez les lapins ayant ingéré une huile d'olive vierge chauffée pendant 1 heure, à $1,72\pm 0,03$ chez les lapins ayant ingéré une huile d'olive vierge chauffée pendant 2 heures. Chez les lapins ayant ingéré une huile d'olive vierge chauffée pendant 3 heures et 4 heures cette teneur a atteint respectivement $2,23\pm 0,05$ et $2,56\pm 0,02$.

L'analyse statistique révèle une différence significative ($p<0,05$) entre la teneur en LDL-c chez les lapins témoins et ceux du lot A et une différence hautement significative ($p<0,01$) est observée entre la teneur de LDL-c des lapins témoins et celle du lot B

Par ailleurs l'augmentation de la teneur en LDL-c est très hautement significative ($p<0.001$) chez les lapins des lots C et D par rapport aux témoins

III.1.5.4. Taux de HDL cholestérol

L'effet de l'ingestion de l'huile d'olive vierge thermooxydée sur la teneur en HDL-c est illustré dans la figure 20.

Après 30 jours de traitement on a noté un effondrement du taux de HDL-c chez les lapins des lots A, B, C et D comparativement à celui des lapins du lot témoin. $0,49\pm 0,01$ g/l, $0,32\pm 0,01$ g/l, $0,27\pm 0,01$ g/l, $0,22\pm 0,02$ g/l contre $0,03\pm 0,3$ g/l

L'analyse statistique révèle une différence significative ($p<0,05$) entre la teneur en HDL-c chez les lapins témoins et ceux du lot A.

En revanche une différence hautement significative ($p<0,01$) est observée entre la teneur de HDL-c des lapins témoins et celle du lot B

Par ailleurs la baisse de la teneur en HDL-c est très hautement significative ($p<0.001$) chez les lapins des lots C et D par rapport aux témoins

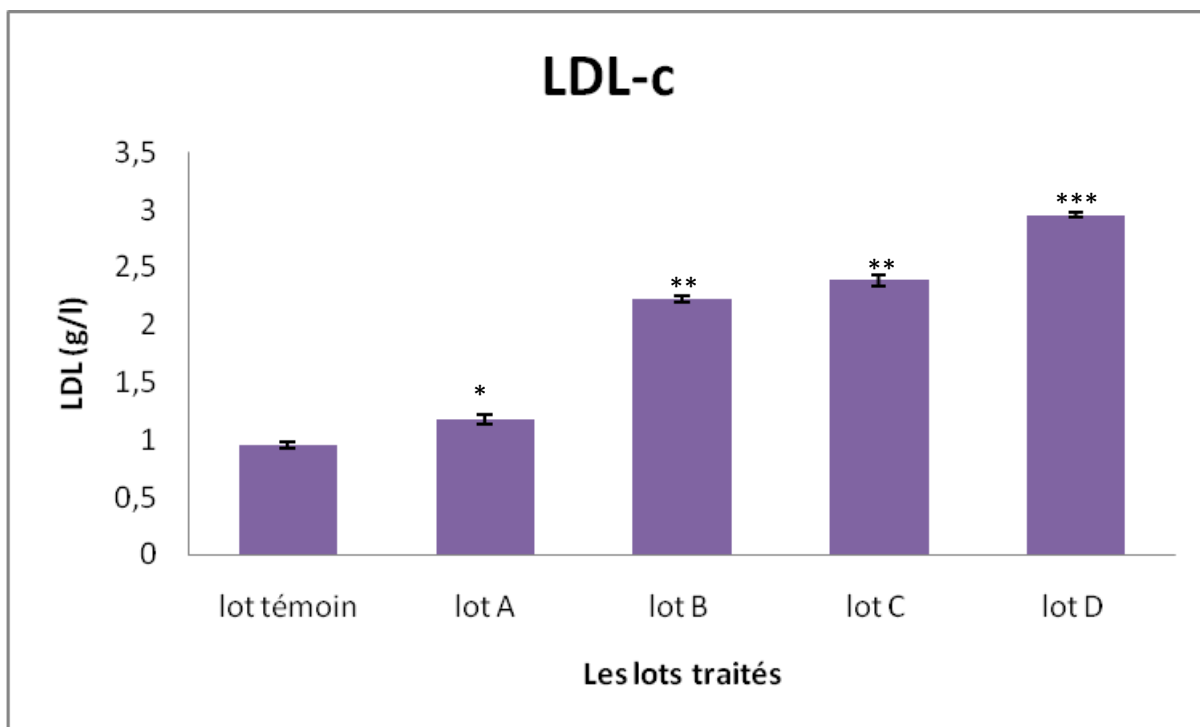


Figure 19: Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge thermooxydée sur le taux de LDL-c chez les lapins

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h.

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

* P < 0,05, ** P < 0,01, ***P < 0,001.

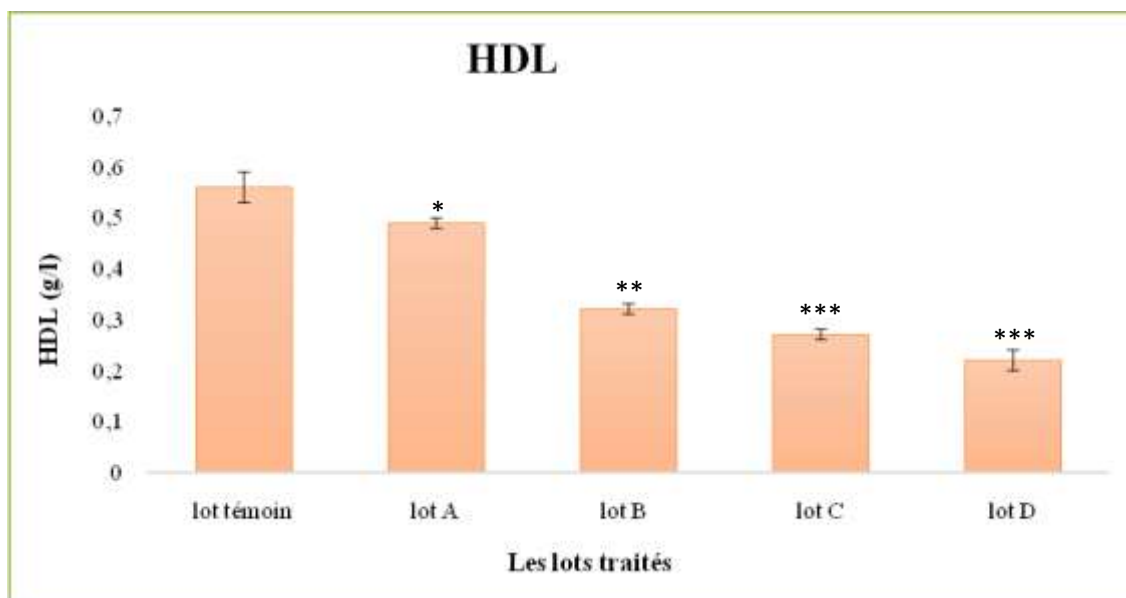


Figure 20: Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge oxydée sur le taux de HDL-c chez les lapins

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h.

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001.

III.1.5.5. Les lipides hépatiques

La figure 21 représente l'effet de l'ingestion de l'huile d'olive vierge thermooxydée sur le taux des lipides hépatiques chez les lapins.

Nous constatons que la consommation de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 1h n'affecte pas le taux des lipides hépatique chez les lapins. Selon les résultats statistiques, nous avons enregistré des différences non significatives ($p > 0,05$) entre les lapins du lot témoins et ceux du lot A.

Chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 2h le taux des lipides a subi une augmentation atteignant un taux de $19,57 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{mg}$ par rapport aux témoins. D'autre part une augmentation remarquable du taux des lipides hépatiques est notée chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 3h et 4h par rapport aux témoins pour atteindre respectivement $21,15 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{mg}$ et $24,98 \mu\text{g}/\text{mg} \pm 0,04$.

Selon l'étude statistique une différence significative ($p < 0,05$) est entre le taux des lipides hépatique chez les lapins témoins et ceux du lot B et une différence hautement significative ($p < 0,01$) est observée entre les lapins témoins et ceux des lots C et D

III.1.5.6. Les Protéines hépatiques totales

Selon la figure 22, nous observons qu'une consommation pendant 30 jours d'une huile d'olive vierge thermo oxydée, provoque une diminution significative ($p < 0,05$) des protéines totales hépatiques chez les lapins du lot B par rapport au témoin. Cette diminution est plus particulièrement observée chez les lapins des lots C et D pour atteindre respectivement $17,67 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{mg}$ et $14,58 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{mg}$ contre un taux de $22,96 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{mg}$ chez les lapins du lot témoin.

Tandis que chez les lapins du lot A la consommation d'une huile d'olive vierge chauffée pendant une heure ne montre aucune différence significative par rapport au lot témoin.

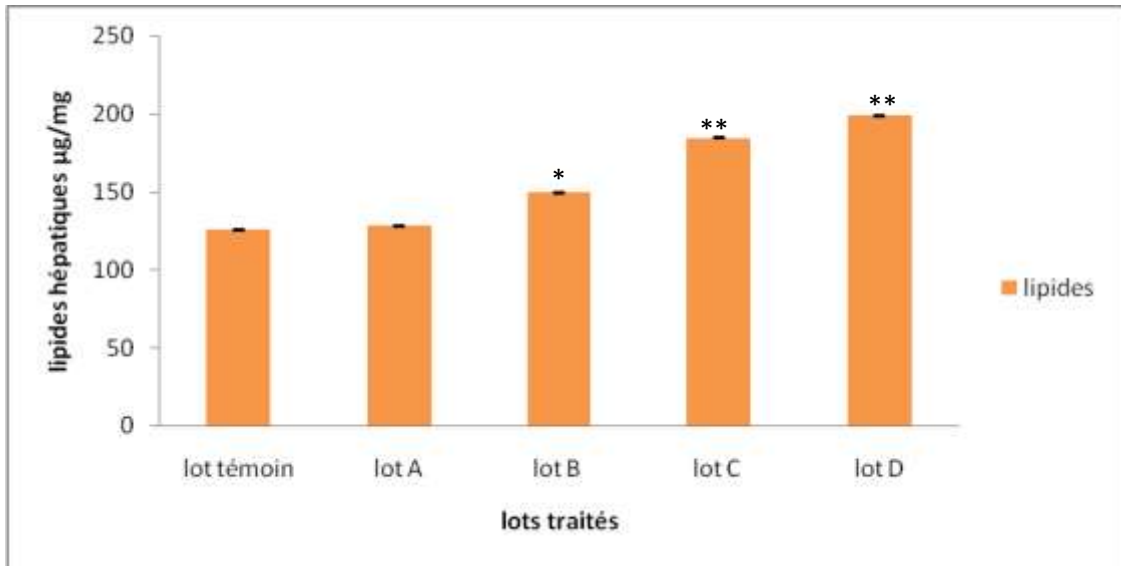


Figure 21 : Effet de la consommation d'une huile d'olive vierge oxydée sur le taux de lipides hépatiques chez les lapins

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

* P < 0,05, **P<0,01.

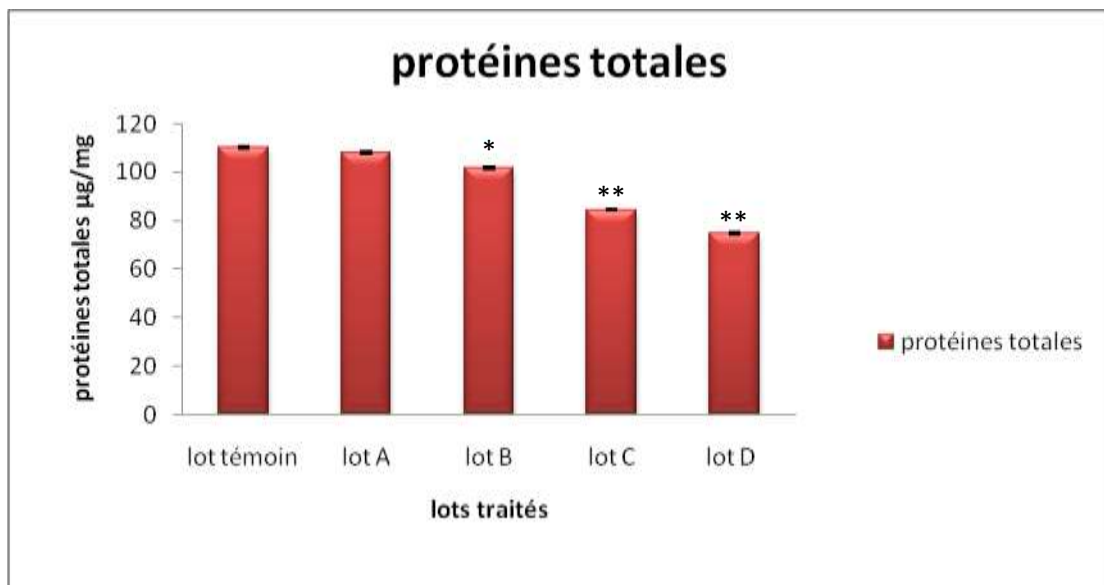


Figure 22 : Effet de la consommation de l'huile d'olive vierge thermo oxydée sur le taux des protéines hépatiques chez les lapins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

** P < 0,01, *** P<0,001.

III.1.6. effet de la consommation de l'huile d'olive vierge thermoxydée sur les biomarqueurs de stress oxydant

III.1.6.1. L'activité Catalase (CAT)

Les résultats de l'effet de l'ingestion de l'huile d'olive vierge thermoxydée sur l'activité catalase sont rassemblés dans la figure 23.

Selon cette figure, le taux de catalase chez les lapins qui ont consommé une huile d'olive vierge chauffée pendant 1h (lot A) est identique à celui des témoins ($p>0,05$)

Par contre, chez les lapins qui ont consommé une huile d'olive vierge chauffée pendant 2h (lot B), nos résultats montrent une augmentation du taux de catalase de 39% comparé aux témoins

Chez les lapins des groupes ingérant une huile d'olive vierge chauffée pendant 3h et 4h (lot C et lot D) le taux de catalase est réduit de 48,5% et 70,25% respectivement comparé aux témoins

L'analyse statistique montre une différence significative ($p<0,05$) entre le lot B et lot témoin et une différence hautement significative ($p<0,01$) entre les lots C et D par rapport au lot témoin.

III.1.6.2. Le glutathion réduit (GSH)

Les résultats de l'effet de l'ingestion de l'huile d'olive vierge thermoxydée sur le taux de GSH sont rassemblés dans la figure 24.

Selon cette figure nous constatons que l'ingestion d'une huile d'olive vierge chauffée pendant 1h ne montre aucune différence du taux de GSH chez les lapins par rapport aux témoins

Par contre la consommation d'une huile d'olive vierge chauffée pendant 2 h, 3h et 4h (lot B, C et D) provoque une diminution du taux de GSH de 27%, 37,7% et 51% respectivement comparé au groupe témoin

L'analyse statistique montre une différence significative ($p<0,05$) entre le lot B et lot témoin et une différence hautement significative ($p<0,01$) entre les lots C et D par rapport au lot témoin.

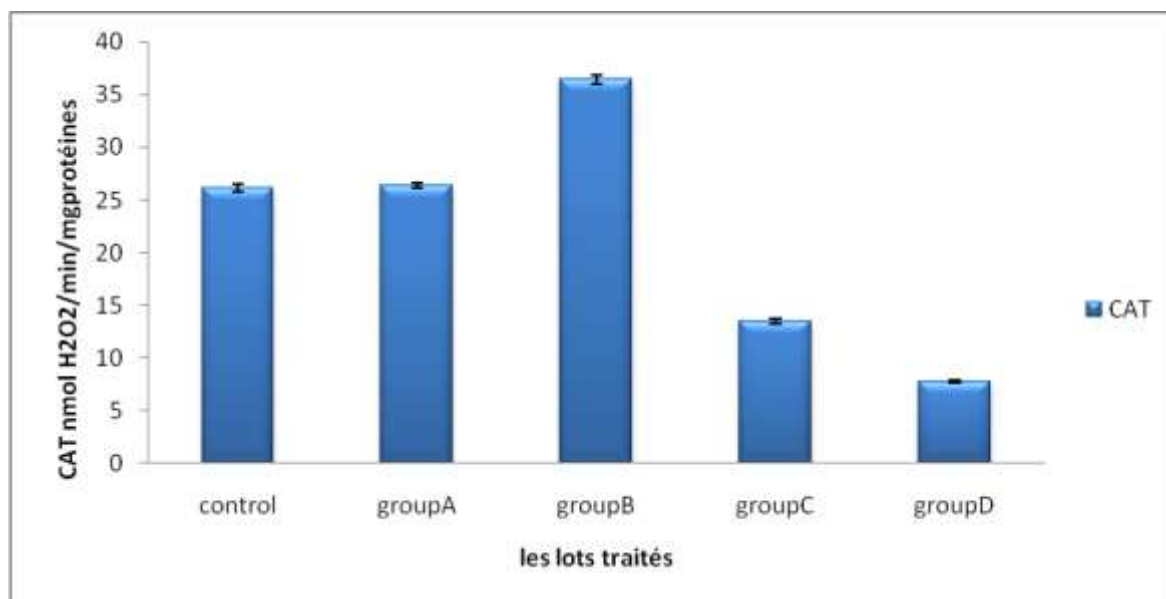


Figure 23: Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur l'activité catalase (CAT) chez les lapins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

** P < 0,01, *** P<0,001.

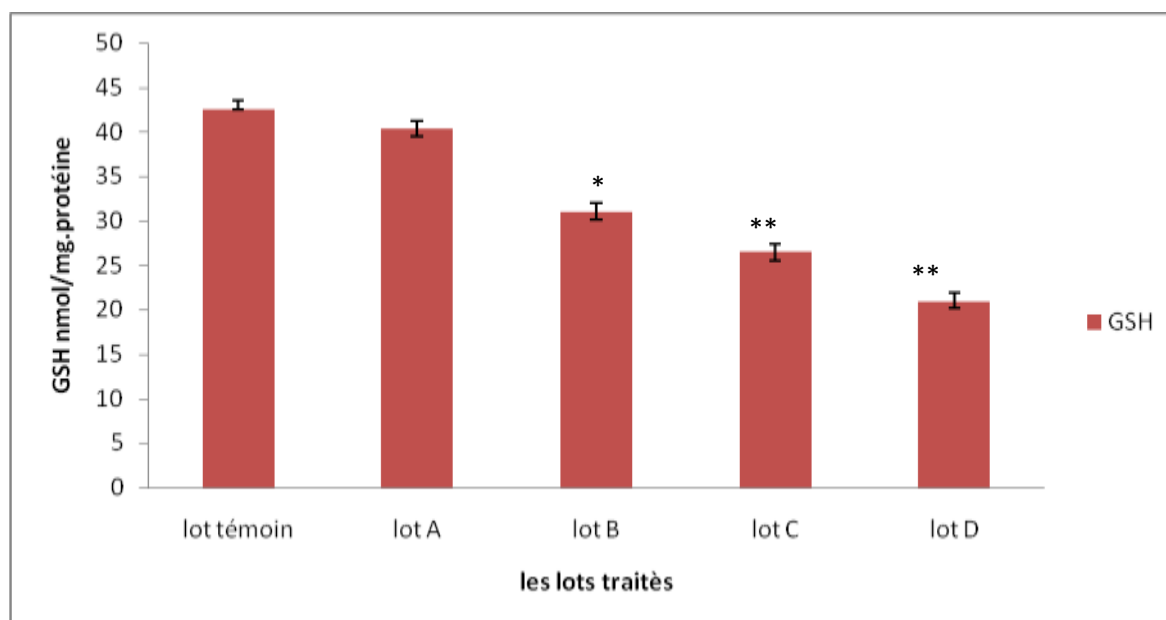


Figure 24: Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur le taux de GSH chez les lapins

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

* P < 0,05, ** P<0,01.

III.1.6.3. L'activité de la glutathion S-transférase (GST)

Les résultats de l'effet de l'ingestion de l'huile d'olive vierge thermoxydée sur le taux de GST sont illustrés dans la figure 25.

Les résultats montrent que le taux de GST est presque le même ($p \geq 0,05$) aussi bien chez les lapins qui ont consommé une huile d'olive vierge chauffée pendant 1h que chez les lapins témoins.

Tandis que l'ingestion d'une huile d'olive vierge chauffée pendant 2h provoque une augmentation significative ($p < 0,05$) de GST chez les lapins comparés aux lapins du lot témoin. Cependant le taux de GST chez les lapins des lots qui ont consommé une huile d'olive vierge chauffée pendant 3h et 4h (lot C et D) montre une augmentation hautement significative ($p \leq 0,001$) comparés aux animaux du lot témoin.

III.1.6.4. Le taux de malonediaaldéhyde (MDA)

Les variations du taux de MDA chez les lapins des différents lots, sont regroupées dans la figure 26

Selon cette figure, on remarque l'élévation non significative ($p \geq 0,05$) du taux de MDA chez les lapins du lot traité avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 1h (lotA) par rapport aux lapins témoins.

Par ailleurs, comparés avec les lapins du lot témoin, le taux de MDA augmente pour enregistrer une valeur de $3,76 \pm 0,28$ (nmol/mg prot) , $7,3 \pm 0,26$ (nmol/mg prot) et $8,69 \pm 0,22$ (nmol/mg prot) chez les lapins des lots B, C et D respectivement

L'analyse statistique montre une différence significative ($p < 0,05$) entre le lot B et lot témoin et une différence hautement significative ($p < 0,01$) entre les lots C et D par rapport au lot témoin.

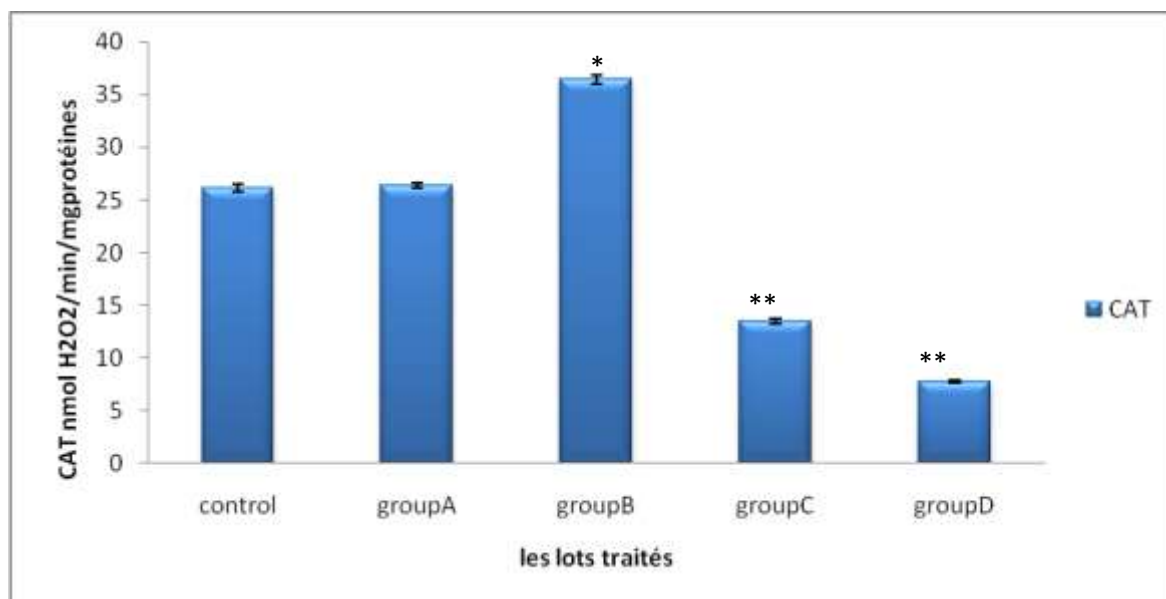


Figure 25: Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur l'activité catalase (CAT) chez les lapins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

** P < 0,01, *** P < 0,001.

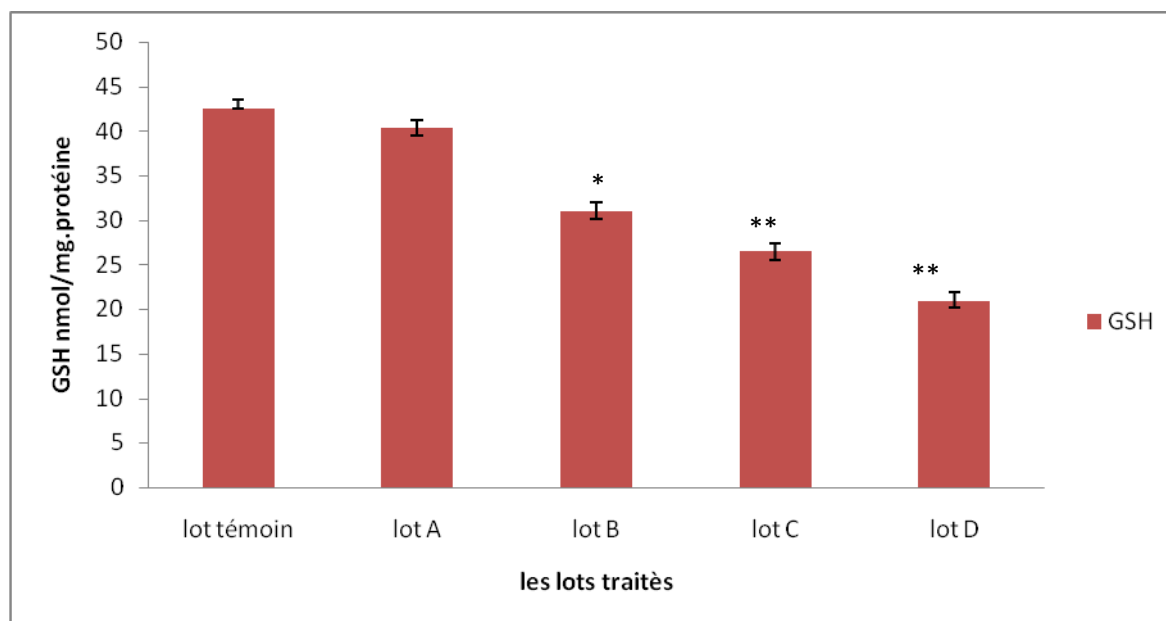


Figure 26: Effet de la consommation de l'huile d'olive chauffée et non chauffée sur le taux de GSH chez les lapins

Chaque valeur représente la moyenne \pm Écart type. **lot A** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 1h ; **lot B** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 2h ; **lot C** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 3h ; **lot D** : lapins traités avec une huile chauffée pendant 4h

* indique différence significative entre le groupe traité et le groupe témoin:

* P < 0,05, ** P < 0,01.

III.2. Discussion

L'oxydation des lipides met en jeu un ensemble de réactions auto catalytiques qui donne naissance à un grand nombre de composés néoformés. Ces composés induisent une modification des caractéristiques physico-chimiques du corps gras concerné. L'intensité des modifications produite dépend de plusieurs facteurs tels que la nature des corps gras, la disponibilité de l'oxygène (notamment dépendante de la surface de l'huile en contact avec l'air) ou la température (intensité, durée, cycle de traitement thermique) (Grandgirard, 1992).

Le Conseil Oleicol International (COI, 1990) et le règlement de la Commission Européenne (CE 2568/91, 1991) ont défini la qualité d'huile d'olive, basée sur les paramètres qui incluent le pourcentage d'acide gras, la teneur en indice de peroxyde, le coefficient de l'extinction spécifique K232 et K270, ainsi que les caractéristiques sensoriels.

Dans notre étude, plusieurs marqueurs d'oxydation sont suivis afin de caractériser l'avancement des réactions d'oxydation. Il s'agit de l'acidité (via une mesure de l'indice d'acidité), des hydroperoxydes (via l'indice de peroxyde), le degré d'insaturation (par la détermination de l'indice d'iode), la teneurs en pigment chlorophylliens et en fin la composition en acides gras (par CG-MS).

L'IP est un critère de qualité il permet de suivre l'état d'oxydation des huiles et de contrôler les premières étapes de l'altération oxydative.

Cet indice révèle la présence d'hydroperoxydes et d'hypoxyperoxydes, appelés produits primaires de la dégradation, dans l'huile. L'IP indique la fraîcheur d'une huile. Plus l'indice est bas, plus l'huile est fraîche. L'IP varie entre 5 et 20 pour les huiles brutes pressées et entre 0 et 1 pour les huiles raffinées. La formation et l'accumulation des produits primaires d'oxydation augmentent avec l'augmentation du degré d'insaturation des huiles (Martin-Polvillo et *al.*, 2004). Les résultats de notre étude ont montré que l'IP de notre huile d'olive avant le traitement thermique est de 7.68 (meqO₂/kg). Nos résultats concordent avec les travaux de (Benrachou, 2013) sur l'huile d'olive de la variété Blanquette où la valeur de l'indice de peroxyde est de 7.80 (meqO₂/kg).

L'augmentation du temps de chauffage appliqué dans notre étude aurait stimulé l'oxydation de notre huile et l'état d'altération s'est traduit par l'augmentation de IP où on a noté une valeur de 28.78 (meqO₂/kg) après un traitement thermique de 4 h. Cette valeur indique une altération de l'huile chauffée. Uzzan, (1992) attribue cette variation aux effets de la température élevée lors du chauffage induisant la formation de peroxydes.

Rehab (2010) a rapporté que les valeurs de peroxydes augmentent graduellement au cours de traitement thermique des huiles.

Les hydroperoxydes, produits primaires de l'oxydation des lipides, donc leurs déterminations peuvent être utilisés comme indice d'oxydation des premiers stades d'oxydation.

Bešter *et al.* (2007) considèrent que la valeur de peroxyde est utile pour contrôler les stades initiaux de l'oxydation, mais son utilisation est limitée pour la mesure de l'oxydation continue à des conditions sévères. A une température d'environ de 100°C, les produits d'oxydation primaires se forment et se décomposent rapidement en composés volatils et non volatils. Néanmoins, Shyu *et al.* (1998) et Allamet El-Sayed (2004) ont montrés que l'IP augmente graduellement au cours du traitement thermique à une température stimulant la friture. De plus, Jean-Marc et Mereille (2003) ont montré que l'indice de peroxydes et l'indice de para-anisidine (mesure des produits secondaires de l'oxydation) semblent être de bons indicateurs pour évaluer l'état d'oxydation et la stabilité oxydative des produits.

Sur la base de ce paramètre, l'huile de tournesol, utilisée à titre de comparaison par les auteurs, a présenté un score d'oxydation après 3 h, équivalent à environ 27 h de friture sur toutes les huiles d'olive testées (Casal *et al.*, 2010). De même, Bruhl *et al.* (2016) ont constaté que les performances de l'huile d'olive sous chauffage à 175 ° C pendant 16 h étaient inférieures à celles de l'huile de lin, de tournesol et de colza, en ce qui concerne la formation des hydroperoxydes.

Notre huile d'olive fraîche a montré une valeur d'acidité de 2.08 %. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Benrachou, 2013) pour une valeur de 2.05% pour la même variété.

L'acidité d'une huile représente le pourcentage d'acides gras libres exprimé conventionnellement dans le cas de l'huile d'olive en acide oléique. L'acidité est un critère important d'appréciation de l'huile d'olive à la caractérisation alimentaire et constitue une caractéristique fondamentale de sa qualité commerciale (COI, 1981).

Les résultats montrent que le pourcentage d'acidité de l'huile d'olive étudiée est de 2.08 et permettent de les classer dans la catégorie des huiles d'olive vierges courantes (Ollivier *et al.*, 2004). Sans pour autant dépasser les valeurs maximales fixées par la norme internationale telle qu'elle est définie par C.O.I., 2013 et Codex Alimentarius., 2003.

Le traitement thermique, expérimental, appliqué à notre huile d'olive vierge a induit une élévation de l'acidité. Dans l'huile d'olive vierge thermo oxydée, cet indice augmente avec l'augmentation du temps de chauffage et atteint une valeur de 12.23 % après un traitement thermique de 4 h.

L'indice d'acidité est un paramètre qui renseigne sur l'évolution de l'hydrolyse au cours de chauffage. Navas *et al.* (2007) ont considéré ce paramètre comme un test très important pour évaluer la stabilité des huiles végétales.

La teneur en chlorophylle a subi selon nos résultats une diminution avec l'évolution de la température. Au niveau de l'huile d'olive vierge non chauffée la teneur est très élevée. Sous l'effet des températures de chauffage croissantes, on remarque que la teneur des chlorophylles diminue. On déduit que les chlorophylles se dégradent sous l'effet de la température qui rend la teneur en chlorophylle très faible avec augmentation des risques d'oxydation des huiles. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Selaimia, (2018) sur l'huile d'olive vierge qui présente des teneurs en chlorophylle décroissantes sous l'effet des températures élevées 60, 80, 110, 150, 200°C, jusqu'à elle arrive presque à 0 (transparent) à la température 250°C.

L'altération oxydative générée par la température élevée accentue l'apparition des acides gras libres au détriment des acides gras polyinsaturés. Le traitement thermo-oxydatif entraîne, une diminution de l'insaturation totale de l'huile; cette altération est évaluée par la mesure de l'indice d'iode. Cet indice permet, en effet, de mesurer le degré d'insaturation globale d'un corps gras. Il ressort de nos résultats une baisse importante de la valeur de cet indice après la thermo-oxydation de l'huile d'olive vierge.

L'indice d'iode indique le nombre de doubles liaisons ou le degré d'insaturation globale des lipides. Cet indice renseigne, donc, sur le degré d'oxydation des huiles utilisées et sur leur stabilité oxydative (Vinaixa *et al.*, 2005).

Adrian *et al.*, (1997) ont noté que l'abaissement de cet indice reflète une diminution sensible de l'insaturation globale de l'huile. En effet, il découle de notre analyse chromatographique une réduction tangible de l'insaturation de l'huile d'olive vierge thermo-oxydée suite à l'action de la chaleur comparativement à l'huile d'olive vierge fraîche.

L'avantage de l'analyse chromatographique, par rapport aux analyses classiques, dans l'évaluation de la peroxydation d'une huile est lié à l'instabilité des peroxydes formés lors du traitement thermique du corps gras.

Les AG sont les constituants les plus prédominants dans les huiles alimentaires. Dans les corps gras, les AGS et les AGI se trouvent généralement sous forme de TAG. L'oxydation des corps gras affecte les AGE et génère des composés toxiques et des polymères oxydés. Ainsi, l'oxydation altère le goût, diminue la qualité alimentaire et induit la toxicité des huiles de table (Kamal-Eldin et Pokorny., 2005).

En effet La composition en acides gras est un autre aspect essentiel de l'évaluation qualitative des huiles. Les résultats obtenus montrent la composition en acides gras de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette avant le traitement thermique répond aux normes fixées par le Conseil Oléicole International; en effet, cette huile est très riches en acide oléique (C18:1, ω 9); le taux de cet acide est de 62.087%. Ce pourcentage est proche de celui obtenu par Benrachou, (2013) qui est de 64,93% pour la même variété. Les résultats obtenus montrent aussi que l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette renferme à l'état frais des quantités appréciables en acides gras essentiels.

En tant que principaux composés des matières grasses, les acides gras constituent selon plusieurs études (Grati, 2001 ; Christopoulos et *al*, 2004) un paramètre important pour la caractérisation et la définition des huiles d'olive. Il s'ensuit que la composition des variétés d'olivier passe obligatoirement par la comparaison de la composition acide qui est la fraction majoritaire d'une huile.

Selon Alexandr et *al.*, (1983) ; Thompson et Rae, (1983), les changements dans la composition en AG des huiles pendant la friture, en particulier la diminution du contenu en acide linoléique et du rapport acide linoléique / acide palmitique est considéré comme des indicateurs valides du niveau de détérioration

L'étude du profil en AG de l'huile d'olive vierge de la variété Blanquette après avoir subi le traitement thermo-oxydatif permet de déterminer et d'estimer la perte en acide gras, principalement les AGPI contenu dans cette huile. Leur analyse semble être intéressante dans l'évaluation des changements chimiques des AG au cours du chauffage ou la friture. Les résultats obtenus révèlent une diminution considérable de la teneur de l'huile d'olive vierge en acide gras insaturés après avoir subi un barème de chauffage nettement inférieur à celui appliqué au niveau culinaire, notamment durant les fritures.

L'huile d'olive vierge fraîche est riche en acides oléique (62.08%), linoléique (9.9%). L'acide élaidique était absent. Les diminutions des teneurs en acides gras insaturés étaient importantes pendant la période de traitement thermique, en particulier en acide oléique et linoléique.

L'acide gras trans est apparu lorsque la durée de chauffage a été prolongée de 3h à 4h. Cet acide gras trans a été détectés à de faibles concentrations (huile fraîche, 0%; huile oxydée thermiquement A, 0 %; B, 0%; C, 3.66%; D, 6.27%).

La diminution du taux d'acides gras insaturés par la thermo-oxydation indique l'étendu de la détérioration de l'huile d'olive vierge. Les diminutions en AGMI et AGPI reflètent la dégradation par oxydation en raison du contenu initial très élevé en C18 :1 et C18 :2. Ainsi le chauffage de l'huile d'olive vierge pendant 3 et 4 heures provoque l'apparition de l'acide gras monoinsaturé trans C18 :1 qui est l'acide trans isomère de l'acide oléique. Selon Henon et *al* (1999), les doubles liaisons des triglycérides qui sont en configuration cis à température ambiante, passe à haute température en configuration trans. Cela se produit aux températures utilisées par l'industrie alimentaire pour la friture et la désodorisation des huiles (à environ 180°C), ainsi que par les consommateurs pour la friture (Aladedunye et Przybylski, 2009). Nos résultats sont similaire à ceux obtenus par Caponio *et al* (2003) où Les résultats obtenus ont montré que le traitement thermique entraîne une dégradation de la qualité nutritionnelle de la fraction lipidique de l'huile d'olive vierge, l'huile de tournesol et l'huile d'arachide. En conséquence, les teneurs en acides gras insaturés et polyénoïques ont diminué, tandis que les teneurs en acides gras saturés n'ont pas sensiblement changé. Ce concept est en accord également avec d'autres études utilisant l'huile d'olive vierge et autre modèles d'huiles végétales à différents mode et temps de chauffage : huile d'olive raffinée, huile d'olive extra vierge, huile de soja, (Albi *et al.*, 1997 ; Caponio *et al.*, 2002 ; Brenes, 2002 ; Casal,2010)

En effet, les AGI sont les principaux supports des réactions d'oxydation et de polymérisation dans une huile maintenue à une température élevée (Guillaumin *et al.*, 1977). Une réduction significative des niveaux d'acides oléique et linoléique a été rapportée pendant la thermo-oxydation d'huiles (Romero *et al.*, 1999) et pendant la friture (Choe et Min, 2007).

Les changements dans la composition en AG des huiles pendant la friture est considéré comme des indicateurs valides du niveau de détérioration (Alexandre *et al.*, 1983 ; Thompson et Rae, 1983).

La consommation de l'huile d'olive vierge, comme assaisonnement ou dans les aliments cuits, est en augmentation dans le monde entier, principalement en raison de ses avantages nutritionnels reconnus. Cependant, le maintien de ses attributs de qualité et de santé après le traitement thermique est souvent mis en doute (Santos *et al.*, 2013). A partir des résultats des paramètres analytiques de l'huile d'olive vierge chauffée et non chauffée, nous nous sommes intéressés à l'effet de la consommation de cette huile chez les lapins.

Les effets de la consommation de 15 % d'huile d'olive vierge thermooxydée sur plusieurs critères physiologiques et biochimiques liés aux altérations peroxydantes ont été étudiés.

Après quatre semaines de traitement nous avons noté que chaque régime a été consommé de manière normale. La quantité d'aliment consommée dans les groupes recevant de l'huile fraîche ou chauffée était essentiellement la même, mais le gain de poids corporel était plus important chez le groupe témoin par rapport au autres groupes.

Ce résultat est en accord avec les travaux rapportés par Falade *et al* (2015) qui n'a observé aucune différence en quantité d'aliment ingérée par les rats ne nourrit avec une huile de palme chauffée pendant 10,15 et 20 min par rapport aux témoins

De même Hageman *et al.* (1991), n'a trouvé aucune différence significative dans la consommation alimentaire entre des rats nourris avec de l'huile de tournesol non chauffée pendant plus de quatre semaines et des rats nourris avec des régimes spécialement préparés avec l'huile de coco dans lesquels divers aliments avaient été frit pendant 30 h. Dans une étude similaire, Izaki *et al.* (1984), ont démontré que les rats nourris avec de l'huile de tournesol obtenue dans un restaurant japonais de restauration rapide (utilisé 66 jours, 3,5 h / jour) pendant 13 semaines, avaient la même alimentation que les rats nourris avec de l'huile fraîche.

En étudiant différents paramètres, la croissance corporelle est l'un d'entre eux qui a été affecté par un régime alimentaire riche en huile d'olive thermo oxydée. Nos résultats ont montré un retard de la croissance corporelle des lapins traités avec une huile d'olive vierge chauffée par rapport aux témoins.

Nos résultats sont en accord avec les travaux d'Uddin *et al* (2018), où il y'avait une tendance à la diminution du poids corporel chez les lapins traités avec l'huile de maïs chauffée sans aliment pendant 5 heures et 10 heures à différentes quantité par rapport au lapins ayant consommé une huile de palme non chauffée et que cette perte de poids était proportionnelle à la durée de chauffage de l'huile. De meme Alamet Hussain (2014) ont montré que l'huile de tournesol oxydée thermiquement à 160°C pendant 9h diminuait le poids corporel des lapins par rapport au groupe témoin.

Selon Potteau et Cluzan (1966), l'administration prolongée des huiles soumises à des traitements thermiques sévères entraîne généralement, chez les animaux d'expérience, une baisse de croissance accompagnée souvent de différents symptômes cliniques et d'anomalies histologiques. Parmi les facteurs qui peuvent expliquer cette baisse de croissance, on peut envisager, outre la présence de produits toxiques ou peu assimilables dans les graisses chauffées, une action défavorable sur l'efficacité biologique d'autres constituants de la ration, en particulier des composés azotés.

Selon Curvelier *et al* ; 2012, lorsque les huiles chauffées sont incorporées dans des produits alimentaires, il est à craindre des réactions de co-oxydation initiées par les produits d'oxydation des acides gras, pouvant notamment conduire à une perte en acides aminés essentiels et à une diminution de la digestibilité des protéines.

Selon Lopez-Varela *et al.* (1995) et Sanchez-muniz *et al.* (1998), le retard de croissance observé chez des rats nourris avec des huiles végétales oxydées est attribué à plusieurs facteurs :

- La diminution de l'apport en acides gras essentiels (18 :2 w6 et 18 :3 w3) suite à leur oxydation, ainsi que la diminution de leur absorption intestinale ; or ces acides gras sont indispensables à la croissance ;
- Diminution de la disponibilité en acides aminés, tels la L-lysine et le tryptophane considérés comme indispensables à la croissance, Henrik *et al.* (1992), rapportent que la valeur biologique, la digestibilité ainsi que la disponibilité en acides aminés diminuent suite à la complexation des acides aminés avec les produits d'oxydation.

En ce qui concerne l'étude anatomique, nos observations sur le poids du foie sont rapprochées de celles d'Alam et Hussain.,(2014) qui ont mentionné que l'huile de moutarde oxydée a considérablement augmenté le poids du foie. En effet, nos résultats montrent une augmentation du poids de cet organe chez les lapins de tous les groupes traités avec l'huile d'olive vierge chauffée par rapport aux témoins. Ces résultats sont aussi en accord avec ceux de Zeb, (2014) chez les lapins ayant consommés l'huile de tournesol chauffée à 160°C pendant 9h .

Kaunitz *et al.* (1955) et de Pomng *et al.* (1960, 1962) ont observé un agrandissement du foie des animaux recevant des huiles végétales chauffées. Ce phénomène est observé aussi par de nombreux auteurs (Potteau et Cluzan., 1966 ; Causeret, 1982 ; Sanchez-Muniz *et al.*, 1998).

Varela-Lopez *et al.*, (1995), ont observé les mêmes résultats lorsqu'ils incorporent 15% de l'huile de tournesol thermooxydée lors des fritures sans aliment répétées à des rats, pendant 27 jours. En effet les hépatocytes augmentent de taille et s'enrichissent en vacuoles. Les dommages causés sont souvent irréversibles, ce qui constituerait un risque potentiel pour l'organisme.

Selon Bitam, (2005). Les rats nourris à un régime supplémenté à 10% par l'huile de tournesol thermo-oxydée ont accusé un retard de croissance de 23%. Par ailleurs, l'indice hépatosomatique a augmenté ce qui témoigne l'hypertrophie du foie.

Dans leur étude sur les effets des régimes hyperlipidiques à différents taux d'AG *trans* sur le stress oxydant et le dysfonctionnement du foie de rat, Dhibi *et al.*, (2011) ont montré que l'ingestion pendant quatre semaines d'un régime à base d'huile de soja thermooxydée, a induit une forte hypertrophie des hépatocytes de foie de rats.

Toutefois, dans ce contexte expérimental, la part des effets associés à l'hypertrophie observée chez les lapins traités avec l'huile d'olive thermooxydées s'explique par un dépôt de lipides et une infiltration de nombreuses cellules inflammatoires dans le foie, ainsi que d'autres anomalies dans les hépatocytes comme leur gonflement et « vidange » de leur cytoplasme (milieu cellulaire vide) montrant une nécrose de ces cellules. (Bitam, 2005)

Concernant l'impacte de la consommation de l'huile d'olive vierge thermo oxydée sur le profil lipidique sérique chez les lapins nous avons enregistré une tendance à une augmentation du taux de cholestérol, des triglycérides et du LDL-C chez les lapins traités avec une huile d'olive vierge thermo oxydée par rapport aux lapins témoins.

D'autre part nous constatons qu'une consommation d'une huile d'olive vierge thermo oxydée pourrait diminuer le taux de HDL-C sérique chez les lapins par rapport aux témoins. Nos résultats sont en accord avec les études de Afshan *et al.*, (2019) décrit chez des lapins soumis aux régimes à base de différentes huiles (huile de canola, huile de tournesol, huile d'olive) chauffées à 300° C pendant 45 minutes par rapport aux témoins.

Les travaux d'Uddin *et al* (2018) ont montré que lorsque l'huile de maïs chauffée pendant 5h et 10h a été administrée aux lapins, une augmentation du cholestérol total sérique, des TG et des LDL a été observée par rapport aux témoins. Ainsi nos données concordent avec ceux de Zeb et Shah (2015) qui ont rapporté une augmentation du taux du cholestherol total, des triglycerides et de LDL-c chez les lapins ayant consommés une margarine végétale traitée thermiquement à 160°C pendant 10h successive à l'aire libre.

Sun *et al* (2010) ont constaté que la teneur en TG dans le plasma a augmenté progressivement chez tous les lapins ayant consommée une huile oxydée.

Adam *et al.* (2008) ont constaté également une augmentation du cholestérol total (CT) sérique et une baisse du HDL-C sérique chez tous les rats nourris à l'huile de palm chauffée.

De même, aux conclusions de Rueda-Clausen *et al.* (2007), où il a été constaté que la consommation d'huile de palme frite augmentait le taux de TG sérique chez l'homme.

Ayodeji *et al* (2015) montrent l'effet des régimes d'huile de palme oxydés thermiquement sur le cholestérol LDL plasmatique (LDL-c), et qui ont révélé une augmentation significative ($P < 0,05$) de LDL-c plasmatique chez les lapins des groupes recevant des régimes d'huile de palme oxydés thermiquement par rapport au groupe témoin. L'effet a été le plus prononcé dans le groupe nourri avec un régime à base de l'huile de palm oxydée thermiquement pendant 20 min. Jaarin *et al.* (2006), ont rapporté qu'une alimentation prolongée avec de l'huile de soja chauffée une fois augmente le taux de LDL- c sérique chez les rats. En outre, une augmentation du taux de cholestérol LDL est un facteur de risque de maladies cardiovasculaires telles que l'athérosclérose.

Les acides gras trans (AGT) sont des isomères stériques des acides gras insaturés cis courants contenant au moins une double liaison dans la configuration trans. Les AGT sont présents dans la viande et les produits laitiers à des niveaux significatifs et également formé dans le rumen par hydrogénation bactérienne. Mais ils sont présents à des niveaux beaucoup plus élevés dans les aliments frits transformés et ceux souvent fabriqués avec des huiles végétales hydrogénées.

Une association possible a été montrée entre la consommation des acides gras trans et le risque de maladie coronarienne. Il a été prouvé qu'ils ont des effets indésirables sur les lipides sanguins, notamment une augmentation de la concentration de LDL-cholestrol et une diminution de la concentration de HDL-cholestrol (Khor et Mohd, 2008).

La preuve que l'utilisation des AGT dans les aliments représente un risque pour la santé s'est accumulée et un groupe nutritionnel américain a récemment lancé une campagne visant à les éliminer des recettes d'aliments transformés. Les AGT ont déjà été réduits au Danemark, où les directives du gouvernement fixent la quantité maximale tolérée dans les aliments. L'apport en AGT a été associé à un risque accru de cardiopathie congénitale. Ceci est corrélé à une augmentation des concentrations plasmatiques de cholestérol total, de LDL-cholestérol, de triacylglycérols et à une diminution des taux de HDL-cholestérol, donc une augmentation des risque des maladies coronariennes (Mensink, 1990).

Des essais cliniques, ont montré que la consommation d'AG *trans* induisait, comme les AGS, une augmentation du cholestérol plasmatique, notamment le C-LDL et une baisse du taux de C-HDL pouvait se produire. En conséquence, les AG *trans* pouvaient être plus athérogènes que les AGS (Van de Vijver *et al.*, 2000 ; Sunet *al.*, 2007).

Des études menées par Ascherio *et al.*, (1996) ; Pietinen *et al.*, (1997), Oomen *et al.*, (2001) ; Oh *et al.*, (2005) ont montré qu'une augmentation de 2% de l'apport énergétique total par les AG *trans* augmentait de 23% le risque de maladies cardiovasculaire (Mozaffarian *et*

al., 2006). De plus, la consommation d'AG trans promouvait l'inflammation (Mozaffarian *et al.*, 2004 ; Lopez-Garcia *et al.*, 2005) et un dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire. Mais, la relation entre AG *trans* et diabète est encore controversée (Mozaffarian *et al.*, 2006). Cela concorde avec nos résultats où nous avons enregistré une augmentation très hautement significative du taux de LDL-c et une baisse du taux de HDL-c chez les lapins des lots C et D qui ont consommé une huile d'olive thermooxydée riche en acide gras trans Elaidique qui est l'acide trans isomère de l'acide oléique.

Par contre nos résultats contrastent ceux de Bitam (2005) qui a noté une baisse du taux de cholestérol sérique chez les rats ayant consommé une huile de tournesol chauffée sans aliment en continu pendant 48 h à 98°C et ceux de Cuesta *et al.*, (1988) qui constatent une baisse du taux de cholestérol après administration aux rats d'une huile d'olive utilisée en friture.

Le suivi des marqueurs retenus pour l'étude du stress oxydant nous a permis de constater que, l'huile thermooxydée alimentaire peut représenter une source directe du stress oxydant pour l'organisme vivant. Les AGL alimentaires peuvent influencer la susceptibilité des cellules au stress oxydant à travers des changements de la composition en AG de leurs membranes (Nakbi *et al.*, 2010).

Le foie joue un rôle crucial dans le contrôle des AG et le métabolisme des TAG par la synthèse, le stockage, la sécrétion et l'oxydation des AGL. Environ 60 et 80% des lipides hépatiques ont pour origine les AGL du tissu adipeux transportés dans le plasma (Donnelly *et al.*, 2005). Ainsi nos résultats montrent que quelque soit la durée de cuisson la consommation d'une huile d'olive vierge thermo oxydée provoque au niveau du foie, une augmentation du taux des lipides et une réduction du taux des protéines totales, ce qui indique que les régimes à base d'huile d'olive vierge oxydée thermiquement peuvent altérer la synthèse des protéines dans le foie. Des effets identiques ont été soulignés par Ayodeji *et al.* (2015) chez des rats ayant consommé une huile de palme chauffée respectivement pendant 10, 15 et 20 min à 180°C.

Les peroxydes sont des molécules instables appelées au sens large radicaux libres de l'oxygène. Cette structure chimique caractéristique les rend néfastes pour l'organisme vivant.

En effet, pour combler la vacance de leur orbite par appariement avec un autre électron et stabiliser ainsi leur énergie, ils interagissent avec divers composés comme les AGPI des phospholipides des membranes cellulaires, les acides nucléiques et les acides aminés des protéines induisant ainsi une perte d'activité enzymatique (Bonnefis, 2005).

Par ailleurs, les produits d'oxydation des AG de l'huile (peroxydes lipidiques) peuvent avoir des effets mutagènes et carcinogènes en modifiant le matériel génétique de la cellule. Certains produits secondaires de dégradation des lipides, comme le malondialdéhyde (MDA) ou les *4-hydroxylcénals* peuvent avoir des effets inhibiteurs sur les systèmes enzymatiques membranaires (chaîne respiratoire) et sur la synthèse protéique (Addis, 1986).

Les AGI présents dans notre huile d'olive vierge se sont détériorés en AG *trans* au cours du traitement thermique. Les insaturations vont alors former des peroxydes et des radicaux libres (Frankel, 1984), néfastes pour la santé.

Selon nos résultats, l'une des observations les plus marquantes a été le taux hépatique du GSH qui est significativement diminués chez les lapins traités avec une huile d'olive thermooxydées par rapport aux témoins. Le principal organe de détoxification est le foie, il est le réservoir de la plus grande concentration en glutathion dans le corps. La diminution du GSH est expliquée par la participation du foie à l'élimination des différents métabolites toxiques résultant de la dégradation du xénobiotique tels que les peroxydes lipidiques.

La consommation d'une huile d'olive thermooxydées par les lapins était accompagnée d'une augmentation du taux de CAT au niveau du foie des lapins. L'une des multiples fonctions de la catalase physiologiques consiste à réguler les niveaux d'H₂O₂ en le décomposant en H₂O et O₂. Ceci explique qu'elle soit utilisée comme marqueur impliqué dans la défense primaire contre les dommages oxydatifs (Pellerin-Massicote, 1997). Selon (Maritim *et al.*, 2003) la catalase est un antioxydant enzymatique, qui décompose le radical hydroxyle, il est largement distribué dans tous les tissus avec une activité importante dans les globules rouges et le foie.

Notre étude a montré une diminution très hautement significative de l'activité de la CAT ($p < 0,001$) chez les lapins traités avec 15% d'huile d'olive vierge chauffée pendant trois et quatre heures par rapport aux lapins du groupe témoin. Il a été démontré que l'activité de la CAT était affectée de manière significative par l'huile d'olive vierge oxydée thermiquement, qui contiennent les AGT. Des résultats similaires sont observés par Dhibi *et al* (2011) chez des rats traités avec une huile de soja chauffée.

Selon Ringseis (2007), des niveaux plus élevés de composés d'oxydation présents dans les huiles chauffées peuvent dominer les activités antioxydantes endogènes

Des études ont montré que la réduction de l'activité de l'enzyme CAT résulte de divers effets délétères dus à l'accumulation de radicaux superoxydes et hydroxyles (Ramachandran, 2013) et que la perte d'activité de la CAT entraîne une intolérance à l'oxygène et déclenche un

certain nombre de réactions délétères telles que l'oxydation des protéines et de l'ADN et la mort cellulaire (Halliwell et Gutteridge, 1999).

Dans cette étude, les activités dans le foie de lapin suggèrent que la consommation croissante d'AGT est associée à la diminution de l'efficacité du système antioxydant-enzymatique et donc à l'augmentation du stress oxydatif dans le foie de lapin. Les AGT peuvent conférer leur effet en renforçant les mécanismes de signalisation intrinsèques conduisant à un état pro-inflammatoire chronique.

Nos résultats confirment ceux de Dhibi *et al.* (2011) sur des souris exposées au stress oxydatif généré par les AGT issus de la consommation de 20% de l'huile de soja chauffée pendant 24h à 220°C et qui ont montré qu'une étroite corrélation négative avait été observée entre les niveaux de AGT dans le régime alimentaire et les activités de CAT dans le foie de rat, ce qui suggère qu'une augmentation de la consommation de AGT est associée à une diminution de l'efficacité du système antioxydant-enzymatique et donc, avec l'augmentation du stress oxydatif dans le foie du rat

Dans les conditions de notre études, le taux de GST est significativement augmenté ($p < 0,001$) chez les lapins traités avec une huile d'olive chauffée par rapport au groupe témoin. La principale fonction de ces enzymes antioxydantes est la protection des cellules contre les différents hydroperoxydes résultant d'espèces oxygéniques réactives (ERO) (Yamaoka *et al.*, 1988)

La glutathion-S-transférase (GST) est une enzyme qui joue un rôle important dans l'intoxication des xénobiotiques et/ou dans la protection contre des métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules suite à leur exposition aux RL (Hayes, 1995). Ce qui indique que la présence des acides gras trans dans notre huile d'olive chauffée provoque un stress oxydant, pendant lequel les cellules tendent à compenser ce déséquilibre en activant les éléments du système de défense antioxydant comme la GST.

La consommation de lipides fournit suffisamment d'énergie au corps via les triglycérides. De plus, l'organisme synthétise ses propres acides gras essentiels à partir de substances grasses ingérées (Dupin *et al.*, 1992). Mais sous une chaleur intense, les acides gras essentiels sont dégradés et l'huile ne fournit pas ces nutriments au corps, mais plutôt des radicaux libres toxiques (Frankel, 1984). Ceci est prouvé dans notre étude par l'augmentation hautement significative du niveau de MDA dans le foie des lapins des groupes B, C et D par rapport aux lapins des groupes témoins. Des effets identiques ont été soulignés par Jolanta. Z *et al.* (2015) qui ont mentionnés une augmentation du taux de MDA chez les lapins traités avec l'huile d'olive et l'huile de colza chauffées pendant 6h à 180°. nos résultats sont

également cohérents avec les études de dhibi *et al.*, (2011) décrits chez des rats soumis au régime à base de huile de soja chauffée pendant 24h à 220°C. Ce qui indique une manifestation claire de la formation excessive de radicaux libres et de peroxydes lipidiques (Dhibi *et al.* 2011), et explique pourquoi l'huile d'olive vierge thermo-oxydé et les AGT représentent une source directe de stress oxydatif pour le corps.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

IV. Conclusion et perspective

Les lipides jouent un rôle important dans la vie humaine pour une alimentation saine. Les huiles végétales destinées à la consommation sont reconnues comme un bon support pour les vitamines A, D, E et K. De plus, ce sont de bonnes sources d'énergie pour le corps. Ce sont des composants indispensables de notre alimentation en raison de leur teneur en acides gras essentiels. Cependant ces huiles ne sont pas des produits stables; par conséquent, ils se détériorent par diverses réactions chimiques en peu de temps, en particulier à des températures élevées. La plus importante de ces réactions est la réaction d'oxydation.

L'huile d'olive est un aliment lipidique méditerranéen idéal, grâce à ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Le présent travail contribue à une connaissance de la qualité de l'huile d'olive de l'est algérien et déterminer l'influence du traitement thermique sur la composition et la qualité de cette huile.

La dégradation de l'huile d'olive sous traitement thermique est un problème complexe du point de vue chimique, en raison de l'énorme quantité de différents composés dans sa composition, ainsi que du point de vue des effets potentiels sur la santé, dérivé des réactions et des interactions qui se produisent sous stress thermique. Ce problème a été provisoirement évalué dans diverses études publiées, en utilisant une multitude de méthodes analytiques, certaines de spécificité réduite et en dehors des conditions réelles de cuisson domestique liées au temps, à la température et à la présence d'aliments. Ainsi, pour des conclusions viables, des protocoles méthodologiques et des méthodes d'essai fiables sont nécessaires pour traiter le véritable effet de cuisson sur la composition de l'huile d'olive et donc sa biodisponibilité potentielle et ses effets sur la santé.

Notre étude s'est assignée deux objectifs ; le premier portée sur l'évaluation du traitement thermique sur la qualité de l'huile d'olive; qui a été soumise à des températures distincte, pendant des périodes différentes de 1h, 2h, 3h et 4h heures, en continue.

L'étude de certains paramètres de qualité de cette huile avant le traitement thermique a montré qu'elle possède des caractéristiques de l'huile d'olives vierge non oxydée en se référant à la norme commerciale du Conseil Oléicole International.

Les températures appliquées dans notre étude ont permis une forte accumulation des peroxydes considérés comme des produits d'oxydation ce qui est justifier par les valeurs significativement très élevées de l'indice de peroxyde, enregistrée par cette huile chauffée en continue pendant 3h et 4h.

A travers cette étude, nous avons démontré aussi que l'acidité libre, la teneur en chlorophylle et l'indice d'iode sont fortement influencées par les différents traitements thermiques. Pour mieux évaluer l'effet des températures élevées sur l'oxydation de cette huile, l'analyse chromatographique par CG-MS de la composition en acide gras a été effectuée. Les résultats de ces analyses montrent une dégradation importante des acides gras insaturés au cours d'une élévation de température.

Il est à signaler qu'au niveau de l'huile d'olive vierge chauffée pendant 3h et 4 h il y'a l'apparition de l'acide gras trans Elaidique avec un pourcentage de 3,66% et 6,27% respectivement. Ce qui confirme la sensibilité particulière de cette huile aux traitements thermiques sévère.

Le deuxième objectif de cette thèse concerne l'effet de la consommation de cette huile chauffée qui a été incorporée pendant quatre semaines dans le régime alimentaire des lapins.

Il existe de plus en plus d'évidences sur les relations de cause à effet entre l'alimentation et le développement des maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, certains cancers et l'obésité.

L'influence de l'ingestion de l'huile d'olive vierge de la variété balquette thermooxydée sur le poids corporel, le poids du foie et la quantité d'aliment a été étudié puis comparées aux ceux des lapins ayant ingéré l'huile d'olive fraîche de la même variété.

Un retard de croissance chez les lapins ayant ingéré l'huile thermooxydée a été constaté malgré une quantité d'aliment similaire ingérée chez les différents lots. Par ailleurs nous avons enregistré une augmentation du poids de foie notamment chez les lapins des lots traités pendant un mois avec une huile d'olive vierge chauffée pendant 2h, 3h et 4 h.

Notre travail s'est porté aussi sur l'effet de la consommation de l'huile d'olive vierge thermooxydée sur le profil lipidique d'une part et sur les paramètres du status oxydatif hépatique d'autre part. Le traitement avec une huile d'olive oxydée thermiquement a eu des effets délétères sur le profil lipidique sérique chez les lapins. Les effets étaient plus prononcés chez ceux nourris avec des régimes à base d'huile d'olive vierge chauffée pendant 2h, 3h et 4h.

L'huile d'olive thermooxydée administrées aux lapins pendant quatre semaines a induit une peroxydation lipidique dans le foie par rapport aux témoins. Ceci est confirmé par un taux de MDA significativement élevé.

Ainsi il en ressort de ce travail que la consommation d'une huile d'olive vierge traitée thermiquement provoque une diminution du taux de GSH. Cela pourrait s'expliquer par la participation aux réactions détoxifiantes des peroxydes accumulés en continu

Par conséquent, la consommation de l'huile d'olive vierge soumise à un traitement thermique pendant plusieurs longues périodes doit être découragée dans nos maisons car cela pourrait avoir des effets délétères sur la santé humaine.

Dans le souci de se prémunir contre l'action néfaste des peroxydes lipidiques alimentaires et de préserver la santé, il est impératif de sensibiliser les industriels à enrichir les huiles végétales destinées à la cuisson et aux fritures avec des molécules anti-oxydantes d'origine naturelle, comme les composés phénoliques. Ceci constitue une perspective de recherche à envisager pour améliorer la stabilité thermo-oxydative des huiles végétales.

Les résultats de cette étude ouvrent aussi plusieurs pistes d'explorations :

- Etant donné que les huiles végétales sont largement consommées dans le monde, il serait intéressant de comparer les effets de l'oxydation de plusieurs huiles végétale raffinée ou partiellement hydrogénées (riches en acides gras *trans*) sur la santé du consommateur. Ceci permettrait de le rassurer dans le choix des produits.
- Etudier l'effet de la consommation d'une huile végétale thermooxydée sur d'autres paramètres du stress oxydatif (SOD, GPX)
- Réaliser une étude histologique pour confirmer les dommages structuraux au niveau du foie

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

III. Références bibliographiques

A

A.F.N.O.R, 1981. Recueil de Normes françaises, Corps Gras, Graines Oléagineuses, Produits Dérivés. 2eme édition

Abbey M., Belling G., Noakes M, 1993. Oxidation of low-density lipoproteins : intraindividual variability and the effect of dietary linoleate supplementation. *Am J Clin Nutr*, 57: 391-398.

Adam S., Soelaiman I., Umar A., Mokhtar N., Mohamed N., Jaarin K, 2008. Effects of repeatedly heated palm oil on serum lipid profile, lipid peroxidation and homocysteine levels in a post-menopausal rat model. *McGill J Med*; 11(2):145-51.

Addis P, 1986. Occurrence of lipid oxidation products in food. *Fd. Chem. Toxic* 24:1021-1030.

Addis P., Warner G, 1991. The potential health aspects of lipid oxidation products in food. In *Free Radicals and Food Additives*: 77-119 [O.I. Arouma and B. Halliwell, editors]. London: Taylor and Francis.

Adrian J., Danvillier P., Poiffait A., Potus J, 1997. Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. Edition : Tec & Doc, Lavoisier, Paris: 47-57 et 165-171.

Aebi H, 1984. Catalase *in vitro* In: *Methods in Enzymology*. Packer, L. (2nd) Vol.105. Academic Press. Orlando. FL. pp. 121-126.

Aladedunye F., Przybylski R, 2009. Degradation and Nutritional Quality Changes of oil during frying. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86, (2), 149-156.

Alain C, 1974. *Clin. Chem*, 20/4, p 470-475 in cholesterol method CHOD-pap. Version : FT 80106 29 11 2007.

Alam Z., Hussain S, 2014. Sea buckthorn seed powder provides protection in the oxidative stress produced by thermally oxidized sunflower oil in rabbits *Journal of food biochemistry*. 38, 498-508.

Albi T., Lanzón A., Guinda A., Pérez-Camino M., León M, (1997b). Microwave and conventional heating effects on some physical and chemical parameters of edible fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3000–3003.

Alexander J., Chanin B., Moran E, 1983. Nutritional effect of fresh, laboratory heated and pressure deep fry fats. *J. Food Sci.*, 48:1289-1292.

- Allam S., El-Sayed F, 2004.** Fortification of fried potato chips with antioxidant vitamins to enhance their nutritional value and storage ability. *Grasas y Aceites*, 55(4), 434-443.
- Allouche Y., Jiménez A., Gaforio J., Uceda M., Beltrán G, 2007.** How heating affects extra virgin olive oil quality indexes and chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9646–9654.
- Andreyev A., Kushnareva Y., Starkov A., 2005.** Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)*. 70(2): 200-14.
- Andrikopoulos N., Kalogeropoulos N., Falirea A., Barbagianni M, 2002.** Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. *International Journal of Food Science and Technology*, 32, 177–190.
- Anses, 2011.** Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Rapport d'expertise collective. 323 p.
- Anses, 2011.** Impact des pratiques en alimentation animale sur la composition en acides gras des produits animaux destinés à l'Homme. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort, France.
- Aparicio R., Luna G, 2002.** Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 614-627.
- Aparicio R., Roda L., Albi M., Gutiérrez F, 1999.** Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4150-4155.
- Artman N, 1969.** The chemical and biological properties of heated and oxidized fats. In *Advances in Lipid Research*, 7: 245-330 [R. Paoletti and D. Kritchevsky, editors]. London: Academic Press.
- Ascherio A., Rimm E., Giovannucci E, 1996.** Dietary fat and risk of coronary heart disease in men: cohort follow-up study in the United States. *BMJ*, 313: 84-90.
- Awad A. Downie, A. et Fink C, 2000.** Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDAMB-231 human breast cancer cells in culture. *Int J Mol Med*, 5: 541-545.

Awad, A. Von Holtz R., Cone J., Fink C., Chen Y, 1998. Beta-Sitosterol inhibits growth of HT-29 human colon cancer cells by activating the sphingomyelin cycle. *Anticancer Res*, 18: 471-473.

Ayodeji O F., Ganiyu O., Adedayo O A., Oluwatoyin V O, 2015. Consumption of Thermally Oxidized Palm Oil Diets alters Biochemical Indices in Rats. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 4(2):150-156

B

Bastida S., Sánchez-Muniz, F, 2002.Polar content vs. TAG oligomer content in the frying-life assessment of monounsaturated and polyunsaturated oils used in deep-frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 447–451.

Belitz, H., Grosch W., Schieberle P, 2009b. Lipids. In *Food Chemistry*, 4th ed.; Springer Berlin Heidelberg, , pp 158-247.

Benabid H, 2009. Caracterisation de l'huile d'olive algerienne apports des méthodes chimiométriques.

Benrachou N, 2010. Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien

Bešter E., Butinar B., Bučar-Miklačić M., Golob T, (2007). Chemical changes in extra virgin olive oil from Slovenian Istra after thermal treatment. *Food Chemistry*, 1-19.

Billek G, 2000. Health aspects of thermoxidized oils and fats. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102, (8-9), 587-593.

Binkoski A., Kris-Etherton P., Wilson T., Mountain M., Nicolosi R, 2005. Balance of unsaturated fatty acids is important to a cholesterol-lowering diet: comparison of mid-oleic sunflower oil and olive oil on cardiovascular disease risk factors. *J. Am. Diet Assoc.* 105(7): 1080–1086.

Blekas G., Psomiadou E., Tsimidou M., Boskou D., 2002.On the importance of total polar phenols to monitor the stability of greek virgin olive oil.*European Journal of lipid Science and technology*, 104(6): 340-346.

Bonanome A., Pagnan A., Biffanti S, 1992. Effect of dietary monounsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoproteins to oxidative modification. *Arterioscler Throm*, 12: 529-533.

Bonnefis C, 2005. Effets biologiques des peroxydes et approche de la participation des aliments composés à leur apport chez le chien et le chat. Thèse de doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse, France.

Boskou D, 1996. Olive Oil Composition. In *Olive Oil : Chemistry and Technology*. AOACS Press, USA, 52-83, 85-127.

Boskou G., Salta F., ChiouA., Troullidou E., Andrikopoulos N. 2006.Content of trans, trans-2,4-decadienal in deep-fried and pan-fried potatoes. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 109–115.

Botía J., Ortuño A., Benavente-García O., Báidez A., Frías J., Marcos D., Del Río J, 2001. Modulation of the biosynthesis of some phenolic compounds in *Olea europaea* L. fruits : Their influence on olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 355-358.

Boveris A., Oshino N., Chance B., 1972. The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J*; 128: 617-630.

Bredt D, 1999. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radic Res.*; 31(6): 577-96.

Brenes M., García A., Dobarganes M., Velasco J., Romero C, 2002. Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5962–5967.

Brenes M., Garcia A., Garcia P., Rios J., Garrido A., 1999, Phenolic compounds in Spanish olive oil. *J Agri. Food Chem*, 47 : 3535-40.

Brevedan M., Carelli A., Crapiste G, 2000.Changes in composition and quality of sunflower oils during extraction and degumming. *Grasas Y Aceites* 51 (6): 417-423.

Bruhl L., Weisshaar R., Matthaus B, 2016. Epoxy fatty acids in used frying fats and oils, edible oils, and chocolate and their formation in oils during heating. *Eur J Lipid Sci Technol* 118:425–34.

Bruni U., Cortesi N., Fiorino P, 1994.Influence of agricultural techniques, cultivation and origin area on characteristics of virgin olive oil and on levels of some of its minor components. *Olivae*, 53: 28-34.

C

Cadet J., Delatour T., Douki T., Gasparutto D., Pouget JP., Ravanat JL., Sauvaigo S, 1999. Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat Res.*; 424: 9-21.

Camps.,G Faber H, 1953. L'olivier et huile dans l'agri que romaine»

Caponio F., Pasqualone A., Gomes T, 2003.Changes in the fatty acid composition of vegetable oils in model doughs submitted to conventional or microwave heating. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 481–486.

Caponio F., Pasqualone A., Gomes T., 2002. Effects of conventional and microwave heating on the degradation of olive oil. *European Food Research and Technology*, 215, 114–117.

Carrasco-Pancorbo A., Cerretani L., Bendini A., Segura-Carretero A., Lercker G., Fernández-Gutiérrez A, 2007.Evaluation of the influence of thermal oxidation on the phenolic composition and on the antioxidant activity of extra-virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4771–4780.

Casal S., Malheiro R., Sendas A., Oliveira B., Pereira, J, 2010. Olive oil stability under deep-frying conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2972–2979.

Cerretani L., Bendini A., Rodriguez-Estrada M., Vittadini E., Chiavaro E, 2009. Microwave heating of different commercial categories of olive oil: Part I. Effect on chemical oxidative stability indices and phenolic compounds. *Food Chemistry*, 115, 1381–1388.

Cheikhousman R., Zude M., Bouveresse D., Léger C., Rutledge D., Birlouez-Aragon, I, 2005. Fluorescence spectroscopy for monitoring deterioration of extra virgin olive oil during heating. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382, 1438–1443.

Chimi H., A.Sadik, B Tutour., M .Rahmani, 1988. Contribution à L'étude comparative des pouvoirs antioxydants dans l'huile d'olive du tyrosol, de l'hydroxytyrosol, de l'acide caféique, de l'oleuropéine et du BHT ; *Revue française des corps gras* » N° 8/9 ; 339-343.

Chimi H., Rahmani M., Cillard J., Cillard P, 1990. Autooxydation des huiles d'olive: Rôle des composés phénoliques. *Rev. Fr. Corps Gras*, 22.

- Choe E., Min D, 2007.** Chemistry of deep-fat frying oils. *J. Food Sci.* 72: R77-R86.
- Chow C, 2008.** Biological Effects of Oxidized Fatty Acids. CRC Press. Taylor & Francis group. Third edition : 855-878
- Chow C, 2008.** Biological Effects of Oxidized Fatty Acids. CRC Press. Taylor & Francis group. Third edition : 855-878
- Christie, W., Dobson G, 2000.** Formation of cyclic fatty acids during the frying process. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, (8-9), 515-520.
- Christie, W., Dobson G, 2000.** Formation of cyclic fatty acids during the frying process. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, (8-9), 515-520.
- Christopoulos E., Lazareki M., Komaitis M., Kaselimis K, 2004.** Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oil with vegetable oils. *Food Chem.*, 84, p. 463 – 474.
- Cinquanta L., Esti M., Notte E, 1997.** Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. *J. Am Oil Chem Soc*, 10 : 1259-1264.
- Claude J, (2014).** Olive oil, *OCL*, 21(5) D501.
- Codex Alimentarius, 1993.** Norme Révisée pour les Huiles d'Olive, CL 1993/15-FO.
- Codex Alimentarius, 2003.** Food and Agriculture Organisation of the United Nations .World Health Organisation, via delle terme di Caracalla 00100 Rome. Italie.
- Cohn J, 2002.** Oxidized fat in the diet, postprandial lipaemia and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Lipidol.* 13: 19–24.
- Combes N., Constantin M., Entressangles B, 1978.** Etude sur les huiles chauffées. IV- Absorption intestinale des espèces chimiques nouvelles formées lors du chauffage des huiles.. In *Rev. Fr. des corps gras.* N°1, pp : 27-28.
- Comhair SA., Erzurum S., 2002.** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*; 283(2): L246-55.
- Communauté Européenne (CE), 2000.** Le secteur de l'huile d'olive dans l'Union européenne. Commission européenne. Direction générale de l'Agriculture

Conseil Oléicole International (COI), 1981. .Caractéristiques de la composition des huiles d'olives .T. 15 / Doc n°23, Madrid.

Conseil Oléicole International (COI), 1990. Activités de coopération Technique. Olivea 38.

Conseil Oléicole International (COI), 2005. Norme commerciale applicable à l'huile d'Olive et à l'huile de grignons d'olive. COI /T. 15/NC n°2/Rev.10.

Cossignani L., Simonetti M., Neri A., Damiani P, 1998. Changes in olive oil composition due to microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 931–937.

Criado M., Motilva M., Goni M., Romero M, 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.

Cuvelier M ., Maillard M, 2012. Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *OCL* ; 19(2) : 125-132.

D

Dana D., Saguy I, 2001. Frying of Nutritious Foods: Obstacles and Feasibility. *Food Sci. Technol. Res.* 7, (4), 265-279.

Daskalaki D., Kefi G., Kotsiou K., Tasioula-Margari M, 2009. Evaluation of phenolic compounds degradation in virgin olive oil during storage and heating. *Journal of Food and Nutrition Research*, 48, 31–41.

De Felice M., Gomes T., Catalano M, 1979. Oil Extraction from olives by Continuous Industrial Processing. *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 56 : 361.

De Greyt W., Petrauskaite V., Kellens M., Huyghebaert A, 1998. Analysis of tocopherols by gas-liquid and high-performance liquid chromatography: a comparative study. *Food/Lipid* 100 (11): 503-507.

Decker E., 1995. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as non essential dietary antioxidants. *Nutr Rev*, 53 : 49-58.

Defraigne J, Pincemail C, 2008. Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liège.*; 63: 10-19.

Delplanque B., Jusselin I., Le Roy B., Motta C., 1999. Intérêt nutritionnel des huiles d'olive. *Oléagineux corps gras lipids*, 6: 86-93.

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.

Di Giovacchino L., 2000. Technological Aspects. In : *Handbook of olive oil : Analysis and properties* . Harwood, J. et Aparicio, R. Edition : An Aspen Publication, USA, 17-59.

Di Giovacchino M., Mascolo L., Solinas M., Angerocha F., 1980. Incediza dei Sistemi di Lavorazione della Oliva sui taluni parametri indicativi della Qualita dell'Olio d'Oliva. In : *Proceedings of the 3rd Congr. Biological Value of Olive Oil*, Crete, 683-688.

Dobson G., Christie W., Sebedio J., 1996a. Gas chromatographic properties of cyclic dienoic fatty acids formed in heated linseed oil. *J. Chromatogr. A*, 723, (2), 349-354.

Dobson G., Christie W., Sebedio J., 1996a. Gas chromatographic properties of cyclic dienoic fatty acids formed in heated linseed oil. *J. Chromatogr. A*, 723, (2), 349-354.

Donnelly K., Smith C., Schwarzenberg S., Jessurun J., Boldt M., Parks E., 2005. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Invest.*, 115:1343-1351.

Draper H., Hadley M., 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 186, 421–431. Dupin, H., et al., 1992. *Alimentation et nutrition humaine*. Paris: ESF, pp. 533.

Draper H., Polensek L., Hadley M., Mcgirr L., 1984. Urinary malondialdehyde as an indicator of lipid peroxidation in the diet and in the tissues. *Lipids* 19, 836-843.

Dröge W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*; 82: 47-95

Durand G., Guesnet P., Chalon S., Alessandri J., Rizkalla S., Lebranchu Y., 2002. Importance nutritionnelle des acides gras polyinsaturés. In : ROBERFROID M. Ed. *Aliments fonctionnels*. Paris : Edition Tec & Doc. Lavoisier : 193-219.

E

Eckel R., Borra S., Lichtenstein A., Yin-piazza S., 2007. Understanding the complexity of *trans* fatty acid reduction in the American diet: American Heart Association Trans Fat

Conference 2006: report of the Trans Fat Conference Planning Group. *Circulation*, 115:2231-2246.

El Anany AM., (2007). Influence of Pomegranate (*Punica granatum*) peels extract on the stability of sunflower oil during deep-fat frying process. *Electronic Journal of Food and Plants Chemistry* 2, 14-19

Ellman G, (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82:70-77.

Emangeared J., Marchand D, 1991. Utilisation de Trisyl dans le raffinage des huiles alimentaires, *Rev. Fr. Corps Gras*, 11/12, 398-400.

Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jürgens G, 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med.*; 13(4): 341-90.

Esterbauer H., Eckl P., Orterer A, 1990. *Mutat Res*, 238: 223-233.

Esterbauer H., Schaur R., Zollner H, 1991. *Free Radical Biol. Med.* 11, 81–128.

Esti M., Cinquanta L., La Notte E, 1998. Phenolic compounds in different olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 32-35.

F

Faur L., 1989. Influence des traitements de raffinage et de transformation sur la qualité et la stabilité des corps gras, *Rev. Franc. Corps Gras*, 36, 265-270.

Feng Z., Hu W., Amin S., Tang M, 2003. Mutational spectrum and genotoxicity of the major lipid peroxidation product, trans-4-hydroxy-2-nonenal, induced DNA adducts in nucleotide excision repair-proficient and –deficient human cells. *iochemistry*; 42(25): 7848-54.

Forsythe C., Phinney S., Fernandez M., Quann E., Wood R., Bibus D., Kraemer W., Feinman R., Volek J, 2008. Comparison of low fat and low carbohydrate diets on circulating fatty acid composition and markers of inflammation. *Lipids.* 43(1): 65–77.

Fossati P., Prencipe L, 1982. *Clin. Chem.* 28, p 2077-2080.

Francois R, 1974. Les industries des corps gras : Biochimie extraction, raffinage, Nuisances et réglementation. *Ed : Lavoisier*, Paris ; ISBN : 2880200075.

Frankel E, 1984. Lipid oxidation: Mechanisms, products and biological significance. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, (12), 1908-1917.

- Freedman J., Farhat J., Loscalzo J., Keaney J, 1996.** Alpha-tocopherol inhibits aggregation of human platelets by a protein kinase C-dependent mechanism. *Circulation*, 94 : 2434-2440.
- Frei B., Stocker R., Ames B, 1988.** Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 85: 9748-9152.
- Friedewald W., Levy R., Frederickson D, 1972.** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 18: 499-502.
- Fullana A., Carbonell-Barrachina A., Sidhu S. 2004.** Comparison of volatile aldehydes present in the cooking fumes of extra virgin olive, olive, and canola oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5207–5214.

G

- Galli C., Visioli F, 1999.** Antioxidant and other properties of phenolics in olives/olive oil, typical compounds of the Mediterranean diet. *Lipids*, 34: S23-S26.
- Gamel T., Kiritsakis A., Petrakis C, 1999.** Effect of phenolic extracts on *trans* fatty acid formation during frying. *Grasas y Aceites*, 50, 421.
- Gandul-Rojas B., Mínguez-Mosquera M, 1996.** Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72 : 31-39.
- Garcia J., Yousfi K., Mateos R., Olmo M., Cert A, 2001.** Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea* fruits). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 4231-4235.
- Garrido-polonio C., García-linares M., García-arias M., López-Varela S., García-Fernández M., Terpstra A., Sánchez-Muniz F, 2004.** Thermally oxidised sunflower-seed oil increases liver and serum peroxidation and modifies lipoprotein composition in rats. *Br J Nutr.* 92:257-265.
- Gertz C., Klostermann S., and Kochhar SP., (2000).** Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology* 102 (8-9): 543-551.
- Gertz C., Klostermann S., Parkash Kochhard S, 2000.** Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature, *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 102, 543-551.

Gertz C., Kochar P, 2001. A new method to determine oxidative stability of vegetable fat and oil at simulated frying temperature. *OCL*. 8, pp: 82 – 91.

Gillery P, 2001. Produits avancés de glycation (AGE), radicaux libres et diabète. *J Soc Biol*,; 195 : 387-390.

Gómez-Alonso S., Fregapane G., Salvador M., Gordon M, 2003. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of virgin olive oil during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 667–672.

Gould W, 1992. Total quality management for the food industries. Baltimore. USA: CTI Publications Inc.

Grandgirard A, 1992.Aspects nutritionnels des constituants des aliments. Influence des technologies. *Les Cahiers de l'ENSBANA*. , Vol 8, pp 49-67.

Grati Kamoun N, 2007. Etude de la diversité génétique de l'olivier en Tunisie – Approche pomologique, chimique et moléculaire. Thèse de doctorat en sciences biologique – Institut de l'olivier .Faculté des sciences de Sfax / Université de Sfax. 68-70.

Grove T, 1979. effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clin Chem*, 25: 560-564. In Cholesterol HDL reactiva precipitante.

Guella I., Asselta R., Ardissino D., Merlini P., Peyvandi F., Kathiresan S., Mannucci P., Tubaro M., Duga S, 2015. Effects of PCSK9 genetic variants on plasma LDL cholesterol levels and risk of premature myocardial infarction in the Italian population,; 51: 3342-3349. In *Journal of Lipid Research*

Guilland J, 2003. Répartition des vitamines dans la nature. In : Les vitamines dans les Industries Agro-Alimentaires. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 40-52.

Guillaumin R, 1973. Determination des espèces chimiques nouvelles formées durant le chauffage des huiles. *Rev. Fr. Corps Gras*, 20, 285–289.

Guillaumin R., Gente M., Barbat C., 1977. Etude sur les huiles chauffées, dégradation des composés non volatils formés lors des fritures. *R.F.C.G*, 10 :477-479.

Gutiérrez F., Jimenez B., Ruiz A., Albi, M, 1999.Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. *J. Agric. Food. Chem*, 47 : 121-127.

H

Haber F., Weiss J, 1934. The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts. *Proc R Soc Lond A*; 147(861): 332-351.

Habig W., Pabst M., Jakoby W, 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The journal of biological chemistry*, 249 (22), 7130–7139.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J., Charlier C., Chapelle J, 2007. Le stress oxydant. *Rev Med Liege*; 62: 628-638.

Halliwell B., Gutteridge J, 1990. Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: An Overview. *Methods in Enzymology*186: 1-85.

Halliwell B., Gutteridge J., 1990. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*; 280(1): 1-8.

Halliwell B.,Gutteridge J., 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* 1: 1396-1398.

Hare J, 2004. Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N Engl J Med*; 351: 2112-2114.

HarrisP., Embree N, 1963. Quantitative consideration of the effect of polyunsaturated fatty acid content of the diet upon the requirements for vitamin E. *Am J Clin Nutr*, 13 : 385-392.

Hartmut K., Lichtnetharler, 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of photosynthetic. *Biomembranes*. N° 148.

Hayam I., Cogan U., Mokady S, 1993. Dietary oxidized oil enhances the activity of (Na+ K+) ATPase and acetylcholinesterase and lowers the fluidity of rat erythrocyte membrane. *J Nutr Biochem* 4: 563-568.

Hayase F., Shibuya T., Sato J., Yamamoto M, 1996. Effects of oxygen and transition metals on the advanced Maillard reaction of proteins with glucose. *Biosci Biotechnol Biochem.*; 60(11): 1820-5.

Heinonen O., Albanes D., Virtamo J, 1998. Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in a controlled trial. *J Natl. Cancer Inst*, 90: 440-446.

Helbock H, Beckman K, Ames B. 1999. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *MethodsEnzymol.*; 300: 156-66.

Hénon G., Kemény Z., Recseg K., Zwobada F., Kovari K, 1999. Deodorization of vegetable oils. Part I: modeling the geometrical isomerization of polyunsaturated fatty acids. *J Am Oil Chem Soc* 76(1):73-81

Henrik K., Finot P., Hurell R, 1985. Reaction of proteins with oxidizing lipids. *Brit.J.Nutr.* Vol.53, pp : 75-86.

Hockenberry MJ., Taylor O., Gundy P., Ross A., Pasvogel A., Montgomery D., Ribbeck P., McCarthy K., Moore I, 2014. F2-isoprostanes: a measure of oxidative stress in children receiving treatment for leukemia. *Biol Res Nurs.*; 16(3): 303-9.

Horwitt M, 1960. Vitamin E and lipid metabolism in man. *Am J Clin Nutr*, 8 : 451-461.

Hsieh R., and Kinsella J, 1989. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food and Nutrition Research*. 33 233-341.

I

Ichinose T., Nobuyuki S., Takano H., Abe M., Sadakane K., Yanagisawa R., Ochi H., Fujioka K., Lee K., Shibamoto T, 2004. Liver Carcinogenesis and Formation of 8-Hydroxy-Deoxyguanosine in C3H/HeN Mice by Oxidized Dietary Oils Containing Carcinogenic Dicarbonyl Compounds. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 42 (11): 1795-1803.

Instituto Federale di Credito Agrario per la Toscana, 1991. La Caratterizzazione delle Oli Extravergine di Oliva "Tipico Toscano" CROEVOTT, Firenze.

Izaki Y., Yoshikawa S., Uchiyama M, 1984. Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats. *Lipids* 19:324-331.

J

Jaarin K., Norhayati M., Norzana G., Nor Aini U., Ima-Nirwana S., 2006. Effects of heated vegetable oils on serum lipids and aorta of ovariectomized rats. *Pak J Nutr*;5(1) p:19-29.

Jean-Marc A., Mereille H, 2003. Qualité des huiles et acides gras de palme et des mélanges d'huiles acides caractérisations chimiques et biochimiques. Cinquièmes Journées de la recherche avicole, Tours.

Joaqin V., Carmen. D, 2002. Oxydative stability of virgin olive oil ».*Eur.J.Lipidsc Technol.*104 661-676.

Jolanta Z., Tomasz W., Wojciech R., Natalia D., Joanna K., Aleksandra K., Aleksander O., Urszula B., Bawomir k., Barbara S., Ewa B., Andrzej G, 2015. The Influence of α -Lipoic Acid and Garlic Administration on Biomarkers of Oxidative Stress and Inflammation in Rabbits Exposed to Oxidized Nutrition Oils. *BioMed Research International*. 11-P.

Jolivalt C., Leininger-Muller B., Drozd R., Naskalski J., Siest G, 1996. Apolipoprotein E is highly susceptible to oxidation by myeloperoxidase, an enzyme present in the brain. *Neurosci Lett.*; 210(1): 61-4.

Jun Liu Z, 2016. Développement d'un procédé pour l'époxydation et la carbonatation des huiles végétales, application à l'huile de coton

Jung M., Min D, 1990. Effects of tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J. Food Sci*, 55: 1464-1465.

K

Kalogeropoulos N., Chiou A., Mylona A., Ioannou M., Andrikopoulos K, 2007a. Recovery and distribution of natural antioxidants (α -tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 100, 509–517.

Kalogeropoulos N., Mylona A., Chiou A., Ioannou M., Andrikopoulos K, 2007b. Retention and distribution of natural antioxidants (α -tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. *LWT- Food Science and Technology*, 40, 1008–1017.

Kalogianni E., Karastogiannidou C., Karapantsios T, 2010. Effect of potato presence on the degradation of extra virgin olive oil during frying. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 765–775.

Kamal-Eldin A., Mäkinen M., Lampi A, 2003. The challenging contribution of hydroperoxides to the lipid oxidation mechanism. In: Kamal-Eldin A (ed.), *Lipid Oxidation Pathways*. Champaign Illinois: AOCS Press. pp. 1-35.

Kamal-EldinA., Pokorny J, 2005. Lipid Oxidation Products and Methods Used for their Analysis. In *Analysis of Lipid Oxidation*, Kamal-Eldin, A.; Pokorny, J., Eds. AOCS Press: Urbana, Illinois.

Kanazawa K., Ashida H, 1991.*Arch. Biochem. Biophys*, 288, p. 71.

Kanazawa K., Kanazawa E., Natake M., (1985). Uptake of secondary autoxidation products of linoleic acid by the rat. *Lipids* 20: 412-419.

Kerboua M., 2003. La production et la consommation d'huile d'olive à l'horizon 2010 en Algérie. *Olivea*, 99 : 56-58.

Khor G., Mohd E, 2008. Trans fatty acids intake: Epidemiology and health implications. In A. J. Dijkstra, R. J. Hamilton, & W. Hamm (Eds.), *Trans fatty acids* (pp. 25–45). Oxford: Blackwell Publishing.

Kiritsakis A, 1998. Composition of olive oil. In *Olive Oil from the tree to the table*. Second Edition. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, 006611, USA. pp. 113-154.

Kiritsakis A., Markakis P, 1987. Olive oil: a review. *Adv. Food Res*, 31: 453-482.

Kochhar S, 1993. Deterioration of edible oils, fats, and foodstuffs. In: *Atmospheric oxidation and antioxidants Vol II*. Scott G. (Ed), Elsevier Science Publishers, London, 71-139.

Kohen R., Nyska A, 2002. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*; 30(6): 620-650.

Kubo A., Lunde C., Kubo L, 1995. Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J Agric. Food Chem*, 43: 1629-1633.

Kubow S, 1992. Routes of formation and toxic consequences of lipid peroxidation products in foods. *Free Radical Biol. Med.* 12: 63–81.

Kubow S, 1993. Lipid Oxidation Products in Food and Atherogenesis. *Nutrition Reviews* 51 (2): 33-40.

Kubow S, 1993. Lipid Oxidation Products in Food and Atherogenesis. *Nutrition Reviews* 51 (2): 33-40.

L

Labuza T, Dugan L, 1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Critical Reviews in Food Technology*; 2: 355-405.

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.

Lefevre G., Beljean-Leymarie M., Beyerle F., Bonnefont-Rousselot D., Cristol JP., Therond P., Torreilles J., 1998. Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Ann Biol Clin* 1; 56(3): 305-319.

Legoff-L, 2003. Aliments dénaturés, raffinage des céréales, sucres, sels et huiles ;

Linden G., et Lorient D., 1994. *Biochimie agro-industrielle*. Ed. Masson.

Liu W., Lai S., Lu L., Shi F., Zhang J., Liu Y., Yu B., Zheng-Rong T., Shen J., Li G., Wang D., Li J., and Tian Y, 2011. Effect of dietary fatty acids on serum parameters, fatty

acid compositions, and liver histology in Shaoxing laying ducks. *Journal of Zhejiang university-science b (Biomedicine & Biotechnology)*, 12(9):736-743.

Lopez-garcia E., schulze M., Meigs J., Manson J., Rifai N., Stampfer M, 2005. Consumption of *trans* fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr*, 135:562-566.

Loschen G., Flohé L., Chance B, 1971. Respiratory chain linked H₂O₂ production in pigeon heart mitochondria. *FEBS Lett.*; 18(2): 261-264.

M

MADR/DSASI/SDSA (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural/Direction des Statistiques et des Systèmes d'Informations/Sous-Direction des Statistiques Agricoles), 2003.

Mahmoud E., Dostálová J., Pokorný J., Lukešová D., Doležal M, 2009. Oxidation of olive oils during microwave and conventional heating for fast food preparation. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, S173–S177.

Malheiro R., Oliveira I., Vilas-Boas M., Falcão S., Bento A., Pereira J. 2009. Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 92–97.

Malvy J., Preziosi P., Galan P, 1999. La consommation de lipides en France: contribution à l'équilibre nutritionnel (données de l'étude Su. Vi. Max, supplémentation en Vitamines, Minéraux et Antioxydants). *Oléagineux Corps gras Lipides*, 6: 21-25.

Marnett L, 1999. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*; 424(1-2): 83-95.

Marquez-Ruiz G., Dobarganes M. C, 2007. Nutritional and Physiological Effects of Used Frying Oils and Fats. In *Deep Frying*, 2e ed.; AOCS Press: Urbana, pp 173-203.

Martin-Polvillo M., Marquez-Ruiz G., Dobarganes M., 2004. Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 81: 577-583.

Mates J, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I, 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*; 32(8): 595-603.

McClements D., Decker E., 2007. Lipids. In *Fennema's Food Chemistry*, Fourth ed.; Damodaran, S.; Parkin, K.; Fennema, O. R., Eds. CRC Press: New York,.

Mensink R., Zock P., Kester A., Katan M., 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.

Messina V., Biolatto A., Descalzo A., Sancho A., Baby R., Reca N, 2009. Effect of pan-frying in extra-virgin olive oil on odour profile, volatile compounds and vitamins. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 552–559.

Migdal C., Serres M, 2011. Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant. *Med Sci (Paris)*; 27 : 405–412.

Mili S, 2006. Olive oil marketing on non-traditional Markets: Prospects and Strategies, *New Medit*, vol. 5, n°1, pp. 27-37.

Minamoto S., Kanazawa K., Ashida H., Danno G., Nataka M, 1985. *Agric. Biol. Chem.*, 49: 27-47.

Minamoto S., Kanazawa K., Ashida H., Nataka M, 1988. *Biochim. Biophys. Acta*, 958, p. 199.

Mínguez-Mosquera M., Rejano-Navarro L., Gandul-Rojas B., Sánchez-Gómez A., Garrido-Fernández J, 1991. Color-pigment correlation in virgin oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68 : 332-336.

Moncada S, Palmer R, Higgs E, 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.*; 43(2): 109-42.

Mosquera Mínguez M., Rejano L., Guandul B., Sanchez A., Garrido J, 1991. Color pigment, correlation in virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc* 68. P : 332_336.

Mossoba M., Yurawecz M., Roach J., Lin H., McDonald R., Flickinger B., Perkins E, 1995. Elucidation of cyclic fatty acid monomer structures. Cyclic and bicyclic ring sizes and double bond position and configuration. *J. Am. Oil Chem. Soc*, 72, (6), 721-727.

Mossoba M., Yurawecz M., Roach J., Lin H., McDonald R., Flickinger B., Perkins E, 1995. Elucidation of cyclic fatty acid monomer structures. Cyclic and bicyclic ring sizes and double bond position and configuration. *J. Am. Oil Chem. Soc*, 72, (6), 721-727.

Mozaffarian D., Katan M., Ascherio A, 2006. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.*, 354 : 1601-1613.

Mozaffarian D., Pischon T., Hankinson S, 2004. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am. J. Nutr.*, 79: 606-612.

N

NA (Norme Algérienne) 275, 2009. Détermination de l’indice d’iode (corps gras d’origines animale et végétale), ISO 3961,.

Nair J., Barbin A., Velic I., Bartsch H., 1999. Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat Res.*; 424(1-2): 59-69

Nakajima K., Nakano T., Tanaka A, 2006. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*,; 367: 36-47.

Nakbi A., Tayeb W., Grissa A., Issaoui M., Dabbou S., Chargui I., Ellouz M., Miled A., Hammami M, 2010. Effects of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver's fatty acid composition in 2,4- Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats. *Nutrition & Metabolism*.

Naruszewicz M., Wozny E., Mirkiewicz E., Nowicka G., Szostak W, 1987. The effect of thermally oxidized soyabean oil on metabolism of chylomicrons: increased uptake and degradation of oxidized chylomicrons in cultured mouse macrophages. *Atherosclerosis* 66: 45-53.

Navas J., Tres A., Bou R., Codony R., Guardiola F, 2007. Optimization of analytical methods for the assessment of the quality of fats and oils used in continuous deep fat frying. *Grasas & Aceites*, 58(2), 154-162.

Nouad K, 2004. L'huile d'olive, un créneau pour l'exportation. *PME Magazine*, 23 : 20-21.

Nwanguma B., Achebe A., Ezeanyika L., Eze L, 1999. Toxicity of oxidized fats II: tissue levels of lipid peroxides in rats fed a thermally oxidized corn oil diet Food and Chemical Toxicology 413-416.

Nzikou J., Matos L., Moussounga J., Ndangui C., Pambou-Tobi N., Bandzouzi E., Kimbonguila A., Linder M., and Desobry S, 2009. Study of oxidative and thermal stability of vegetable oils during frying. *Res. J. Appl. Sci.*, 4, 94–100.

O

Oarada M., Miyazawa Z., Kaneda T, 1986. Distribution of ¹⁴C after oral administration of (U-¹⁴C) labeled methyl linoleate hydroperoxides and their secondary oxidation products in rats. *Lipids* 21: 150–154.

Odutuga A., Obaleye J., Ologan F, 1997. Thermoxidized soybean oil: Spectroscopic investigation and effects on selected rat tissues. *Biokemistri*, 1: 45-58.

Odutuga A., Ologan F, 1999. Effect of thermally oxidized soyabean oil on alkaline and acid phosphatases in rat liver and serum. *Biosci.. Res. Commun*, 11: 281-285.

Oh K., Hu F., Manson J, 2005. Dietary fat intake and risk of coronary heart disease in women: 20 years of follow-up of the Nurses' Health Study. *Am. J. Epidemiol*, 161: 672-679.

Olesea R, 2013. Mesure et prédiction de la réactivité des lipides au cours du chauffage d'huiles végétales à haute température.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillot S., Guerere M., Artaud J, 2004. Analyse de la fraction stérolique des huiles d'olive vierges. J. Annales des falsifications de l'expertise chimique et toxicologique. n°965, p. 169 -196.

Oomen C., Ocke M., and Feskens E., 2001. Association between *trans* fatty acid intake and 10-year risk of coronary heart disease in the Zutphen Elderly Study: a prospective population-used study. Lancet, 357: 746-751

Owen, R. Giacosa A. Hull W. Haubner R. Spiegelhalder B., Bartsch H, 2000a. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. Eur J Cancer, 36: 1235-47.

P

Paul R., Chen N, 2000. Heat treatment and fruit ripening. Postharvest. Biology and Technology, 21: 21-37.

PCSS, 2010. Publication du conseil de la santé N° 8310, sécurité des huiles et des graisses

Pearl P., Taylor J., Trzcinski S., Sokohl A, 2007. The pediatric neurotransmitter disorders. *J Child Neurol*; 22(5): 606-616.

Pellegrini N., Visioli F., Buratti S., Brighenti F, 2001. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 2532–2538.

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

Perkins E, 2007. Volatile Odor and Flavor Components Formed in Deep Frying. In *Deep Frying*, 2e ed.; AOCS Press: Urbana, pp 51-56.

Persaud R., 2008. Inhibition of proliferation to omega-3 fatty acids in chemoresistant pancreatic cancer cells: Mechanism of action may be more complex. *Ann. Surg. Oncol.* 15(7): 2057

Pietinen P., Ascherio A., Korhonen P, 1997. Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am. J. Epidemiol.*, 145: 876-877.

Potteau B., Cluzan R, 1966. incidences nutritionnelles et toxicologiques de l'ingestion d'huile de lin chauffée. i. – effets généraux et action sur l'utilisation des protéines de la ration. *Annales de biologie animale, biochimie, biophysique*, 6 (1), pp.47-64.

Poulsen H, 2005. Oxidative DNA modifications. *Exp Toxicol Pathol*; 57:161-9.

Powers S., Ji L., Leeuwenburgh C, 1999. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc*; 31: 987-997.

Procida G., Cichelli A., Compagnone D., Maggio R., Cerretani L., Carlo, M, 2009. Influence of chemical composition of olive oil on the development of volatile compounds during frying. *European Food Research and Technology*, 230, 217–229.

Psomiadou E., Konstantinos X., Blekas K., Tsimidou M., Boskou D, 2003. Proposed parameters for monitoring quality of virgin olive oil (koroneiki cv). *European Journal of lipid Science and technology*, 105(8): 403-409.

Psomiadou E., Tsimidou M., Boskou D., 2000. Alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oil. *J Agric. Food Chem*, 48: 1770-1775.

R

Raicht R., Cohen B., Fazzini E., Sarwal A., Takahashi M., 1980. Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *Cancer Res*, 40: 403-405.

Ranalli A., Ferrante M., De Mattia G., Costantini N, 1999. Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2): 417-424.

Reaven P., Parthasarathy S., Grasse B, 1991. Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification in humans. *Am J Clin Nutr*, 54: 701-706.

Reaven P., Parthasarathy S., Grasse B, 1993. Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects. *J Clin Inves*, 91: 668-676.

Rehab F, 2010. Improvement the stability of fried sunflower oil by using different levels of Pomposia (*Syzygium Cumini*). *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 9, 396–403.

Romani A., Mulinacci N., Pinelli P., Vincieri F., Cimato A, 1999. Polyphenolic content in five Tuecany cultivars of *Olea europaea* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 964-967.

Romero A., Cuesta C., Sanchez-Muniz F, 1998.Effect of replenishment during deep-fat frying of frozen foods in a sunflower oil and high-oleic acid sunflower oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75: 161-167.

Romero A., Cuesta C., Sánchez-Muniz F, 2000. Cyclic fatty acid monomers and thermoxidative alteration compounds formed during frying of frozen foods in extra virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77, 1169–1175.

Romero A., Cuesta C., Sánchez-Muniz F, 2000. Trans fatty acid production in deep fat frying of frozen foods with different oils and frying modalities. *Nutr. Res.*, 20, 599.

Romero A., Cuesta C., Sánchez-Muniz F, 2003. Cyclic FA monomers in high-oleic acid sunflower oil and extra virgin olive oil used in repeated frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 437–442.

Rowan K, 1989. Photosynthetic pigments of algae, Cambridge University Press, Cambridge.

Rueda-Clausen C, Silva F, Lindarte M, 2007. Olive, soybean and palm oils intake have a similar acute detrimental effect over the endothelial function in healthy young subjects. *Nutr Metab Cardiovas Dis*;17(1): 50e7.

S

Saad A., Virella G., Chassereau C., Boackle R., Lopes-Virella M, 2006. OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res*, 2006; 47: 1975-1983.

Salas J., Pastor M., Castro J., Vega, V, 1997. Influencia del riego sobre la composición y careterísticas organolépticas del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*, 48(2): 74-82.

Sanchez-Muniz F, 2004. Oils and fats: Changes due to culinary and industrial processes. *International Journal For vitamin and Nutrition Research*, 76 :230-237

Sanelli B, 1981. The keeping quality of vegetable oils in relation to the degree of unsaturation and the chlorophyll content. I. Autoxidation. *Rivista Italiana Sost Grasse*, 58: 125-131.

Santos C., Cruz R., Cunha S., Casals S, 2013. *Food Research International*. Elsevier Effect of cooking on olive oil quality attributes

Scholz R., Minicucci L., Reddy C, 1997. Effects of vitamin E and selenium on antioxidant defense in rat heart. *Biochem Mol Biol Int.*; 42(5): 997- 1006.

Schuler P, 1990. Natural antioxidants exploited commercially. In: *Food antioxidants*. Hudson B. J. F. Ed : Elsevier Science Publishers, London, 99-170.

Sébedio J., Grandgirard A, 1989. Cyclic fatty acids: Natural sources, formation during heat treatment, synthesis and biological properties. *Prog. Lipid Res*, 28, (4), 303-336.

Sébedio J., Juaneda P., 2007. Isomeric and cyclic fatty acids as a result of frying. In: “Deep fat frying”, Erickson M. (ed). AOCS Press, Champaign (IL) , 57-86.

Selaimia R, 2018. Etude de l’huile d’olive d’Algérie

Sentman M., Granstrom M., Jakobson H., Reaume A., Basu S., Marklund S, 2006. Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase. *J Biol Chem* 2006; 281: 6904-6909.

Sheehy P., Morrissey P., Flynn A, 1994. Consumption of thermally-oxidized sunflower oil by chicks reduces a-tocopherol status and increases susceptibility of tissues to lipid oxidation. *British Journal of Nutrition*, 71: 53-65.

Shklar G., Oh S, 2000. Experimental basis for cancer prevention by vitamin E. *Cancer Invest*, 18: 214-22.

Shyu S., Hau L., Hwang L, 1998. Effect de vacuum frying on oxidative stability of oils. *Journal American of Oil Chemists Society*, 75 (10), 1393-1398.

Signorini C., De Felice C., Durand T., Oger C., Galano J., Leoncini S., Pecorelli A., Valacchi G., Ciccoli L., Hayek J, 2013. Isoprostanes and 4-hydroxy-2- nonenal: markers or mediators of disease? Focus on Rett syndrome as a model of autism spectrum disorder. *Oxid Med Cell Longev*; 343824(10): 13.

Silva L., Garcia B., Paiva-Martins F, 2010a. Oxidative stability of olive oil and its polyphenolic compounds after boiling vegetable process. *LWT- Food Science and Technology*, 43, 1336–1344.

Silva L., Pinto J., Carrola J., Paiva-Martins F, 2010b. Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry*, 121, 1177–1187.

Staprans I., Hardman D., Pan X., Feingold K, 1999. Effect of Oxidized Lipids in the Diet on Oxidized Lipid Levels in Postprandial Serum Chylomicrons of Diabetic Patients. *Diabetes Care*, 22:300–306.

Staprans I., Rapp J., Pan X., Kim K, 1994. Oxidized lipids in the diet are a source of oxidized lipid in chylomicrons of human serum. *Arterioscler Thromb.*, 14(12): 1900-1905.

Stevnsner T., Thorslund T., de Souza-Pinto N., Bohr V, 2002. Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp Gerontol*; 37: 1189-96.

Sun Q., Ma J., Campos H., Hankinson S., Manson J., Stampfer M, 2007. A prospective study of trans fatty acids in erythrocytes and risk of coronary heart disease. *Circulation*, 115:1858-1865.

Sun Y., Wang W., Chen H., Li C, 2011. Autoxidation of Unsaturated Lipids in Food Emulsion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:453–466.

T

Tanouti K., Serghini –Cald H., Chaleb E., Benalt A., Harkous M., Elamrani A, 2011. Amélioration qualitative d’huiles d’olive produites dans le Maroc oriental. *Les technologies de laboratoires*. Volume 6, n°22.

Tasan M., Demirci M., 2005. Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining. *European Food Research and Technology* 220 (3-4): 251-254.

Tateo E., Brunelli N., Cucurach, S., Ferillo A, 1993. New trends in the study of the merits and shortcomings of olive oil in organoleptic terms, in correlation with the GC/MS analysis of the aromas In *Food Flavours, Ingredients and Composition*, G Charalampous, editor, Elsevier Science publishers B V Amsterdam.

Thompson L., Rae A, 1983. Lipid changes in French fries and heated oils during commercial deep frying and their nutritional and toxicological implications. *J. Can. Inst. Food Sci. Tec.*, 16:46-253.

Trinder P, 1969. Ann. Clin. Biochem. 6, p. 24-27.

U

Uriarte P., Guillén M, 2010. Formation of toxic alkylbenzenes in edible oils submitted to frying temperature. Influence of oil composition in main components and heating time. Food Research International, 43, 2161–2170.

Uzzan A, 1992. Olive et huile d'olive. In: Manuel des corps gras. Edition: Tec & Doc, Lavoisier, Paris. pp : 221-228.

V

Valavanidis A., Nisiotou C., Papageorgiou Y., Kremli I., Satravelas N., Zinieris N, 2004. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 2358–2365.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M., Mazur M., Telser J, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol; 39: 44-84.

Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M., Mazur M, 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact; 160(1): 1-40.

Van de vijver L., Kardinaal A., Couet C., Aro A., Kafatos A., Steingrimsdottir L., Amorim C., Moreiras O., Becker W., Van amelsvoort J., Vidal-Jessel S, Salminen I., Moschandreas J., Sigfusson N., Martins I., Carbajal A., Ytterfors A., Poppel G, 2000. Association between trans fatty acid intake and cardiovascular risk factors in Europe: the TRANSFAIR study. *Eur J Clin Nutr*, 54:126-135.

Vanessa P, 2015. Développement d'antioxydants pour les huiles de friture et contribution à l'étude du mécanisme de formation des monomères cycliques à partir d'acides gras oméga-3.

Velleits, 2010. Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation, p 160..

Verleyen T, 2002. Stability of minor components during vegetable oil refining. Applied biological sciences: chemistry. University of Gent. Gant. 277.

Vinaixa M., Vergara A., Duran C., Llobet C., Badia C., Brezmes J., Vilanova X., Correig X, 2005. Fast detection of rancidity in potato crisps using enoses based on mass spectrometry or gas sensors. *Sensors and Actuators*, 106: 67-75.

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

Viola P, 1997. Olive Oil and Health. International Olive Oil Council, Madrid Spain

Visioli F., Bellomo G., Montedoro G., Galli C, 1995. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, 117: 25-32.

W

Warner K., Frankel E, 1989. Mounds, Flavor and Oxidative Stability of Soybean, Sunflower and Low Erucic Acid Rapeseed Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 66:558–564.

Willemsen L., Koetsier M., Balvers M., Beermann C., Stahl B., and Van Tea, 2008. Polyunsaturated fatty acids support epithelial barrier integrity and reduce IL-4 mediated permeability in vitro. *Eur.J . Nutr.* 47(4): 183-191.

Wolff J, 1968. Manuel d'analyse des corps gras. Edition Azoulay – Paris, p.245.

Wong C., Bottiglieri T., Snead O, 2003. gamma-hydroxybutyric acid, and neurological disease. *Ann Neurol*; 54(6): S3-12.

Y

Youzan F, 2017. Influence D'un Regime Riche En Huile De Palme Sur Le Statut Antioxydant, La Fonction Mitochondriale Et Les Desordres Metaboliques Associes A L'obesite.

Z

Zeb A., Shah H, 2015. Sea buckthorn seed powder provides protection in the oxidative stress produced by thermally oxidized sunflower oil in rabbits, *Journal of Food Biochemistry*. 1-11.

Zhu H., Zhang L., Amin A., Li Y, 2008. Coordinated upregulation of a series of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes as a novel strategy for protecting renal tubular cells from oxidative and electrophilic stress. *Exp Biol Med (Maywood)* **2008**; 233(6): 753-765.

Publication scientifique