

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT LMD 3^{ème} cycle

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

Etude des effets antioxydant et immunomodulateur, chez des rats
Wistar avec un stress oxydant induit aux nanoparticules de
dioxyde de titanium (NPTiO₂), d'une huile d'olive issue de la
variété « *Rougette* » des zones arides (Wilaya de *Biskra*).

Présentée par : M^{me}. BOUGHEDIRI Khaoula

Directrice de thèse : M^{me} HENCHIRI Cherifa Professeur, Université Badji Mokhtar - Annaba

Co-Directrice de thèse : M^{me} OUAZOUAZ Meryem MCB, Université Badji Mokhtar - Annaba

Membres de Jury :

Président : M^r LADJAMA Ali Professeur, Université Badji Mokhtar - Annaba

Examinatrices : M^{me} AOUACHERI Ouassila Professeur, Université Badji Mokhtar - Annaba

M^{me} GRARA Nedjoud Professeur, Université 08 Mai 1945 - Guelma

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

*Tout d'abord, je souhaite exprimer ma gratitude à **ALLAH**, qui m'a accordé la force et la détermination nécessaires pour entreprendre ce voyage académique.*

*Je tiens également à remercier chaleureusement ma directrice de thèse, le Professeur **HENCHIRI Cherifa**, de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, pour sa guidance éclairée, son encouragement constant et sa patience infinie.*

*Je tiens également à remercier ma co-directrice de thèse, madame **OUAZOUAZ Meryem**, Maitre de conférences B à l'Université Badji Mokhtar-Annaba, pour la clarté de ses orientations et la bienveillance avec laquelle elle m'a accompagné tout au long de ce travail.*

*Mes remerciements s'étendent également au **Monsieur le Professeur LADJAMA Ali** de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse, ainsi qu'aux **Professeurs AOUACHERI Ouassila** de l'Université Badji Mokhtar-Annaba et **GRARA Nedjoud** professeur à l'Université 8 Mai 1945-Guelma d'avoir accepté d'être les examinatrices de ma thèse.*

*Un grand merci à **Monsieur le Professeur KECHRID Zine**, dont l'ouverture de la formation doctorale a permis de concrétiser mon parcours académique.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon père, le **Professeur BOUGHEDIRI Larbi**, pour son soutien indéfectible tout au long de mon parcours académique.*

Enfin, je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres du Département de Biochimie, aux membres du laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées, ainsi qu'à tous mes enseignants tout au long de mon parcours.

Dédicaces

À mes chers parents, *Larbi et Faiza Benhachiche*, pour leur soutien inconditionnel, leur confiance et leurs sacrifices, qui ont été des piliers essentiels tout au long de mon parcours académique.

À mon chère épouse *Triki Ramzi*, pour ta patience, ta compréhension et ton amour inébranlable. Tu as été ma source constante de réconfort et de motivation. Cette thèse est le fruit de nos rêves partagés et de notre persévérance collective.

Et à mon petit bébé, *Triki Ouais*, qui apporte une joie immense dans ma vie et me donne la force de persévérer. Puisse-tu grandir en sachant que cette réalisation est aussi pour toi.

À mes chères sœurs, *Soumaya et Lina*, ainsi qu'à mes frères, *Abdelraouf et Slimane*, pour votre amour, votre aide précieuse et votre soutien constant tout au long de ce parcours.

À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette thèse, je vous exprime ma gratitude sincère. Cette dédicace est un témoignage de l'importance que chacun d'entre vous a eu dans cette réussite.

| Table des Matières

Table des matières

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive	5
1. L'olivier	5
1.1. Importance de l'olivier.....	5
1.2. Description de l'olivier.....	5
1.2.1. Description morphologique	5
1.2.2. Description botanique.....	6
1.3. Critères de caractérisation.....	7
1.3.1. Critères morphologiques.....	7
1.3.2. Critères biochimiques	7
1.3.3. Critères moléculaires	7
1.4. Diversité des variétés d'olivier.....	8
1.4.1. Dans le monde	8
1.4.2. En Algérie	8
1.4.3. Etude de la variété « Rougette de Mitidja »	10
2. L'huile d'olive	11
2.1. Définition	11
2.2. Les étapes essentielles du processus d'extraction de l'huile d'olive.....	11
2.3. Catégories de l'huile d'olive	12
2.4. Caractéristiques qualitatives de l'huiles d'olive	13
2.4.1. Caractéristiques organoleptiques.....	13
2.4.2. Caractéristiques physico-chimiques	14
2.4.3. Composition biochimique de l'huile d'olive	15
2.5. Effets biologiques de l'huile d'olive vierge	17
2.5.1. Activité anti-inflammatoire	17
2.5.2. Propriétés cardioprotectrices	17
2.5.3. Activité antioxydante.....	18
2.5.4. Autres propriétés biologiques.....	18

Chapitre II : Les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂)	19
2.1. Généralités sur les nanoparticules	19
2.2. Les nanoparticules de Dioxyde de Titane (NPTiO₂)	20
2.2.1. Définitions.....	20
2.2.2. Applications et propriétés des NPTiO ₂	20
2.2.2.1. Effets positifs	20
2.2.2.2. Effets négatifs.....	21
2. Matériel et méthodes	23
1. Matériel végétal	23
1.1. Présentation de la zone d'étude.....	23
1.2. Echantillonnage.....	23
1.3. Caractérisation morphologique de la variété « Rougette de Mitidja »	25
1.4. Extraction de l'huile d'olive	25
2. Analyses de l'huile d'olive	25
2.1. Teneur en huile des olives	25
2.2. Analyse des caractéristiques physicochimiques	25
2.2.1. Acidité libre	26
2.2.2. Indice de peroxyde (Ip).....	26
2.2.3. Indice de saponification.....	26
2.2.4. Matière volatile (l'humidité)	27
2.2.5. Phosphatides	27
2.3. Analyse quantitative des composés mineurs.....	27
2.3.1. Polyphénols	27
2.3.2. Caroténoïdes	28
2.3.3. Chlorophylles.....	28
2.3.4. Flavonoïdes totaux.....	28
2.3.5. Tannins condensés	29
2.3.6. Effet antioxydant (DPPH).....	29
3. Matériel animal	29
3.1. Les conditions d'élevage des rats	30
3.2. Protocole et conception expérimentale	30
3.2.1. Produit chimique.....	30
3.2.2. Traitements des groupes de rats.....	31

3.2.3. Sacrifice des animaux	31
3.2.4. Prélèvement sanguin.....	32
3.2.5. Prélèvement des organes.....	32
3.3. Dosage des paramètres hématologiques (FNS)	34
3.4. Dosage des paramètres biochimiques	34
3.5. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	34
3.5.1. Protéines	34
3.5.2. Malondialdéhyde (MDA)	34
3.5.3. Glutathion réduit (GSH)	35
3.5.4. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px).....	36
3.5.5. Activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST).....	36
3.5.6. Activité enzymatique de la Catalase (CAT)	36
3.6. Techniques histologiques	37
3.6.1. Fixation.....	37
3.6.2. Déshydratation des échantillons	37
3.6.3. Inclusion et réalisation des blocs	37
3.6.4. La coloration.....	38
3.6.5. Déparaffinage et hydratation des lames.....	38
3.6.6. Différenciation.....	38
3.6.7. Bleuissent.....	38
3.6.8. Eosine	38
3.6.9. Observation microscopique	38
3.7. Méthode d'analyse statistique des résultats	39
3. Résultats.....	40
3.1. Etude de l'huile d'olive	40
3.1.1. Caractérisation morphologique de la variété étudiée « Rougette de Mitidja ».....	40
3.1.2. Teneur en huile des olives.....	40
3.1.3. Caractérisation physicochimique	42
3.1.4. Teneurs en composés mineurs et activité antioxydante	43
3.1.5. Analyse des composés phénoliques par HPLC-PDA.	44
3.2. Etude biologique.....	46
3.2.1. Effets du traitement sur la santé générale des rats	46
3.2.2. Évaluation de la variation du poids corporel, poids absolu et relatif des organes.....	46
3.2.3. Évaluation de l'examen hématologique.....	48

3.2.3.1.Érythrocytes et paramètres associés.....	48
3.2.3.2. Leucocytes et paramètres associés.....	50
3.2.4. Evaluation des paramètres biochimiques.....	50
3.2.4.1.Effet du traitement sur la glycémie et le profil lipidique.....	50
3.2.4.2.Effets du traitement sur le profil rénal.....	52
3.2.4.3.Effets du traitement sur le profil hépatique.....	54
3.2.5. Etude des paramètres du stress oxydant.....	56
3.2.5.1..Protéines totales.....	56
3.2.5.2. Malondialdéhyde (MDA).....	57
3.2.5.3. Glutathion réduit (GSH).....	57
3.2.5.4..Glutathion peroxydase (GSH-Px).....	59
3.2.5.5. Catalase (CAT).....	60
3.2.5.6. Glutathion S-transférase (GST).....	61
3.2.6. Etude histologiques.....	62
4.Discussion.....	65
Conclusion et perspectives	77
Références bibliographiques	81

Annexes

Annexe 01 : Caractérisation morphologique de la variété « Rougette de Mitidja »

Annexe 02 : Analyse des caractéristiques physicochimiques de l'huile d'olive

Annexe 03 : Analyse quantitative des composés mineurs de l'huile d'olive

Annexe 04 : Les courbes d'étalonnages

Annexe 05 : Dosage des paramètres biochimiques selon les fiches techniques

Annexe 06 : Dosage des paramètres du stress oxydatif



| *Résumés*

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer la composition en composés bioactifs et l'activité antioxydante de l'huile d'olive vierge monovariétale issue d'une variété algérienne appelée "*Rougette de Mitidja*", variété originaire du nord et introduite dans une zone aride (*Biskra*). L'étude porte également sur les effets protecteurs contre le stress oxydatif induit par les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂) chez le rat Wistar. Les composés bioactifs dans l'huile d'olive ont été analysés par spectrophotométrie UV-visible et par chromatographie liquide haute performance avec un détecteur à réseau de photodiodes (HPLC-PDA). L'activité antioxydante *in vitro* a été évaluée au test DPPH. L'étude *in vivo* a été réalisée sur des rats mâles (*Wistar albinos*), avec un stress oxydatif induit par des NPTiO₂. Les rats ont été répartis en six groupes, dont cinq injectés avec des NPTiO₂ et un groupe contrôle. Parmi les cinq groupes, quatre ont été traités avec différentes doses d'huile d'olive vierge après 48 heures de l'injection de NPTiO₂. Les animaux ont été sacrifiés à jeun après 6 semaines de traitement. Les paramètres hématologiques, biochimiques et les marqueurs de stress oxydatif dans le foie et les reins ont été évalués. Par ailleurs, une étude histologique des deux organes a été réalisée pour l'ensemble des groupes expérimentaux, à l'aide de coupes colorées observées sous un microscope Leica ICC50 HD Microscope Camera. Les résultats obtenus ont révélé des teneurs élevées en composés bioactifs dans l'huile d'olive, avec une activité antioxydante DPPH remarquable, un pourcentage d'inhibition de 87,70 % et une concentration inhibitrice IC₅₀ de 14.49. De plus, l'HPLC-PDA a révélé la présence de quercétine et d'acide cinnamique. Les NPTiO₂ ont induit un stress oxydatif, comme le montre l'augmentation des paramètres biochimiques (transaminases, bilirubine, créatinine, acide urique, triglycérides, cholestérol, glycémie) et des taux de malondialdéhyde et la réduction du GSH et des enzymes antioxydantes (GSH-Px, GST, Catalase) dans les foies et les reins des rats injectés comparés au groupe contrôle. Le profil hématologique a montré une baisse des globules rouges, de l'hémoglobine et des plaquettes, ainsi qu'une augmentation des globules blancs, des lymphocytes et des granulocytes. Le traitement à l'huile d'olive a montré une modulation significative des paramètres physiologiques (poids corporels, poids des organes), ainsi qu'un effet protecteur, en améliorant les paramètres biochimiques altérés, en augmentant la GSH et les activités des enzymes antioxydantes, et en réduisant le taux de MDA dans les groupes traités, par rapport au groupe contrôle. Les résultats histologiques ont confirmé les effets protecteurs de l'huile d'olive vierge sur les lésions hépatiques et rénales causées par les NPTiO₂. En conclusion, l'huile d'olive vierge monovariétale semble avoir un puissant effet protecteur contre le stress oxydatif induit par les NPTiO₂, qui est lié à sa richesse en composés bioactifs.

Mots-clés : Huile d'olive vierge, Antioxydants, Composés bioactifs, HPLC-PDA, Stress oxydatif, NPTiO₂.

Abstract

The aim of this study was to assess the composition of bioactive compounds and the antioxidant activity of monovarietal virgin olive oil derived from an Algerian variety called “*Rougette de Mitidja*”, originally from the north and introduced to an arid region (Biskra). Additionally, the study evaluated its protective effects against oxidative stress induced by titanium dioxide nanoparticles (NPTiO₂). Bioactive compounds in olive oil were analyzed by UV-visible spectrophotometry and high-performance liquid chromatography with a photodiode array detector (HPLC-PDA). In vitro antioxidant activity was assessed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay. An in vivo study was conducted on male albino Wistar rats, where oxidative stress was induced by NPTiO₂. The rats were divided into six groups: five groups injected with NPTiO₂ and a control group. Of the five injected groups, four were treated with different doses of monovarietal virgin olive oil 48 hours after NPTiO₂ injection. Animals were sacrificed after six weeks of treatment, after 12-hour fasting period. Hematological, biochemical parameters, and oxidative stress markers in the liver and kidneys were evaluated. Moreover, a histological study of both organs was carried out in the different experimental groups using stained tissue sections observed under a Leica ICC50 HD Microscope Camera. The results revealed significant levels of bioactive compounds in the olive oil, showing remarkable antioxidant activity, with a DPPH inhibition rate of 87.70% and an IC₅₀ of 14.49. Furthermore, HPLC-PDA identified the presence of quercetin and cinnamic acid. NPTiO₂ induced oxidative stress, as evidenced by increased biochemical markers (transaminases, bilirubin, creatinine, uric acid, triglycerides, cholesterol, glucose) and elevated levels of malondialdehyde in the liver and kidneys, along with a reduction in GSH and antioxidant enzymes (GSH-Px, GST, Catalase) in these organs compared to the control group. Hematological profiles showed a decrease in red blood cells, hemoglobin, and platelets, and an increase in white blood cells, lymphocytes, and granulocytes. Treatment with olive oil significantly modulated physiological parameters (body weight, organ weight) and exhibited a protective effect by effectively normalizing altered biochemical parameters, increasing GSH, antioxidant enzyme activities, and reducing MDA levels in treated groups compared to the untreated group. Histological findings confirmed the protective effects of virgin olive oil on liver and kidney lesions caused by NPTiO₂. Monovarietal virgin olive oil appears to have a potent protective effect against oxidative stress induced by NPTiO₂, attributed to its richness in bioactive compounds.

Keywords: *Virgin olive oil, Antioxidants, Bioactive compounds, HPLC-PDA, Oxidative stress, NPTiO₂.*

المخلص

الهدف من هذه الدراسة تقييم مستوى المركبات الحيوية ونشاط المضادات المؤكسدة لزيت الزيتون البكر النقي المستمد من سلالة جزائرية تسمى "Rougette de Mitidja" من منطقة صحراوية (ولاية بسكرة)، بالإضافة إلى تأثيره الواقي ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن جزيئات النانو ثنائي أكسيد التيتانيوم ($NPTiO_2$). تم تحليل المركبات الحيوية في زيت الزيتون باستخدام التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية، بالإضافة إلى الكروماتوغرافيا ($HPLC-PDA$) لتقييم شامل. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة ($in vitro$) من خلال إختبار ($DPPH$) وعلى الجرذان ($in vivo$) حيث تم إجراء الدراسة داخل الجسم على ذكور جرذان من نوع ($Wistar albinos$)، حيث تم تحفيز الإجهاد التأكسدي بواسطة جزيئات $NPTiO_2$. تم تقسيم الجرذان إلى ست مجموعات: مجموعة واحدة شاهدة وخمس مجموعات تم حقنها بجزيئات $NPTiO_2$ ، من بينها أربع مجموعات تم علاجها بجرعات مختلفة من زيت الزيتون البكر. تم تقييم المعايير الدموية، الكيميائية ومعايير الإجهاد التأكسدي في الكبد والكلية. كشف التحليل عن مستويات ملحوظة من المركبات الحيوية في زيت الزيتون البكر النقي، مع نشاط مضاد للأكسدة ($DPPH$) ملحوظ يبلغ 87.70%. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت $HPLC-PDA$ وجود $Quercétine$ وحمض الـ $Cinnamique$. تسببت جزيئات النانو ثنائي أكسيد التيتانيوم ($NPTiO_2$) في الإجهاد التأكسدي، كما تم توثيق زيادة في المعايير الكيميائية ومستويات مرتفعة من المالونديالدهيد (MDA) في الكبد والكلية. بالإضافة إلى ذلك، هناك انخفاض ملحوظ في تراكيز الجلوتاثيون (GSH) في الكبد والكلية وانخفاض في أنشطة الإنزيمات المضادة للأكسدة، مقارنة بالمجموعة الشاهدة. علاوة على ذلك، تم إجراء دراسة نسيجية على العضوين في مختلف المجموعات التجريبية، باستخدام مقاطع نسيجية ملونة تمت ملاحظتها بواسطة مجهر **Leica ICC50 HD Microscope Camera** أدى العلاج بزيت الزيتون إلى تعديل كبير في المعايير الفسيولوجية (وزن الجسم، وزن الأعضاء)، وأظهر تأثيراً وقائياً من خلال إعادة توازن المعايير البيوكيميائية المضطربة بشكل فعال، وزيادة مستويات الجلوتاثيون (GSH) ونشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة، وتقليل مستويات المالونديالدهيد (MDA) في المجموعات المعالجة مقارنةً بالمجموعة غير المعالجة. وقد أكدت النتائج النسيجية التأثيرات الوقائية لزيت الزيتون البكر على الإصابات التي لحقت بالكبد والكلية نتيجة التعرض لثنائي أكسيد التيتانيوم النانوي ($NPTiO_2$). ختاماً، زيت الزيتون البكر الأحادي الصنف يتمتع بتأثير واقٍ قوي ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن $NPTiO_2$ ، ويرجع ذلك إلى غناه بالمركبات النشطة بيولوجياً.

مفتاح الكلمات: زيت الزيتون البكر، مضادات الأكسدة، مركبات بيولوجية نشطة، كروماتوغرافيا، الإجهاد التأكسدي، $NPTiO_2$.

Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

A

AASEA : Association Algérienne des Sciences de l'Expérimentation Animale

AGL : Acides Gras Libres

AGMI : Acides Gras Monoinsaturés

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés

ALAT : Alanine Aminotransférase

ASAT : Aspartate Aminotransférase

C

CAT : Catalase

CCl₄ : Tétrachlorure de Carbone

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

CDNB : 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène

CE : Équivalent de Catéchine

CML : Carboxy-Méthyl-Lysine

COI : Conseil Oléicole International

D

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DTNB : Acide 5,5' Di-Thiodis-2-Nitro-Benzoïque

E

EDTA : Acide Éthylène-diamine-tétra-acétique

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

F

FeCl₃ : Chlorure Ferrique

FNS : Formule de Numération Sanguine

G

GAE : Équivalent d'Acide Gallique

GB : Globules Blancs

GR : Globules Rouges

Liste des abréviations

GSH : Glutathion Réduit

GSH-Px : Glutathion Peroxydase

GST : Glutathion-S-Transférase

H

H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène

HDL : Lipoprotéine de Haute Densité

HGB : Hémoglobine

HPLC-PDA : Chromatographie Liquide Haute Performance avec un Détecteur à Réseau de Photodiodes

HTC : Hématocrite

I

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%

IONP : Nanoparticules d'Oxyde de Fer

Ip : Indice de Peroxyde

ISO : Norme ISO pour l'analyse de l'huile végétale

K

KOH : Hydroxyde de Potassium

L

LCMI : Laboratoire de Chimie des Matériaux Inorganiques

LDL : Lipoprotéines de Faible Densité

Lymph : Lymphocytes

M

MDA : Malondialdéhyde

MID : Midnocytes (les globules blancs de taille intermédiaire)

NaNO₂ : Nitrite de Sodium

NPOI : Nanoparticules d'Oxyde de Fer

NPTiO₂ : Nanoparticules de Dioxyde de Titane

NTO : Le groupe des rats avec un stress oxydatif induit par les nanoparticules de dioxydes de titanium

Liste des abréviations

NTO-D₁ : Le groupe des rats avec un stress oxydatif induit par les nanoparticules de dioxydes de titanium et traité avec une dose D₁ d'huile d'olive

NTO-D₂ : Le groupe des rats avec un stress oxydatif induit par les nanoparticules de dioxydes de titanium et traité avec une dose D₂ d'huile d'olive

NTO-D₃ : Le groupe des rats avec un stress oxydatif induit par les nanoparticules de dioxydes de titanium et traité avec une dose D₃ d'huile d'olive

NTO-D₄ : Le groupe des rats avec un stress oxydatif induit par les nanoparticules de dioxydes de titanium et traité avec une dose D₄ d'huile d'olive

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail

P

PAL : Phosphatase Alcaline

PLT : Plaquettes

PNDA : Plan National de Développement Agricole

Q

QE : Équivalent de Quercétine

T

TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances

TG: Triglycérides

TNB : Thio-Nitro-Benzoïque

V

VGM : Volume Globulaire Moyen



| *Liste des Figures*

LISTE DES FIGURES

Figure 01 :	Image de l'olivier (<i>Olea europaea</i>).	06
Figure 02 :	Origine géographique de certaines variétés d'olivier en Algérie.	11
Figure 03 :	Mécanisme d'entrée des nanoparticules dans les cellules et les dommages induits.	19
Figure 04 :	Les différentes applications et propriétés des NPTiO ₂ .	21
Figure 05 :	Carte de situation géographique de la zone d'étude (Khangat Sidi Nadji-Biskra).	24
Figure 06 :	Prise de vue générale du verger d'étude.	24
Figure 07 :	Formes libre et réduite du DPPH°.	29
Figure 08 :	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	33
Figure 09 :	Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide Thiobarbiturique.	35
Figure 10 :	Principe de dosage du glutathion (GSH).	35
Figure 11 :	Chromatogramme HPLC-PDA des composés phénoliques standards.	45
Figure 12 :	Chromatogramme HPLC-PDA des composés phénoliques présents dans l'extrait d'huile d'olive étudiée.	46
Figure 13 :	Histogramme de la variation des taux des protéines totales dans les foies et les reins des rats des groupes étudiés.	56
Figure 14 :	Histogramme de la variation des taux de MDA dans les foies et les reins des rats.	57
Figure 15 :	Histogramme de la variation des taux de GSH dans les foies et les reins des rats des différents groupes expérimentaux.	58
Figure 16 :	Histogramme de la variation de l'activité enzymatique de GSH-Px dans les foies et les reins des rats des différents groupes expérimentaux.	59
Figure 17 :	Histogramme de la variation de l'activité enzymatique de la Catalase dans les foies et les reins des rats des différents groupes expérimentaux.	60
Figure 18 :	Histogramme de la variation de l'activité enzymatique de la GST dans les foies et les reins des rats des différents groupes expérimentaux.	61
Figure 19 :	Coupes histologiques du foie observés au microscope optique (× 400)	63
Figure 20 :	Coupes histologiques des reins observés au microscope optique (× 400)	64



| Liste des Tableaux

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 :	Principales variétés d'oliviers cultivées dans le monde.	09
Tableau 02 :	Principales variétés d'oliviers en Algérie.	10
Tableau 03 :	Processus de production de l'huile d'olive.	12
Tableau 04 :	Catégories et caractéristiques des huiles d'olive.	13
Tableau 05 :	Critères physicochimiques de l'huile d'olive.	15
Tableau 06 :	Composition biochimique de l'huile d'olive : Composés phénoliques, vitamines, stérols et pigments.	16
Tableau 07 :	Domages aux organes induits par le stress oxydatif.	22
Tableau 08 :	Composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment.	30
Tableau 09 :	Illustration en photos des caractéristiques morphologiques entre la variété étudiée avec celles de la variété « Rougette de Mitidja » du catalogue ITAFV.	41
Tableau 10 :	Mesures morphologiques de l'olivier étudié en comparaison avec la variété « Rougette de Mitidja » du catalogue ITAFV.	42
Tableau 11 :	Caractérisation physicochimique de l'huile d'olive étudiée.	43
Tableau 12 :	Teneurs en composés mineurs et activité antioxydante DPPH de l'huile d'olive étudiée.	43
Tableau 13 :	Identification et quantification des composés phénoliques présents dans l'huile d'olive vierge par HPLC-PDA.	44
Tableau 14 :	Variation des poids corporels initiaux, finaux et gain de poids chez les groupes de rats.	47
Tableau 15 :	Effets du traitement sur les poids et les proportions des organes des rats.	48
Tableau 16 :	Effets du traitement sur les paramètres érythrocytaires.	49
Tableau 17 :	Effets du traitement sur les leucocytes et leurs paramètres associés.	51
Tableau 18 :	Effets du traitement sur la glycémie et les paramètres lipidiques.	52
Tableau 19 :	Effets du traitement sur les paramètres du profil rénal.	53
Tableau 20 :	Effets du traitement sur les paramètres hépatiques.	55

| Introduction

Introduction

L'huile d'olive vierge est la principale matière grasse monoinsaturée du régime alimentaire méditerranéen, c'est aussi un puissant aliment fonctionnel avec plusieurs avantages pour la santé. Elle est riche en acides gras monoinsaturés (AGMI), en particulier en acide oléique, et contient divers composants mineurs, notamment des composés phénoliques, des caroténoïdes, des flavonoïdes, des glycosides, des triterpénoïdes et des stéroïdes. Ces composés ont des effets antioxydants puissants (**García-González et al., 2010**).

L'Union européenne a approuvé l'allégation selon laquelle " les polyphénols de l'huile d'olive contribuent à la protection des lipides sanguins contre le stress oxydatif " (**UE, 2012**). Les polyphénols présents dans l'huile d'olive présentent une gamme de propriétés bénéfiques, notamment anti-inflammatoires, antiprolifératives, antioxydantes et antimicrobiennes, associées à des impacts positifs sur diverses maladies, telles que le cancer, le diabète, les maladies de la peau, les troubles neurologiques et les maladies cardiovasculaires (**Rigacci et Stefani, 2016**).

Selon **Souza et al. (2017)**, les polyphénols présents dans l'huile d'olive vierge ont montré des effets anti-inflammatoires *in vitro*, réduisant notamment les taux de lipopolysaccharides plasmatiques. Une étude menée par **Necib et al. (2014)** a montré que l'huile d'olive vierge exerce des effets préventifs et protecteurs contre le stress oxydatif induit par le chlorure de mercure chez les rats, protégeant efficacement le foie en atténuant la production de radicaux libres. La qualité de ces composants bénéfiques dans l'huile d'olive peut varier en fonction de certains facteurs tels que la variété d'olives, la maturité des olives à la récolte, le climat, le transport, le système d'extraction.

La production d'huile d'olive en Algérie est encore à ses débuts dans les Wilayas du Sud telles que Biskra, Ouargla et El Oued. Bien que ces régions, connues pour leur climat chaud et sec, semblent propices à la culture de l'olivier. Ces zones ne sont pas traditionnellement considérées comme zones de production d'olives. Ces dernières années., l'industrie de l'huile d'olive a connu une croissance significative grâce à divers programmes de soutien agricole, comme le Plan national de développement agricole (**PNDA**). Cela a conduit à l'expansion de la culture d'oliviers dans les provinces du Sud, notamment Biskra, El-Oued, Laghouat et Ouargla. Ces régions présentent des caractéristiques climatiques, pédologiques et écologiques différentes de celles traditionnelles de production d'olives dans le Nord, telles que Tizi Ouzou, Bejaia et Constantine (**Sahali et Sahnoune, 2023**). Plusieurs variétés d'olives ont été introduites dans

ces régions, notamment "Azeradj", "Rougette de Mitidja", "Sévellane", "Chemlal", "Sigoïse", "Manzanille" et "Neb-Djemel" (**Boukhezna, 2008**).

D'autre part, le développement rapide de la nanotechnologie présente un risque potentiel d'exposition humaine aux nanoparticules. Les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂) sont largement utilisées dans diverses industries depuis plusieurs décennies, notamment la biotechnologie, les cosmétiques, les catalyseurs, les colorants alimentaires, et les produits pharmaceutiques (**Rashid et al., 2021**).

Cependant, les interactions des nanoparticules avec les systèmes biologiques et leur toxicité potentielle sont actuellement peu connues, ce qui complique l'évaluation des risques sanitaires associés. De ce fait, une attention particulière doit être portée à la toxicité des nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂), qui figurent parmi les nanomatériaux les plus couramment utilisés dans les produits de consommation, selon l'inventaire du Projet sur les nanotechnologies émergentes du **Woodrow Wilson (2011)**.

Le stress oxydatif a été souvent identifié comme un mécanisme toxique responsable de l'apoptose et de l'inflammation induites par les NPTiO₂ dans divers types cellulaires, notamment les macrophages, les cellules rénales embryonnaires et les cellules épithéliales (**Hu et al., 2019**). Les enzymes antioxydantes sont généralement utilisées comme biomarqueurs pour évaluer l'impact des nanomatériaux, qui induisent un stress oxydatif chez les bioindicateurs (**Zhou et al., 2024**).

Cependant, plusieurs études ont montré que l'utilisation des NPTiO₂ peut entraîner un stress oxydatif avec une surproduction des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de radicaux libres, susceptibles d'endommager les tissus. Par exemple, **Shukla et al. (2014)** ont démontré que l'exposition à des nanoparticules de dioxyde de titane chez la souris induit un stress oxydatif important, causant des dommages à l'ADN et une atteinte hépatique. Bien que les systèmes antioxydants endogènes et exogènes soient généralement capables d'équilibrer la production de ces molécules, divers facteurs peuvent perturber cet équilibre, entraînant une accumulation de radicaux libres favorisant le stress oxydatif (**Pizzino et al., 2017**).

Cette accumulation peut endommager des macromolécules telles que les protéines, les lipides et les acides nucléiques. Ceci pourrait conduire à diverses maladies chroniques et dégénératives, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2 (**Martemucci et al., 2022**).

Introduction

Les maladies chroniques constituent un problème de santé publique bien connu, causant la majorité des décès dans le monde, comme l'a déclaré l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2019). Ainsi, la gestion de ces maladies représente un défi important pour les systèmes de santé. Pour la prévention de ces maladies, il est essentiel d'optimiser la défense antioxydante de l'organisme pour minimiser les dommages oxydatifs induits par les espèces réactives de l'oxygène (ERO).

L'organisme utilise divers mécanismes pour contrer les effets de ces ERO, notamment la production d'enzymes antioxydantes endogènes telles que la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase, ainsi que l'apport d'antioxydants exogènes par le biais d'une alimentation équilibrée et saine (**Liguori *et al.*, 2018**).

Une étude récente de **Hamdiken *et al.* (2024)** a montré que l'huile d'oléastre exerce un effet protecteur contre le stress oxydatif induit par les nanoparticules de silice, en améliorant les paramètres biochimiques et histologiques chez le rat. Le stress oxydatif causé par les nanoparticules pourrait être corrigé par les antioxydants végétaux naturels, en particulier ceux contenus dans les aliments. Ces nutriments présents dans les aliments, notamment ceux de l'huile d'olive vierge, ont des structures et des fonctions uniques en tant qu'antioxydants, jouant un rôle crucial dans la neutralisation des excès de radicaux libres et la prévention des maladies chroniques (**Pizzino *et al.*, 2017**). Une étude de **El-Samak *et al.* (2022)** a montré que l'huile essentielle de thym, protège efficacement les rats contre le stress oxydatif, la génotoxicité et les dommages à l'ADN induits par les NPTiO₂.

La variété choisie pour cette étude est la "Rougette de Mitidja", originaire du Nord humide et introduite dans la palmeraie de la commune de Khangat Sidi-Nadji, dans la Wilaya de Biskra. Malgré plusieurs études portant sur la caractérisation de l'huile d'olive algérienne, aucune recherche à ce jour, à notre connaissance, n'a été réalisée sur les effets biologiques des huiles issues des variétés cultivées dans le Sud.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la composition de l'huile d'olive en composés bioactifs responsables de ses effets bénéfiques sur la santé. Pour cela, la variété d'olivier a été caractérisée à l'aide de descripteurs morphologiques, les indices physicochimiques de l'huile ont été déterminés, et les composés mineurs, notamment les phénols, ont été analysés par HPLC-PDA.

D'autre part, un stress oxydatif a été induit chez des rats exposés aux nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂) par injection intrapéritonéale. Les différents paramètres analysés

Introduction

incluent le profil biochimique, la numération de la formule sanguine (FNS) et les marqueurs de stress oxydatif dans le foie et les reins. Nous avons ensuite évalué l'efficacité protectrice de l'huile d'olive vierge administrée à différentes doses.

Ce document décrit notre travail et s'articule comme suit :

Une première partie relative à l'étude bibliographique comprend deux chapitres :

- Le premier chapitre traite des généralités sur l'olivier et l'huile d'olive, en abordant l'importance de l'olivier, sa description, sa diversité et les propriétés de l'huile d'olive.

- Le deuxième chapitre se concentre sur les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂), en présentant leurs applications, ainsi que leurs effets positifs et négatifs, notamment leur rôle dans l'induction du stress oxydatif.

Une deuxième partie, relative à l'expérimentation, présente le matériel végétal utilisé, ainsi que les techniques et méthodes d'analyse de l'huile d'olive. Elle aborde également l'induction du stress oxydatif, le traitement des rats et les méthodes d'analyse statistique des données.

Une dernière partie concerne les résultats obtenus, leur analyse et leur discussion. Elle se termine par une conclusion, résumant les différents résultats, suivie de quelques perspectives.

| Données
bibliographiques

CHAPITRE I

Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive

Chapitre I : Généralités sur l'olivier et l'huile d'olive.

1. L'olivier

1.1. Importance de l'olivier

L'olivier (*Olea europaea*) joue un rôle central dans la culture des civilisations méditerranéennes en tant que source d'huile d'olive, il est également économiquement vital et revêt une signification spirituelle, notamment dans la religion islamique, où il symbolise la lumière divine : « Allah est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est semblable à celle d'une lampe allumée grâce à un arbre béni, un olivier dont l'huile éclairerait même si nul feu ne le touchait » (Sourate Ennour, verset 35).

L'olivier est cultivé principalement dans les pays méditerranéens mais sa culture s'est répandue dans d'autres régions du monde telles que l'Argentine, les États-Unis, le Chili, et l'Australie (COI, 2017).

L'oléiculture est un secteur stratégique clé de l'économie méditerranéenne ; représentant 95% de la production mondiale, estimée à 10 millions d'hectares. Au total, 800 millions d'oliviers sont cultivés dans le monde, dont 90% pour la production d'huile d'olive et le reste pour les olives de table (COI, 2024).

1.2. Description de l'olivier

1.2.1. Description morphologique

L'olivier (*Olea europaea*), appartenant à la famille des *Oleaceae*, est un arbre fruitier à feuilles persistantes, connu pour sa production d'olives, des fruits polyvalents exploités pour extraire l'huile d'olive, un aliment essentiel (figure 01).

Morphologiquement, cet arbre de taille moyenne, variant entre quatre et huit mètres de hauteur, est adapté aux climats méditerranéens, l'olivier prospère dans tous les pays méditerranéens, tels que la Turquie, l'Espagne, la France, l'Italie, la Grèce, le Portugal, la Tunisie, le Maroc et l'Algérie (Veillet, 2010) et présente une longévité impressionnante, dépassant souvent 500 ans (Wakib *et al.*, 2024).

Les conditions optimales de croissance exigent des étés chauds et secs ainsi que des hivers doux. Les dimensions et les contours de l'arbre peuvent varier en fonction des conditions climatiques, de l'exposition, de la fertilité du sol et des différentes variétés (Argenson *et al.*, 1999).



Figure 01 : Image de l'olivier (*Olea europaea*) (Veillet, 2010).

1.2.2. Description botanique

D'après, (Angiosperm Phylogeny Group, 2016) la classification botanique de l'olivier est la suivante :

- **Règne** : *Plantae* (Plantes).
- **Division** : *Magnoliophyta* (Angiospermes).
- **Classe** : *Magnoliopsida* (Dicotylédones).
- **Ordre** : *Lamiales*.
- **Famille** : *Oleaceae*.
- **Genre** : *Olea*.
- **Espèce** : *Olea europaea* L. (1753)

Le genre *Olea* comprend environ 30 espèces et 9 sous-espèces reconnues. Cependant, le nombre exact peut varier légèrement en fonction des classifications taxonomiques récentes et des nouvelles découvertes. L'olivier se caractérise par un nombre chromosomique de 23 et une reproduction par voie végétative (Beghè *et al.*, 2011).

1.3. Critère de caractérisation

1.3.1. Critères morphologiques

Les caractères morphologiques ont été structurés en descripteurs soit quantitatifs « ou biométriques » ou qualitatifs préalablement établis par le Conseil Oléicole International (COI) ; en effet Vingt-trois caractères morphologiques sont actuellement utilisés pour la caractérisation primaire des variétés d'olivier (COI, 1997).

Parmi les caractères utilisés, soient quantitatifs mesurables tels que le poids et la forme des fruit (longueur et largeur), longueur des entre nœuds, la forme de la feuille (longueur et largeur) et le poids et la forme de l'endocarpe ; soient qualitatifs qui sont déterminé par des observations objectives de certains descripteurs tels que le port, la vigueur de l'arbre, la densité de feuillage, courbures du limbe et la présence ou l'absence du mucron.

En plus de ces descripteurs morphologiques primaires, il existe des descripteurs secondaires tels que les descripteurs phénologiques, comme l'époque de floraison ou de maturité, et les descripteurs agronomiques (ITAFV, 2023).

C'est en 1997, qu'un projet « ressources génétiques de l'olivier » a vu le jour. Il avait comme objectif principal l'uniformisation des descripteurs des variétés d'olivier dans tous les pays oléicoles (COI, 2003).

1.3.2. Critères biochimiques

L'étude des constituants biochimiques de l'huile d'olive permet de caractériser les variétés d'olivier grâce à des techniques comme la chromatographie et l'électrophorèse (Haddam *et al.*, 2014). Les principaux critères incluent :

- Profil des acides gras : Composition en acides saturés et insaturés.
- Composés phénoliques : Concentration en polyphénols, qui influencent l'oxydation.
- Densité et indice de réfraction : Indicateurs de pureté et de qualité.
- Activité enzymatique : Évaluation de l'activité des enzymes comme la lipase.

1.3.3. Critères moléculaires

Les marqueurs moléculaires utilisés dans l'identification des variétés sont :

- Les marqueurs enzymatiques sont les premiers marqueurs génétiques développés pour identifier les variétés d'olivier, mais cette technique reste coûteuse.
- Les marqueurs moléculaires, principalement les RAPD (Random Amplified Polymorphic

- DNA) ont été très utilisés en vue de l'identification des variétés d'olivier (**Roubos et al., 2010**)
- Les marqueurs SSR (Simple Sequence Repeats) (**Dominguez-Garcia et al., 2012**)
- Les marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) pour l'identification des variétés d'olivier (**Ben Ayed et al., 2016**).

1.4. Diversité des variétés d'olivier

1.4.1. Dans le monde

La diversité de l'olivier à travers le monde a été façonnée par sa culture, depuis son introduction sur le pourtour méditerranéen (**tableau 01**). Cette culture a toujours été soumise à des sélections naturelles, comme toutes les espèces fruitières cultivées.

L'olivier se distingue en plusieurs variétés coexistantes au sein de la sous-espèce *Olea europaea* selon les régions. Il existe en général deux groupes de variétés ; les oliviers sauvages (*Olea europaea oleaster*) et les oliviers cultivés (*Olea europaea sativa*) (**Besnard et al., 2001**).

Les différences morphologiques entre les formes sauvages et cultivées résultent principalement d'adaptations à des environnements différents. Les cultivars (ou variétés cultivés) d'oliviers proviennent principalement des pays méditerranéens. Actuellement, l'Italie compte plus de 538 variétés, l'Espagne environ 262 variétés d'olives, , la Grèce en dénombre 98, et la Tunisie en a environ 52 (**COI, 2024**).

1.4.2. En Algérie

En Algérie, la diversité des cultivars d'oliviers est riche mais la plupart restent inexplorées en termes de caractères de qualité (**tableau 02**). Ces dernières années, la culture de l'olivier s'est progressivement étendue à de nouvelles zones géographiques, en réponse à la demande croissante, sa haute valeur nutritionnelle et de ses bienfaits pour la santé (**Baldoni et al., 2006**).

Selon (**Boukhari et al., 2020**), il existe une diversité significative de variétés d'oliviers dans le pays, avec une estimation d'environ 30 à 40 variétés principales. Pour la plupart des variétés, l'origine est incertaine. Elles ont probablement été sélectionnées pour leur adaptation aux vergers irrigués uniquement par les précipitations. Le nombre réel de variétés peut bien être plus élevé en raison du manque d'informations sur de nombreux petits cultivars locaux cultivés à travers le pays. La structure variétale montre une prédominance selon les régions : « Chemlal » et « Azeradj » pour la Kabylie ; « Limli » pour Jijel et Béjaia ; « Rougette de Mitidja » de Mitidja et « Bouricha » pour Skikda (**ITAFV, 2020**).

Tableau 01 : Principales variétés d'olivier cultivées dans le monde (COI, 2021).

Pays	Principales variétés
Albanie	Kaliniot.
Algérie	Chemlal ; Sigoise ; Azeradj ; Limli ; Blanquette de Guelma, Rougette.
Argentine	Arauco.
Chili	Azapa.
Croatie	Lastovka ; Levantinka ; Oblica.
Chypre	Ladoelia.
Egypte.	Aggezi Shami ; Hamed ; Toffahi.
Espagne	Alfafara ; Aloreña ; Arbequina ; Bical ; Blanqueta ; Callosina ; Carasqueno de la Sierra ; Castellana ; Changlot Real ; Cornicabra ; Empiltre ; Farga ; Gordal de Granada.
France	Aglandau ; Bouteillan ; Grossane ; Lucques ; Picholine Languedoc ; Salonenque ; Tanche.
U.S. A	Mission
Grèce	Adramitini ; Amigadalolia ; Chalkidiki ; Kalamone ; Conservolia ; Koroneiki ; Mastoidis ; Megaritiki ; Valanlia.
Italie	Ascolana Tenera ; Biancolilla ; Bosana ; Canino ; Carolea ; Casaliva ; Cassanese ; Cellina di Nardo ; Coratina ; Cucco ; Dolce Agogia ; Dritta ; Frantoio ; Giarraffa.
Jordanie	Rasii
Liban	Soury.
Maroc	Haouzia ; Menara ; Meslala ; Picholine Marocaine.
Palestine	Nabali Baladi
Portugal	Carrasquenha ; Cobrançosa ; Cordovil de Castelo Branco ; Cordovil de Serpa ; Galega Vulgar ; Maçanilha Algariva ; Redondal.
Slovénie	Bianchera.
Syrie	Abou-Satl ; Doebli ; Kaissy ; Sorani ; Zaity.
Tunisie	Chemlali de Sfax ; Chétoui ; Gerboui ; Meski ; Oueslati.
Turquie	Ayvalik ; Çekiste ; Çelebi ; Domat ; Erkence ; Gemlik ; Izmir Sofralik ; Memecik ; Uslu.
Yugoslavie	Zutica.

Tableau 02 : Principales Variétés d'Oliviers en Algérie (ITAFV, 2020).

Variétés	Description	Localisation
Chemlal	Variété pour la production d'huile avec bon rendement en matière grasse.	Kabylie
Sigoise	Double fin : olives de table et huile, fruits de grande taille.	Plaine de Sig de Mascara
Azeradj	Variété résistante utilisée pour la production d'huile.	Kabylie
Blanquette	Forte production d'huile, bonne résistance.	Mitidja, Tizi Ouzou
Rougette de Mitidja	Produisant des olives rouges, utilisées principalement comme olives de table.	Mitidja
Limli	Utilisée pour la production d'huile.	Jijel, Béjaia
Dahbia	Résistante aux conditions arides mais faible rendement	Sud algérien
Arbequina	Variété importée, adaptée aux climats arides, production d'huile	Ghardaïa, Sud algérien
Picholine	Importée, bonne qualité d'huile, tolérante à la sécheresse	Sud algérien
Manzanilla	Adaptée aux conditions arides, utilisée pour les olives de table	Sud algérien
Ferkani	Cultivée pour l'huile	Ferkani, Wilaya de Tébessa
Sebraa	Variété d'huile, résistante	Tlemcen, Ouest algérien
Bouricha	Variété à huile.	Skikda

1.4.3. Etude de la variété « Rougette de Mitidja »

La variété d'olivier "Rougette de Mitidja" est originaire de la plaine de Mitidja (Algérie) à faible altitude en Algérie (**figure 02**). Cette variété est rustique, caractérisée par des fruits de taille moyenne et allongée, principalement utilisés pour la production d'huile.

Selon l'arrêté du 20 mai 2007, publié dans le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (**JORDP, 2007**), cette variété possède plusieurs caractéristiques agronomiques et commerciales intéressantes ; ce qui en fait une variété relativement productive en termes d'huile. Elle est également précoce et rustique, elle s'adapte bien aux conditions environnementales difficiles, y compris les zones semi-arides et arides.

Cependant, sa productivité générale est faible. Le rapport pulpe/noyau de cette variété est de 4,33, indiquant une proportion relativement faible de pulpe par rapport au noyau. Le taux de nouaison est moyen, à 2,50 %, et l'aptitude rhizogène, c'est-à-dire la capacité de la plante à produire des racines à partir de boutures, est très bonne, dépassant les 55 %. En revanche, la "Rougette de Mitidja" présente une alternance de production, c'est-à-dire une variabilité dans la production d'une année à l'autre (ITAFV, 2023).

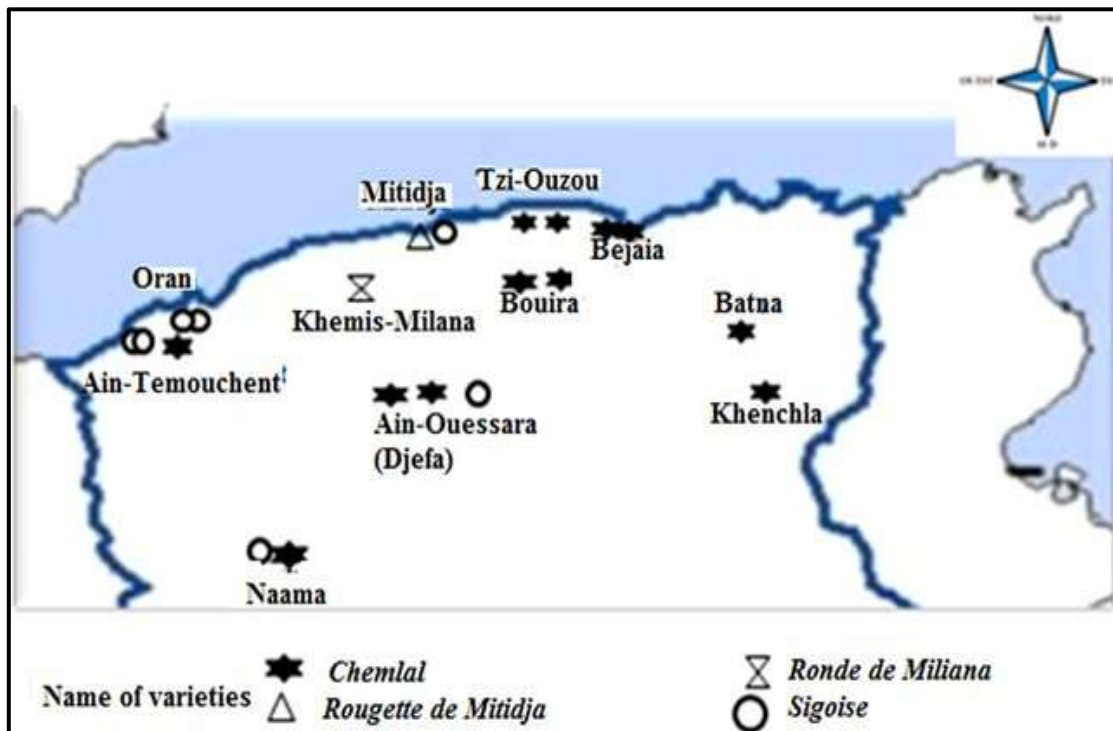


Figure 02 : Origine géographique de certaines variétés d'huile d'olive en Algérie (Boukhari *et al.*, 2020).

2. L'huile d'olive

2.1. Définition

L'huile d'olive, un aliment essentiel du régime méditerranéen, est extraite du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.). Réglementée par le COI, le règlement européen et le Codex Alimentarius. Elle est reconnue pour ses propriétés alimentaires, antioxydantes et anti-inflammatoires. Son importance réside dans son rôle polyvalent, de la cuisine à la santé, et elle répond à des normes physicochimiques et organoleptiques grâce à sa composition unique en acides gras et en composés mineurs (COI, 2019).

2.2. Les étapes essentielles du processus d'extraction de l'huile d'olive

Les étapes d'élaboration de l'huile d'olive selon les directives du COI en 2023 sont résumées dans le **tableau 03**.

Tableau 03 : Processus de production de l'huile d'olive (COI, 2019).

Récolte des olives	La cueillette manuelle garantit la meilleure qualité d'huile, tandis que des outils comme des vibreurs ou peignes sont aussi utilisés. Le choix de la méthode et du période affecte la qualité finale.
Transport et réception des olives.	Les olives sont acheminées vers les huileries immédiatement après la récolte, pesées, et stockées dans des caisses en plastique aérées ou autres. Ces caisses doivent être autorisés pour les produits alimentaires.
Trituration des olives	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nettoyage et effeuillage : Élimination des impuretés (feuilles, branches, etc.) pour garantir la qualité du produit final. 2. Broyage des olives : Transformation des olives nettoyées en pâte à l'aide de broyeurs, respectant une texture équilibrée. Durée de broyage de 20 à 30 minutes pour éviter l'oxydation des polyphénols. 3. Malaxage de la pâte pour séparer les particules solides de la phase liquide, réalisé pendant au moins 60 minutes à froid, à des températures ne dépassant pas 25°C. 4. Séparation : Utilisation de centrifugeuses pour séparer l'huile, l'eau et les autres composants. 5. Stockage et filtration : Stockage de l'huile dans des cuves pour décantation naturelle et éventuelle filtration pour éliminer les particules résiduelles.
Conditionnement	L'huile d'olive extraite est transvasée pour préserver ses qualités, filtrée si nécessaire, puis conditionnée en bouteilles ou bidons opaques. Des filtres adaptés garantissent la qualité finale du produit.

2.3. Catégories de l'huile d'olive

Les acides gras libres (AGL) ou "acidité libre" est un test simple et courant utilisé dans les normes de l'huile d'olive comme critère de classification. C'est aussi un indicatif de bons processus de récolte et de manipulation. Leur présence dans une huile indique que la dégradation s'est produite en raison d'une manipulation inadéquate lors des différentes étapes traitement, de la récolte à la trituration.

La présence des AGL peut aussi inclure de nombreux facteurs tels que l'utilisation d'olives de mauvaise qualité (Polari *et al.*, 2021). Les différentes catégories d'huiles d'olive sont présentées sur le **tableau 04**.

Tableau 04 : Catégories et caractéristiques des huiles d'olive (COI, 2019).

Type	Catégories d'huile d'olive	Acidité libre	Caractéristiques
Huile d'olive vierge	Huile d'olive extra vierge	< 0,8 g pour 100 g	La plus haute qualité, sans défaillance sensorielle. Riche en antioxydants naturels, en vitamine E et en phytostérols.
	Huile d'olive vierge	≤ 2,0 g pour 100 g	Modérément riche en antioxydants naturels.
	Huile d'olive vierge courante	≤ 3,3 g pour 100 g	Huile de qualité inférieure par rapport à l'huile d'olive vierge. Elle peut présenter des défauts sensoriels légers. Utilisée principalement pour la cuisson.
	Huile d'olive lampante	> 2,0 g pour 100 g	Non adaptée à la consommation humaine sans traitement. Destinée à un usage non alimentaire, peut être raffinée pour devenir consommable.
Huile d'olive non vierge	Huile d'olive raffinée	-	Subit un processus de raffinage, éliminant les défauts et les composés indésirables, mais perdant également certaines caractéristiques organoleptiques.
	Huile de grignons d'olive	-	Extraite des résidus solides après pressage des olives, traitée aux solvants ou autres procédés physiques, souvent raffinée et mélangée avec de l'huile d'olive vierge.

2.4. Caractéristiques qualitatives de l'huiles d'olive

De nos jours, la qualité de l'huile d'olive reflète des aspects nutritionnels, sensoriels et commerciaux. La qualité nutritionnelle de l'huile d'olive vierge est liée à sa composition biochimique.

2.4.1. Caractéristiques organoleptiques

Selon le (COI, 2018), L'huile d'olive est un liquide limpide, de couleur jaune ou jaune-vert, avec une odeur caractéristique. Sa qualité et ses propriétés sensorielles sont intimement liées à sa composition chimique. L'analyse sensorielle de l'huile d'olive vierge permet de déterminer ses caractéristiques organoleptiques, à la fois positives et négatives.

Cette évaluation, réalisée par un panel de dégustateurs formés, vise à classer l'huile en fonction de l'intensité des défauts et des qualités perçues.

Les attributs gustatifs et olfactifs jouent un rôle clé dans cette classification, influençant la qualité et la valorisation de l'huile d'olive sur le marché.

Parmi les principaux attributs organoleptiques, on peut citer :

➤ **Attributs positifs :**

- **Fruité** : Ensemble des sensations olfactives provenant d'olives fraîches et saines (vertes ou mûres), perçues par voie nasale et rétronasale.
- **Amer** : Goût caractéristique des huiles obtenues d'olives vertes ou au stade de véraison, ressenti principalement sur la langue.
- **Piquant** : Sensation tactile de picotement ressentie dans toute la bouche, typique des huiles d'olives fraîches, souvent en début de saison.

➤ **Attributs négatifs :**

- **Rance** : Flaveur des huiles ayant subi une oxydation intense.
- **Moisi-humide-terre** : Goût provenant d'olives stockées dans des conditions humides ou contaminées par les moisissures.
- **Vineux-vinaigré** : Flaveur rappelant le vin ou le vinaigre, liée à une fermentation aérobie.

Il existe d'autres attributs, tels que l'épicé et l'herbacé pour les attributs positifs, ainsi que le métallique et l'acide pour les attributs négatifs.

2.4.2. Caractéristiques physico-chimiques

L'analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive représente une étape décisive dans l'évaluation de sa qualité et de son aptitude à la consommation. Ces paramètres offrent des informations fondamentales sur la composition chimique et la stabilité de l'huile.

Parmi les éléments fréquemment évalués, on retrouve la teneur en acides gras libres, la valeur de peroxyde, l'absorbance UV, l'indice d'iode, l'indice de saponification, ainsi que la couleur. Ces paramètres sont employés pour classer les huiles d'olive, conformément aux recommandations du COI (**COI, 2015**),

Le COI propose une classification des huiles basée sur leurs caractéristiques physicochimique (**tableau 05**). Toutefois, il est important de souligner que les critères déterminant l'inclusion ou l'exclusion d'une huile dans une catégorie sont nombreux et susceptibles de varier en fonction de divers paramètres tels que la composition en acides gras et stérols.

Tableau 05 : Critères physicochimiques de l'huile d'olive (COI, 2019).

Type d'huile	Vierge extra	Vierge	Vierge courante
Critères de qualité			
Acidité libre (% d'acide oléique)	≤ 0,8	≤ 2,0	> 2,0
Indice de peroxyde (mEq O ₂ /kg)	≤ 20	≤ 20	Non limité
Absorbance K₂₇₀	≤ 0,22	≤ 0,25	> 0,25 ou non limité
Extinction spécifique ΔK	≤ 0,01	≤ 0,01	> 0,01 ou non limité
Évaluation organoleptique (<i>score médian</i>)	≥ 6,5	≥ 5,5	< 3,5 ou > 2,5

2.4.3. Composition biochimique de l'huile d'olive

La composition biochimique de l'huile d'olive peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment la variété, le climat, la région de production et les méthodes de traitement. Elle est principalement composée de triglycérides ou triacylglycérols, qui sont des esters de glycérol et d'acides gras. Il existe deux fractions, saponifiable (Acides gras et triglycérides) et insaponifiable (Phosphatides : phospholipides et composés mineurs).

2.4.3.1 Fraction saponifiable

➤ Triglycérides

Les triglycérides ou plus exactement les triacylglycérols constituent la majeure partie de l'huile d'olive, représentant environ 98% à 99% de sa composition. Ils sont formés des triples esters d'acides gras et de glycérol (Catania *et al.*, 2016).

➤ Acides gras

Les acides gras sont les composants structurels des triglycérides dans l'huile d'olive. Les principaux acides gras présents sont l'acide oléique (monoinsaturé), l'acide linoléique (polyinsaturé) et l'acide palmitique (saturé) (Villegas et Sanchez-Taínta, 2017).

2.4.3.2 Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable (**tableau 06**) contient les composés mineurs qui sont des antioxydants jouant un rôle crucial dans la stabilité et la qualité de l'huile d'olive. D'autres composés mineurs, tels que les cires, les acides gras à longue chaîne et les hydrocarbures (par exemple, le squalène), sont également présents (Villegas et Sanchez-Taínta, 2017).

Tableau 06 : Composition biochimique en composés mineurs de l'huile d'olive : Composés phénoliques, vitamines, stérols et pigments (**Musumeci et al., 2013**).

Composés Catégories	Nature chimique	Propriétés biologiques
Composés phénoliques	Hydroxytyrosol et ses dérivés	
	- Oleuropéine	Propriétés antioxydantes, potentiel anti-inflammatoire
	- Oléocanthal	Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. C'est un inhibiteur enzymatique non spécifique des cyclooxygénases (COX).
	- Tyrosol	Effets antioxydants, protection des cellules
	- Acide caféique	Propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes
	- Acide férulique	Protection contre le stress oxydatif
	- Acide vanillique	Activité antioxydante, potentiel anti-inflammatoire
	Flavonoïdes	
	- Lutéoline	Antioxydant, régulateur du système immunitaire
	- Apigénine	Favorise l'activité des récepteurs GABA dans le cerveau (réduit le stress), inhibe l'agrégation plaquettaire
Vitamines	Tocophérols	
	- α -tocophérol (vitamine E)	Antioxydant majeur
	- β -tocophérol	Propriétés antioxydantes
	- γ -tocophérol	Protection contre les dommages oxydatifs
	Vitamine K Rôle dans la coagulation sanguine et la santé osseuse	
Stérols	- β -sitostérol	Réduction du cholestérol LDL, effet anti-inflammatoire
	- Campesterol	Effet sur la réduction du cholestérol
Pigments	Caroténoïdes	
	- Lutéine	Propriétés antioxydantes, protection oculaire
	- Zéaxanthine	Protection contre la dégénérescence maculaire
	- Bêtacarotène	Antioxydant, précurseur de la vitamine A
	Chlorophylles	
	- Chlorophylle « a »	Propriétés antioxydantes
	- Chlorophylle « b »	Antioxydante, contribue à la couleur verte de l'huile

Ces composants présentent des avantages nutritionnels et des implications importantes pour la santé liée à l'huile d'olive. Cependant, leur concentration est influencée par divers facteurs à savoir les variétés d'oliviers, les conditions environnementales, le moment de la récolte, la méthode d'extraction et les conditions de stockage (**Jimenez-Lopez et al., 2020**).

2.5. Effets biologiques de l'huile d'olive vierge

L'huile d'olive est largement considérée comme un alicament en raison de sa composition unique qui lui confère des propriétés bénéfiques pour la santé. Son profil lipidique, principalement composé d'acides gras monoinsaturés (AGMI) dont le principal est l'acide oléique. De plus, elle contient des acides gras polyinsaturés (AGPI) tels que l'acide linoléique (ω -6) et linoléique (ω -3), reconnu pour ses effets positifs sur la réduction des lipoprotéines de faible densité (LDL) (**Mariotti et Peri, 2014**). Il faut noter aussi leur rôle protecteur contre les troubles coronariens, auto-immuns et inflammatoires, ainsi que des propriétés antithrombotiques et régulatrices de la pression artérielle (**Lombardo et al., 2018**).

2.5.1. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation récurrente ou chronique est un facteur étiologique majeur de plusieurs pathologies non transmissibles. L'huile d'olive vierge a été suggérée comme un produit thérapeutique potentiel dans diverses maladies inflammatoires chroniques (**Limketkai et al., 2018**).

L'huile d'olive vierge riche en polyphénols réduit l'inflammation chez les personnes atteintes de syndrome métabolique et dans le tissu adipeux des souris (**Saibandith et al., 2017**).

2.5.2. Propriétés cardioprotectrices

L'huile d'olive vierge est souvent considérée comme bénéfique pour la santé cardiovasculaire en raison de ses propriétés cardioprotectrices. La consommation régulière d'huile d'olive vierge réduit le risque de maladies cardiovasculaires majeures, tels que les accidents vasculaires cérébraux et les infarctus du myocarde, de manière significative. **Estruch et al. (2018)**, ont montré que l'intégration de l'huile d'olive vierge dans une alimentation méditerranéenne est associée à une réduction notable des risques cardiovasculaires.

L'huile d'olive vierge est principalement composée d'acides gras monoinsaturés, en particulier l'acide oléique. Ces graisses monoinsaturées peuvent aider à réduire le taux de mauvais cholestérol LDL tout en maintenant le taux de lipoprotéine de haute densité (HDL).

L'huile d'olive peut également aider à réguler la pression artérielle, ce qui est important pour la santé du cœur (**Estruch *et al.*, 2018**).

2.5.3. Activité antioxydante

L'huile d'olive est reconnue pour ses propriétés antioxydantes, principalement attribuées à ses composants bioactifs tels que les composés phénoliques, les tocophérols, les squalènes et les pigments. Ces substances protègent les cellules des dommages oxydatifs en réduisant l'oxydation des lipides (**Guclu *et al.*, 2021**). Ces caractéristiques font de l'huile d'olive l'une des huiles comestibles les plus bénéfiques pour la santé à l'échelle mondiale.

Le stress oxydatif, défini comme étant un déséquilibre entre les systèmes oxydants et antioxydants de l'organisme, est un facteur clé dans le développement de nombreuses maladies, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les troubles neurodégénératifs. L'oxygène, bien qu'essentiel à la vie aérobie, peut générer des espèces réactives (ERO) qui sont responsables des dommages cellulaires et conduisent à la nécrose ou apoptose cellulaire (**Weseler et Bast, 2010**).

L'huile d'olive, en plus de ses acides gras monoinsaturés comme l'acide oléique, contient des composants mineurs ayant des propriétés antioxydantes significatives. Ces acides gras ne servent pas uniquement de source d'énergie, mais sont également essentiels pour la structure de la peau, de la rétine, du système nerveux, des lipoprotéines et des membranes biologiques (**Viola et Viola, 2009**).

Les composés phénoliques de l'huile d'olive, en particulier l'hydroxytyrosol, jouent un rôle clé dans la prévention de l'oxydation des lipides, de l'ADN et des LDL. L'hydroxytyrosol est un puissant antioxydant, capable de neutraliser les radicaux libres en raison de sa structure chimique et de ses groupes hydroxyle (**Visioli *et al.*, 2002**). Des études ont montré que ce composé contribue à la prévention du stress oxydatif dans le foie des rats exposés à des toxines, comme le cadmium (**Casalino *et al.*, 2002**), renforçant ainsi ses bienfaits protecteurs (**Covas *et al.*, 2006**).

2.5.4. Autres propriétés biologiques

L'huile d'olive possède diverses propriétés biologiques supplémentaires, dont les plus notables : des bienfaits pour la circulation sanguine et la coagulation (**Yubero-Serrano *et al.*, 2019**) et des effets anti-âge (**de Pablos *et al.*, 2019**), neuroprotecteurs (**Farr *et al.*, 2012**) et capacité antimicrobienne (**Bertelli *et al.*, 2020**).

CHAPITRE II

Les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂)

Chapitre II : Les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂)

1. Généralités sur les nanoparticules

Les nanoparticules sont de petites particules mesurant de 1 à 100 nanomètres (nm) de taille (Catania *et al.*, 2016). Elles ont attiré une attention croissante en raison de leur utilisation dans divers domaines tels que les produits de consommation, la médecine, le sol et les environnements aquatiques. Elles sont utilisées, à titre d'exemple, pour les textiles, la thérapie contre le cancer, la radiologie et les cosmétiques (Som *et al.*, 2011). Ces utilisations, bien qu'avantageuses, présentent certains risques pour les organismes vivants (Pak *et al.*, 2020).

Ces nanoparticules ont la capacité de traverser les barrières physiologiques des organismes vivants, provoquant diverses réactions biologiques nocives. Elles peuvent pénétrer par les voies respiratoires, le tractus intestinal ou la peau, atteindre le cerveau en franchissant la barrière hémato-encéphalique, et induire des inflammations cérébrales, pulmonaires ainsi que des troubles cardiovasculaires, mettant en évidence de réels risques pour la santé humaine (Oberdörster *et al.*, 2005).

En fait, certaines nanoparticules ont été découvertes à travers les dommages cellulaires qui atteignent les organes en induisant, par conséquent, un stress oxydatif (figure 03). La toxicité d'une nanoparticule chez un individu donné dépend de son patrimoine génétique, qui est déterminé par la capacité de l'individu à s'adapter et à répondre aux substances toxiques (Mancuso et Cao, 2014).

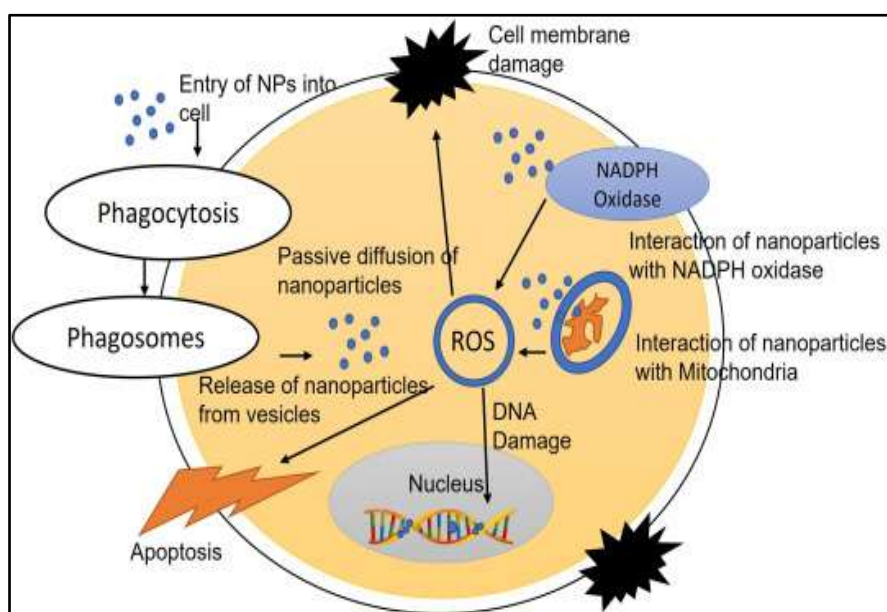


Figure 03 : Mécanisme d'entrée des nanoparticules dans les cellules et les dommages induits (Cypriyana *et al.*, 2021).

2. Les nanoparticules de Dioxyde de Titane (NPTiO₂)

2.1. Définition

Le dioxyde de titane (TiO₂), communément appelé "blanc de titane", est un minéral naturel avec une multitude d'applications pratiques et potentielles. Il se trouve dans différentes phases cristallines, notamment le rutile, l'anatase et la brookite, ainsi que sous forme amorphe. Elles peuvent être obtenues par plusieurs méthodes, dont la synthèse hydrothermale ou encore la pulvérisation.

Les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂) sont de minuscules particules composées de dioxyde de titane, avec au moins une dimension de l'ordre du nanomètre (1 à 100 nanomètres) (Catania *et al.*, 2016).

2.2. Applications et propriétés des NPTiO₂

2.2.1. Effets positifs

Les nanoparticules de TiO₂ sont devenues un additif courant dans divers produits en raison de leurs propriétés uniques et de leur polyvalence, avec des effets positifs dans les domaines suivants :

- **Applications dans les cosmétiques** : Utilisées dans les produits de soins personnels tels que les écrans solaires pour leur efficacité contre les rayons UV et pour améliorer la stabilité des cosmétiques. (Piccinno *et al.*, 2011) (figure 04).
- **Applications alimentaires** : Employées comme additif pour blanchir et opacifier les aliments, avec des recherches en cours sur leur sécurité (Piccinno *et al.*, 2011).
- **Industrie des peintures et plastiques** : Intégrées comme pigment blanc pour renforcer la résistance aux UV et prolonger la durabilité des matériaux (Piccinno *et al.*, 2011).
- **Applications pharmaceutiques** : Potentiel vecteur de médicament, grâce à leurs propriétés nanométriques, pour améliorer l'efficacité thérapeutique et réduire les effets secondaires (Ziental *et al.*, 2020).
- **Ingénierie tissulaire et pansements** : Utilisées dans la régénération des tissus et les pansements pour leurs propriétés cicatrisantes et antimicrobiennes (Ziental *et al.*, 2020).

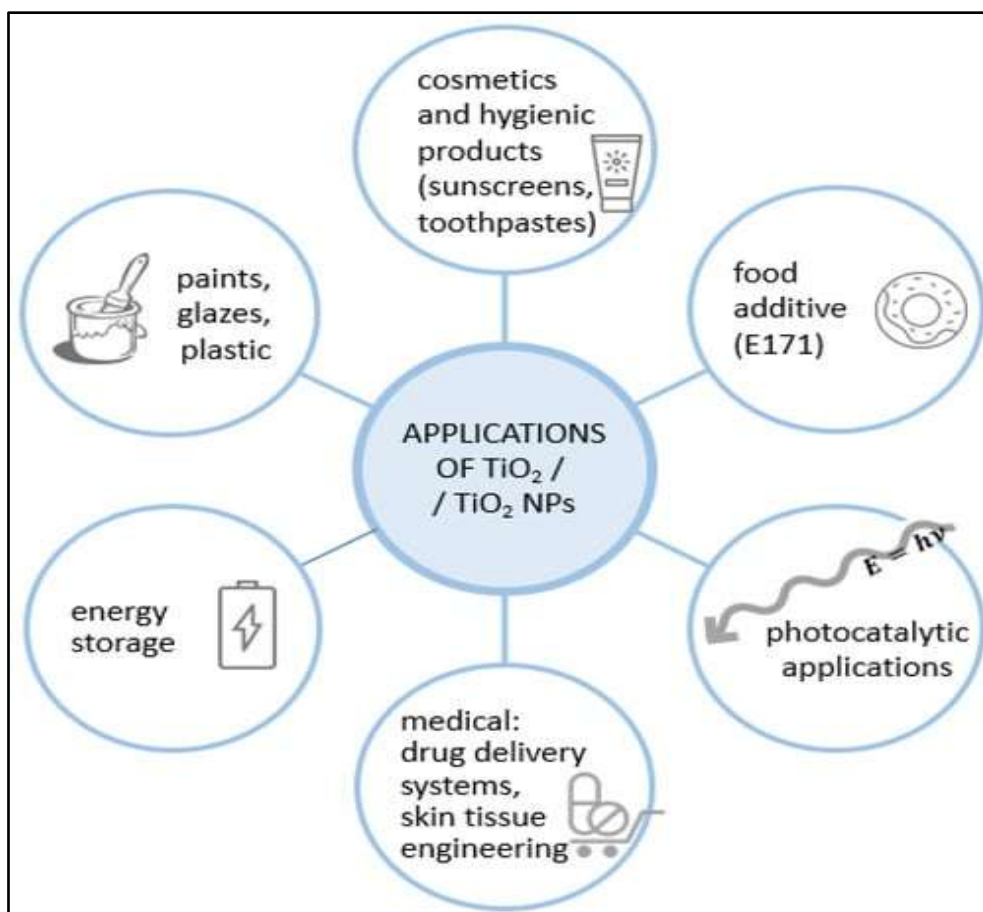


Figure 04 : Les différentes applications et propriétés des NPTiO₂ (Piccinno *et al.*, 2011)

2.2.2. Effets négatifs

Malgré leurs propriétés positives et leurs utilisations polyvalentes précitées, les NPTiO₂ suscitent des préoccupations en raison de leurs effets négatifs potentiels dans divers domaines. Parmi ces effets négatifs figurent :

- **Induction du stress oxydatif :** Les NPTiO₂ sont associées à une augmentation du stress oxydatif, déséquilibrant les processus antioxydants et favorisant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), notamment dans les poumons (Hsiao et Huang, 2011). Le stress oxydatif causé par les NPTiO₂ est aussi impliqué dans le développement de maladies chroniques telles que le cancer, ainsi que des troubles inflammatoires, neurodégénératifs et cardiovasculaires (McCord, 2000).
- **Effets pro-inflammatoires :** Leur capacité à générer des ERO est directement liée à une inflammation accrue dans les tissus pulmonaires, exacerbant les réactions inflammatoires locales (Nel *et al.*, 2006).

- **Organes les plus vulnérables** : Le foie et la rate sont particulièrement exposés en raison de l'accumulation des nanoparticules, tandis que les reins et les poumons sont également vulnérables en raison de leur rôle dans l'élimination des toxines et des particules étrangères (Aillon *et al.*, 2009) (tableau 07).

Tableau 07 : Dommages aux organes induits par le stress oxydatif (Vaziri *et al.*, 2003).

Organes	Maladies
Les poumons	Asthme, bronchite chronique
Les reins	Glomérulonéphrite, insuffisance rénale chronique
Les articulations	Arthrite, rhumatisme
Le cerveau	Maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer, dépression, perte de mémoire, accident vasculaire cérébral
Les yeux	Cataracte, maladies de la rétine
Le fœtus	Retard de croissance.
Les vaisseaux cardiaques	Artériosclérose, hypertension, ischémie, cardiomyopathie, insuffisance cardiaque
Multi-organes	Cancer, diabète, infection inflammatoire, vieillissement

Partie
Expérimentale

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

L'huile utilisée dans cette étude est issue de la variété « Rougette de Mitidja » ; elle provient d'un verger situé dans la commune de Khangat Sidi Nadji, Wilaya de Biskra.

1.1. Présentation de la zone d'étude

La Wilaya de Biskra, capitale des « Zibans », constitue la porte du Sahara. Elle est située dans le Sud-Est de l'Algérie et s'étend sur une superficie d'environ 20 986 km². Elle est délimitée au Nord par la Wilaya de Batna, à l'Est par la Wilaya de Khenchela, à l'Ouest par la Wilaya de Djelfa et au Sud par les Wilayas d'Ouargla et d'El Oued. La ville se trouve à une altitude moyenne de 187 mètres au-dessus du niveau de la mer.

Le climat de Biskra est de type saharien sec, caractérisé par des étés extrêmement chauds et des hivers doux. La pluviométrie annuelle varie de 120 à 150 mm, tandis que la température annuelle moyenne est d'environ 21,8 °C (**Benzohra, 2017**).

L'oliveraie concernée par cette étude se situe au niveau de la commune de Khangat Sidi Nadji, située à 100 km à l'Est de Biskra. Elle occupe une superficie de 80,00 km² (**figure 05**). Les Coordonnées géographiques de cette région sont : 34° 48' 21" Nord/ 6° 42' 25" Est.

1.2. Echantillonnage

Les échantillons ont été récoltés lors de la campagne oléicole 2019/2020 au niveau d'un nouveau verger situé dans une haute plaine bien drainée. Il comprend quatre variétés d'oliviers : « Blanquette », « Grosse de Hamma », « Sigoise » et « Rougette de Mitidja » (**figure 06**).

Ce verger, créé en 2008 avec une superficie initiale de 2 hectares dans le cadre du Plan National de Développement Agricole (PNDA) sous la tutelle du ministère de l'agriculture, fait partie des oliveraies modernes en Algérie. Il s'agit d'un verger semi-intensif, fertilisé avec des engrais organiques et minéraux, présentant une homogénéité avec une densité de 300 oliviers par hectare. Ces oliviers, âgés en moyenne de douze ans, sont entourés de brise-vents qui contribuent à créer un microclimat favorable à leur développement.

Les olives ont été récoltées d'une manière aléatoire sur une parcelle d'oliviers de la variété « Rougette de Mitidja ». Les olives ont été cueillies à la main sur 40 arbres, à divers endroits et à une hauteur d'homme, conformément à la méthode d'échantillonnage recommandée par le COI (**2011**). Après la cueillette, les olives sont transportées et soigneusement nettoyées de toutes impuretés dans une huilerie (maâsra) située à Chechar Wilaya de Khenchela.

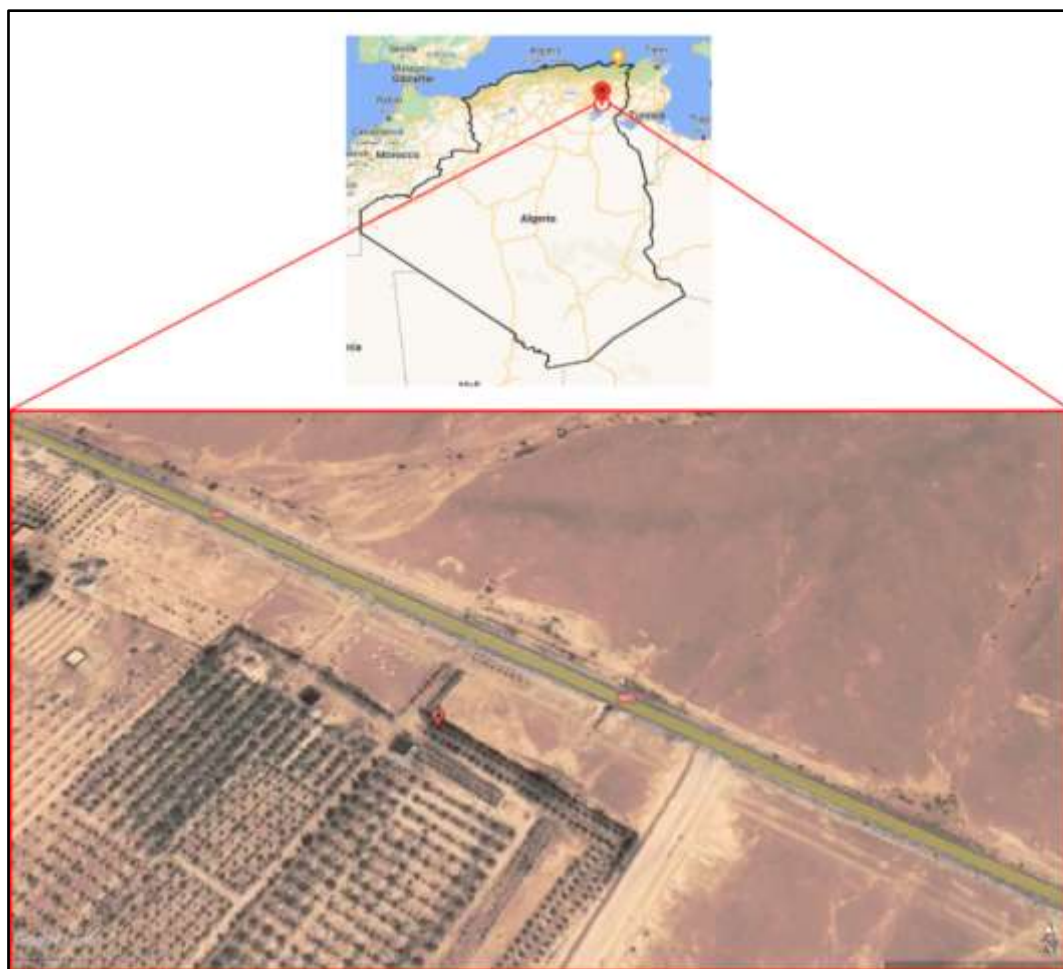


Figure 05 : Carte de situation géographique de la zone d'étude (Khangat Sidi Nadji-Biskra). (Google Earth, 2022).



Figure 06 : Prise de vue générale du verger d'étude (Photo personnelle, 2020).

1.3. Caractérisation morphologique de la variété « Rougette de Mitidja »

La méthode de caractérisation morphologique que nous avons utilisée dans cette étude suit les directives établies par le COI (1997) et le catalogue des variétés algériennes de l'olivier défini par l'ITAFV (2023) et décrite en détails dans l'annexe 01 (*annexe 01*).

Elle consiste à mesurer des caractères biométriques et à décrire des caractères qualitatifs sur des échantillons comme suit :

- **L'arbre** : La vigueur, le port et la densité du feuillage, ainsi que des mesures biométriques, ont été effectués sur 20 arbres : hauteur de l'arbre, diamètre du tronc et nombre de branches principales.
- **La feuille** : les mesures ont été effectuées sur 40 feuilles : la forme, la longueur et la largeur.
- **Le fruit** : les mesures ont été effectuées sur 40 olives : la longueur, la largeur, le poids, la forme du sommet et de la base et la présence ou l'absence du mamelon et de lenticelles.
- **L'endocarpe** : les mesures ont été effectuées sur 40 endocarpes : la longueur, la largeur, le poids, la forme, la symétrie, la base et la surface.

1.4. Extraction de l'huile d'olive

L'huile d'olive a été extraite à froid au niveau d'une huilerie en utilisant la méthode de centrifugation Alpha-Laval. Ce système moderne permet une séparation efficace de l'huile, de l'eau et des résidus solides. Après le broyage des olives en pâte, l'huile est extraite par centrifugation dès la première pression, ce qui permet de préserver sa qualité.

2. Analyses de l'huile d'olive

2.1. Teneur en huile des olives

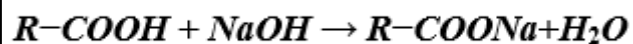
La teneur en huile des olives est un paramètre essentiel pour la production d'huile d'olive. L'extraction se fait avec un appareil Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant organique. Après évaporation du solvant, l'huile extraite est pesée pour déterminer la matière grasse, selon la norme (ISO 659, 1988).

2.2. Analyse des caractéristiques physicochimiques

L'huile d'olive obtenue à partir de la variété « Rougette », objet de cette étude, a été soumise à des analyses physicochimiques, conformes aux critères de qualité. Les méthodes utilisées pour la détermination des caractéristiques physicochimiques sont des méthodes de titration qui sont décrites dans la norme (ISO 659, 1996).

2.2.1. Acidité libre

L'acidité libre est la teneur en acides gras libres de l'huile d'olive résultant de l'hydrolyse des triglycérides, exprimée conventionnellement en acide oléique (g/100g d'huile). L'acidité correspond au nombre de milligrammes de potasse (KOH) ou de soude (NaOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres dans un gramme de corps gras selon la réaction :



Où : R-COOH représente les acides gras libres, et NaOH est la solution de soude.

Une augmentation de ce paramètre reflète généralement une dégradation des triglycérides de l'huile, tandis qu'une faible acidité indique une huile bien conservée, extraite à partir d'olives saines et fraîches.

2.2.2. Analyse spectrophotométrique dans l'ultra-violet

La technique spectrophotométrique dans l'ultraviolet évalue l'oxydation des matières grasses en mesurant l'absorbance de la lumière à des longueurs d'onde spécifiques. Lors de l'oxydation, des hydroperoxydes se forment et absorbent la lumière à environ 266 nm, tandis que des produits secondaires, comme les cétones insaturées, absorbent à 270 nm. Une extinction élevée à 270 nm indique un niveau accru d'oxydation, reflétant une concentration plus importante de ces produits secondaires.

2.2.3. Indice de peroxyde (Ip)

L'indice de peroxyde (Ip) mesure le degré d'oxydation des huiles en quantifiant la concentration de peroxydes présents dans un échantillon. Lors de cette analyse, l'échantillon d'huile est mélangé avec une solution d'iodure de potassium, qui est oxydée par les peroxydes, libérant ainsi de l'iode. Ce dernier est ensuite titré avec une solution de thiosulfate de sodium. La quantité de thiosulfate utilisée permet de déterminer la concentration de peroxydes, exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme d'huile. Ce paramètre fournit des informations sur le degré d'oxydation des huiles. Une augmentation de l'indice de peroxyde indique une oxydation avancée de l'huile, traduisant une détérioration de sa qualité.

2.2.4. Indice de saponification (Is)

L'indice de saponification mesure la quantité de potasse (hydroxyde de potassium) nécessaire pour saponifier un gramme de corps gras, exprimée en milligrammes. Il évalue la composition des graisses et huiles en acides gras. Un indice élevé suggère une plus grande

quantité d'acides gras à chaîne courte, tandis qu'un indice faible indique des acides gras à chaîne plus longue.

2.2.5. Matière volatile (l'humidité)

La détermination de la teneur en eau et en matière volatile se base sur la perte de masse subie par l'échantillon dans des conditions expérimentales spécifiques. Cette perte de masse est déterminée par dessiccation à une température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$, réalisée dans une étuve isotherme sous pression atmosphérique, jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant. Une teneur élevée indique une humidité résiduelle, pouvant favoriser l'altération de l'huile, tandis qu'une faible teneur reflète une meilleure stabilité et conservation.

2.2.6. Phosphatides

La détermination des phosphatides s'effectue par l'insolubilisation de ces composés dans un solvant tel que l'acétone. Ce processus vise à isoler spécifiquement les phosphatides de l'échantillon, les rendant insolubles et permettant ainsi leur mesure distincte. Une teneur élevée en phosphatides peut indiquer un raffinage insuffisant ou la présence d'impuretés, ce qui peut altérer la stabilité et la qualité de l'huile.

Les détails complets concernant le mode opératoire ainsi que l'expression des résultats pour chaque paramètre, sont présentés dans *l'annexe 02*.

2.3. Analyse quantitative des composés mineurs

Dans cette partie, nous avons dosé quelques composés mineurs tels que les polyphénols totaux, la teneur en chlorophylles, en caroténoïdes, en tanins et les flavonoïdes. L'analyse est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre « Secomam » installé au laboratoire de biochimie et microbiologie appliquée de l'université Badji Mokhtar, Annaba.

2.3.1. Polyphénols

Pour le dosage des polyphénols deux méthodes ont été utilisées :

➤ Méthode colorimétrique

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **Wong et al. (2006)**. La méthode est basée sur la capacité des composés phénoliques de réduire le mélange d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) du réactif de Folin-Ciocalteu. L'absorbance du complexe bleu formé a été mesurée à une longueur d'onde de 765 nm.

➤ Analyse par HPLC-PDA

L'analyse quantitative des composés phénoliques présents dans l'extrait d'huile d'olive a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance avec détection par réseau de diodes (HPLC-PDA), à l'aide d'un appareil « Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D » au niveau de laboratoire de biochimie de l'Université Hamidiye, Istanbul (Turquie). La séparation a été effectuée sur une colonne à phase inverse de type phénylhexyle (3 μ m, 4,6 \times 150 mm ; GL Sciences InterSustain).

Le débit du solvant a été fixé à 1 ml/min, et la température de la colonne a été maintenue à 30 °C. La phase mobile était constituée de 0.1% d'acide formique dans l'eau (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B).

Les échantillons et les standards ont été injectés à un volume de 10 μ l. La calibration a été réalisée avec quinze composés phénoliques standards afin de détecter leur présence dans l'extrait d'huile d'olive. Les composés standards évalués comprennent l'acide vanillique, l'acide caféique, l'épicatéchine, l'acide p-coumarique, l'acide salicylique, l'acide cinnamique, l'acide rosmarinique, la quercétine, l'acide chlorogénique, l'apigénine-7-O-glucoside, la rutine, la naringénine, l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide gallique et l'acide férulique. Les résultats sont exprimés en mg/l d'extrait (**Friedman et Jürgens, 2000**).

2.3.2. Caroténoïdes

Selon **Mínguez-Mosquera et al. (1991)**, les caroténoïdes, comprenant le β -carotène, les xanthophylles et la lutéine, absorbent principalement dans le bleu et légèrement dans le vert, avec un maximum autour de 420, 440 et 460 nm. La méthode de détermination de la teneur en ces pigments dans l'huile d'olive repose sur une approche spectrophotométrique. L'absorption à 470 nm qui est une longueur d'onde spécifique à la fraction des caroténoïdes.

2.3.3. Chlorophylles

La détermination de la teneur en pigments chlorophylliens dans l'huile d'olive est réalisée en suivant la méthode décrite par **Wolff, (1968)** et **Mínguez-Mosquera et al. (1991)**. Cette technique mesure l'absorption de la lumière à différentes longueurs d'onde (630 nm, 670 nm et 710 nm) pour quantifier la concentration des chlorophylles présentes dans l'échantillon.

2.3.4. Flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes est réalisée par la méthode colorimétrique décrite par **Zhishen et al. (1999)**. Cette méthode utilise le trichlorure d'aluminium et la soude. Le

trichlorure d'aluminium réagit avec les flavonoïdes pour former un complexe jaune, tandis que la soude forme un complexe de couleur rose absorbant dans le spectre visible à 510 nm.

2.3.5. Tannins condensés

La quantification des tannins condensés dans l'huile d'olive est réalisée par la méthode à la vanilline adaptée par **Julkunen-Tiitto, (1985)**. Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe entre les tannins et la vanilline, avec une mesure ultérieure de l'absorbance à 550 nm.

2.3.6. Effet antioxydant (DPPH)

Cette méthode mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène (H). Cela conduit à la réduction du DPPH° en DPPH₂, provoquant un changement de la couleur violette à jaune (**figure 07**), accompagné d'une diminution simultanée de l'absorbance à 515 nm. L'intensité de ce changement de couleur est proportionnelle à la concentration et à la puissance des antioxydants présents. Une réduction significative de l'absorbance dans le mélange réactionnel indique une activité notable de la molécule testée dans la neutralisation du DPPH° (**Blois, 1958**).

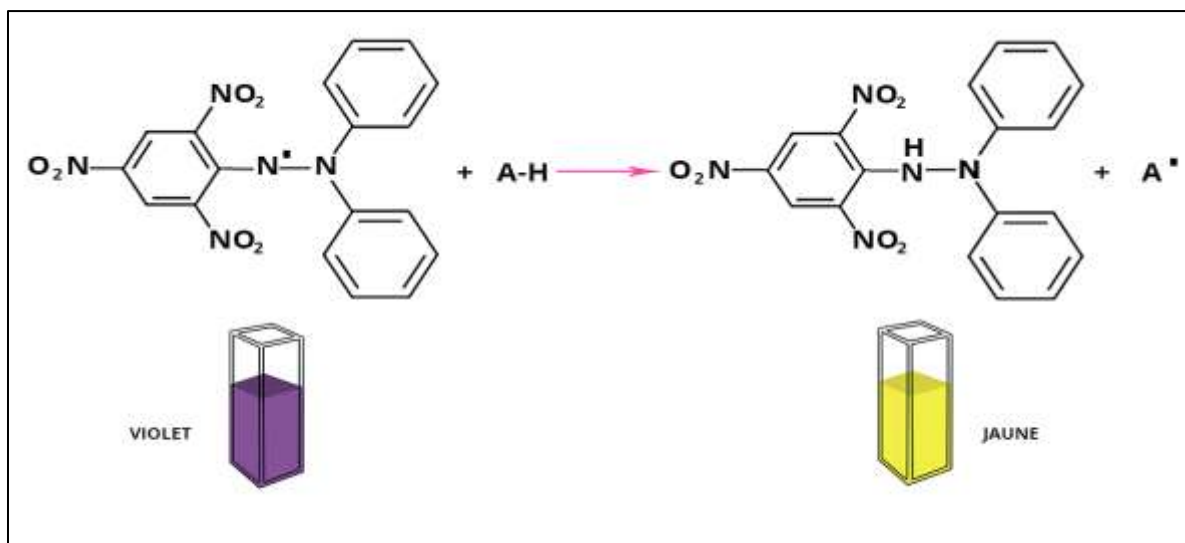


Figure 07 : Forme libre et réduite du DPPH° (Nunes *et al.*, 2011).

Les détails complets du mode opératoire et de l'expression des résultats de ces analyses sont présentés dans *l'annexe 03*, tandis que les courbes d'étalonnage se trouvent dans *l'annexe 04*.

3. Matériel animal

3.1. Les conditions d'élevage des rats

Dans cette étude, nous avons utilisé 36 rats mâles de la souche Wistar albinos, appartenant à l'espèce *Rattus norvegicus*. Ces rats ont été obtenus de l'Institut Pasteur (Centre d'élevages Kouba, Alger). Ils étaient âgés de neuf semaines et présentaient un poids corporel compris entre 200 et 250 g à leur arrivée.

Les rats ont été soumis à une période d'adaptation d'environ 30 jours aux conditions de l'animalerie de l'Université Badji Mokhtar, Annaba, maintenus à une température d'environ 25°C avec une photopériode naturelle. Ils étaient logés dans des cages en polyéthylène tapissées de copeaux de bois en tant que litière.

Les cages et la litière sont nettoyées tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les rats sont nourris avec des croquettes équilibrées en nutriments (protéines, des glucides, des lipides, des vitamines et des sels minéraux), provenant de l'Office National de l'Aliment du Bétail (ONAB de Guelma) (**tableau 08**).

Tableau 08 : Composition du régime alimentaire, g/ kilogramme d'aliment (ONAB, Guelma).

Matières alimentaires	Quantités en g/Kg d'aliment	Quantités en pourcentage.
Amidon	500	50
Soja	450	45
Calcium	20	2
Sels minéraux	20	2
Vitamines	10	1

3.2. Protocole et conception expérimentale

3.2.1. Produit chimique

Nous avons utilisé des nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂). Le dioxyde de titane a été obtenu auprès du Laboratoire de Chimie des Matériaux Inorganiques (LCMI) à l'Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.

Le stress oxydatif a été induit chez les rats par l'injection intrapéritonéale des NPTiO₂ dissoutes dans de l'eau physiologique (1%). La dose choisie de NPTiO₂ (40 mg/kg de poids

corporel) a été basée sur des données de la littérature, indiquant sa capacité à induire le stress oxydatif chez les rats sans entraîner de mortalité (**Bhattacharya *et al.*, 2009**).

3.2.2. Traitements des groupes de rats

Les expériences sur les rats ont été menées conformément aux directives de la Communauté européenne (directive 86/609/CEE) et aux réglementations nationales algériennes (PNR-ANDRS 8/u23/332) relatives au bien-être des animaux utilisés à des fins scientifiques et éducatives.

Après une période d'acclimatation, les rats ont été répartis de manière aléatoire en six groupes. Chaque groupe comprend six rats. La période expérimentale s'est étendue sur 6 semaines.

La répartition des groupes de rats est effectuée de la manière suivante :

➤ **Groupe 01** : Le groupe témoin n'a reçu aucun traitement ; seule de l'eau leur a été administrée par gavage quotidien. Il est noté (**Contrôle**).

Les cinq groupes restants ont été injectés avec une solution de 1 ml de NPTiO₂.

➤ **Groupe 02** : Aucun traitement supplémentaire après l'injection de NPTiO₂ ; seule de l'eau leur a été administrée par gavage quotidien. Il est noté (**NTO**).

Les quatre autres groupes ont été traités à jeun avec de l'huile d'olive, 48 heures après l'injection des NPTiO₂, avec un gavage quotidien ;

➤ **Groupe 03** : reçoit d'une dose (D₁) de 2 g/kg de p.c. Ce groupe est noté (**NTO-D₁**).

➤ **Groupe 04** : reçoit d'une dose (D₂) de 6 g/kg de p.c. Ce groupe est noté (**NTO-D₂**).

➤ **Groupe 05** : reçoit d'une dose (D₃) de 10 g/kg de p.c. Il est noté (**NTO-D₃**).

➤ **Groupe 06** : reçoit d'une dose (D₄) de 14 g/kg de p.c. Il est noté (**NTO-D₄**).

3.2.3. Sacrifice des animaux

Le sacrifice par décapitation a eu lieu après 6 semaines de traitement, soit 24 heures après le dernier gavage d'huile d'olive. Les rats ont été mis à jeun pour éviter toute modification des paramètres biochimiques, essentiellement la glycémie et le bilan lipidique. Le poids final de chaque rat a été enregistré le jour du sacrifice.

3.2.4. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin a été effectué en recueillant immédiatement le sang dans deux séries de tubes en polyéthylène, soigneusement étiquetés. La première série contenait l'anticoagulant "Héparine de Lithium", tandis que la seconde l'anticoagulant "EDTA".

- Les tubes à EDTA : ont été réservés spécifiquement pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS), permettant une analyse détaillée des cellules sanguines.
- Les tubes à héparine de lithium ont subi une centrifugation à 3000 tours/minute pendant 15 minutes. Les sérums ainsi récupérés ont été utilisés pour la détermination de certains paramètres biochimiques tels que la glycémie, l'acide urique, l'urée, la créatinine, cholestérol, triglycérides, protéines totales, de la bilirubine totale, la bilirubine directe, ainsi que les enzymes transaminases Aspartate Aminotransférase (ASAT) et Alanine Aminotransférase (ALAT).

3.2.5. Prélèvement des organes

Après sacrifice, les rats ont été soigneusement disséqués afin de prélever les foies et les reins.

Les organes extraits ont été débarrassés de leurs tissus adipeux, puis rincés dans une solution saline (chlorure de sodium à 0,9%) avant d'être pesés. Les organes ont été subdivisés en deux parties distinctes :

- La première moitié a été conservée à -20 °C au congélateur en vue de l'analyse des paramètres du stress oxydatif (GSH, MDA, GSH-Px, GST et CAT).
- La deuxième moitié a été immédiatement fixée dans une solution de formol à 10%. Cette procédure a été réalisée en vue de préparer des coupes histologiques.

La **figure 08** résume les différentes étapes du protocole expérimental.

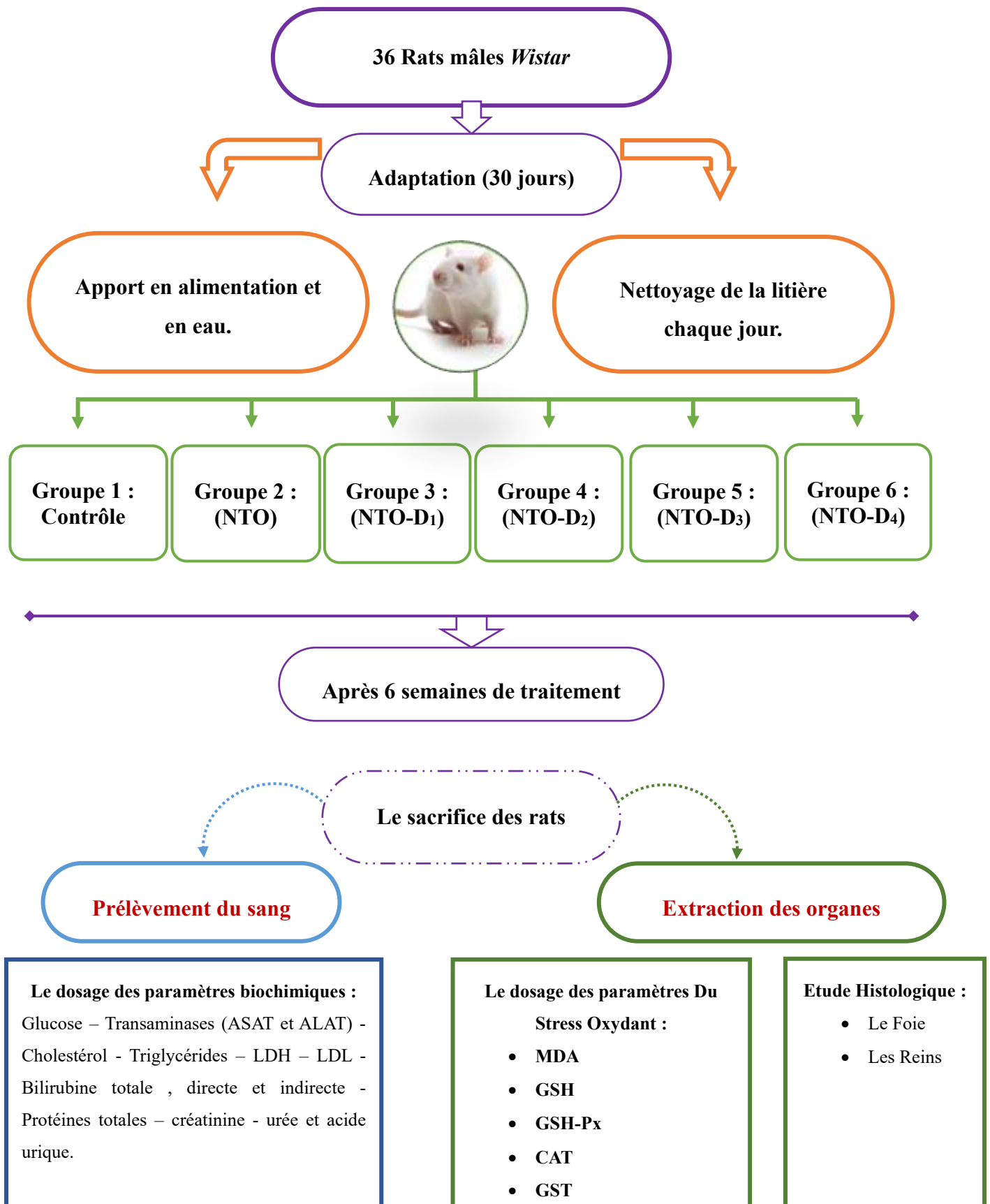


Figure 08 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

3.3. Dosage des paramètres hématologiques (FNS)

Le dosage de la FNS a été effectué au laboratoire des analyses médicales El-Hikma – Annaba, selon la méthode de la norme (ISO 15189, 2012).

La Formule de Numération Sanguine (FNS) a été effectuée à l'aide de l'analyseur de marque Mindray BC-2800 sur le sang total conservé dans les tubes EDTA.

Les paramètres déterminés sont : le nombre de globules rouges (GR), le nombre de globules blancs (GB), la concentration en hémoglobine (HGB), l'hématocrite (HTC), le nombre de plaquettes (PLT), les lymphocytes (Lymph), les monocytes (MID) (les globules blancs de taille intermédiaire), le volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

3.4. Dosage des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimique (la glycémie, l'acide urique, l'urée, la créatinine, le cholestérol, les triglycérides, les protéines totales, la bilirubine totale, la bilirubine directe, la bilirubine indirecte et les transaminases) a été réalisée par des méthodes colorimétriques avec un analyseur automatisé « Mindray BS 240 » et des kits commerciaux « Biosystem et Diasis » au laboratoire des analyses médicales El-Hikma – Annaba. Le principe de chaque test a été déterminé selon la fiche technique de cet analyseur (*annexe 05*).

3.5. Dosage des paramètres du stress oxydant

3.5.1. Protéines

Le dosage des protéines est déterminé selon la méthode de **Bradford, (1976)**. Il repose sur l'utilisation du Bleu Brillant de Coomassie G250 en tant que réactif. Ce dernier réagit spécifiquement avec les groupements amines (-NH) des protéines, formant un complexe coloré bleu. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des protéines dans l'échantillon. La mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 595 nm, effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre, permet d'évaluer cette concentration.

3.5.2. Malondialdéhyde (MDA)

L'évaluation du niveau de peroxydation lipidique repose sur la mesure du MDA par le test « Thiobarbituric Acid Reactive Substances » (TBARS), conformément à la méthode de **Buege et Aust, (1978)**. Ce test, permet une détermination indirecte de la peroxydation des lipides en mesurant le MDA. Le dosage se fonde sur la condensation du MDA en milieu acide et chaud avec l'acide thiobarbiturique.

Cette réaction engendre la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique, mesurable par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm (**figure 09**).

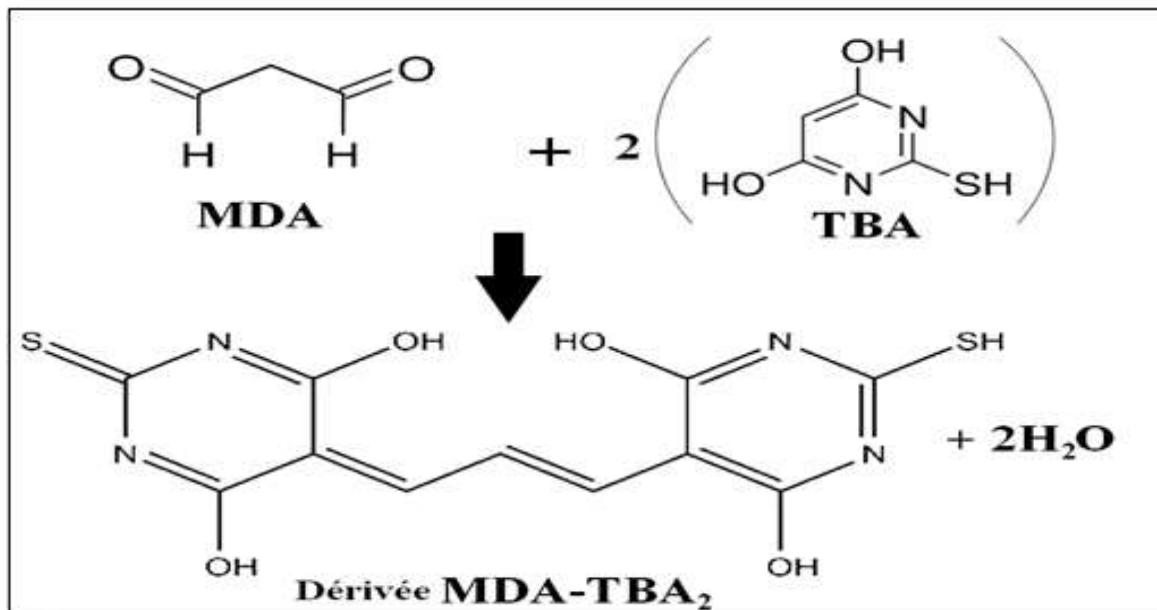


Figure 09 : Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide Thiobarbiturique.

3.5.3. Glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est effectué selon la méthode de **Ellman, (1959)** ajustée par **Jollow *et al.* (1974)**. Le principe de la réaction repose sur la réduction de l'acide 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB), qui présente une absorbance à 412 nm (**figure 10**).

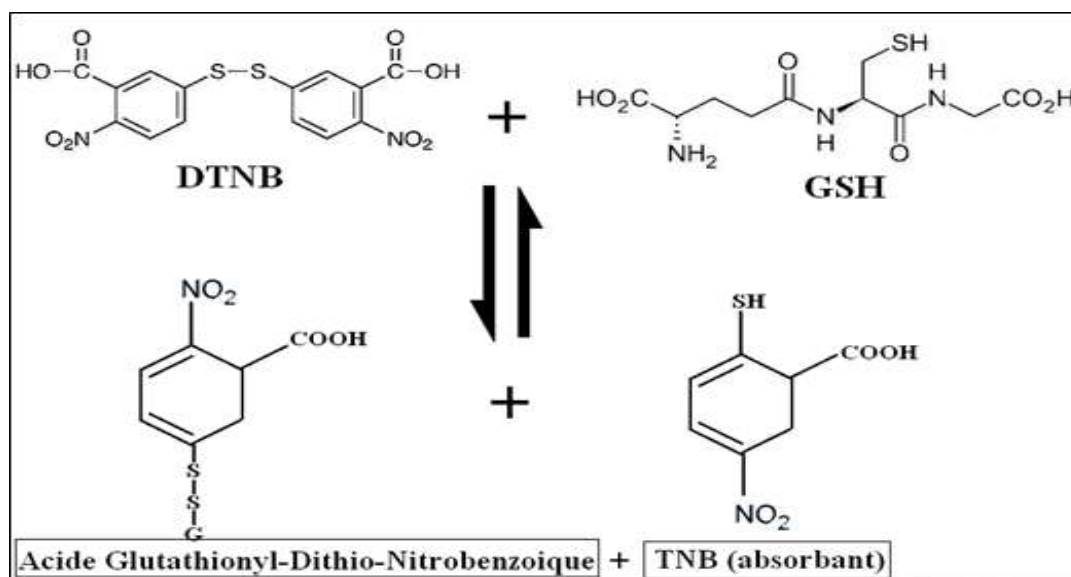


Figure 10 : Principe de dosage du glutathion (GSH).

3.5.4. Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase est mesurée selon la méthode de **Flohé et Günzler, (1984)**. Cette méthode repose sur la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH). Sous l'influence de la GSH-Px, le GSH est transformé en glutathion oxydé (GSSG) selon la réaction suivante :



Cela permet de mesurer l'activité de la GSH-Px en évaluant la dégradation du peroxyde d'hydrogène.

3.5.5. Activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)

La mesure de l'activité des glutathion S-transférases implique la fourniture d'un substrat à l'enzyme, généralement le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB). Ce composé réagit facilement avec les différentes formes de GST et le glutathion. La réaction de conjugaison entre ces deux produits conduit à la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm. Cette réaction permet de mesurer l'activité enzymatique de la GST en évaluant la formation du produit conjugué (**Habig et al., 1974**).

3.5.6. Activité enzymatique de la Catalase (CAT)

Les catalases, présentes dans de nombreux tissus, sont des enzymes tétramériques. Chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes jouent un rôle majeur dans la défense cellulaire contre le stress oxydant. Les espèces réactives sont éliminés, ce qui accélère la réaction spontanée d'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique pour la cellule, en le transformant en eau et en oxygène (**Aebi, 1984**).

La réaction se déroule comme suit :



Cette méthode mesure la décomposition de H_2O_2 par la catalase, offrant ainsi une évaluation précise de son activité enzymatique.

Les détails complets du mode opératoire et de l'expression des résultats de ces analyses sont présentés dans *l'annexe 06*.

3.6. Technique histologique

L'étude histologique a été menée au laboratoire d'Anatomie Pathologique du Centre de Diagnostic Médical El-MADINA à Annaba.

La méthode suivie est basée sur le protocole décrit par **Hould (1984)** et comprend les étapes suivantes :

3.6.1. Fixation

Les échantillons ont été soigneusement fixés dans une solution de formol à 10%. Il convient de noter que cette concentration a été choisie pour assurer une fixation adéquate des tissus tout en préservant les structures cellulaires.

Les prélèvements ont été placés dans des cassettes spéciales à parois tournées, permettant une immersion optimale dans le liquide de fixation.

Ce processus est important pour garantir la stabilité des échantillons et préserver leur intégrité structurelle en vue de l'analyse histologique ultérieure.

3.6.2. Déshydratation des échantillons

La déshydratation initiale des échantillons a été réalisée à l'aide d'un appareil automatique, permettant une transition progressive et automatique à travers des bains d'éthanol de concentrations croissantes (70, 95 et 100 %).

Il est essentiel de garantir que chaque étape de déshydratation a été suffisamment longue pour assurer une déshydratation complète des échantillons.

3.6.3. Inclusion et réalisation des blocs

Les pièces sont immergées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus sont suffisamment imprégnés de paraffine, l'étape suivante consiste à les enrober.

Cela implique l'inclusion du tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, permettra la réalisation des coupes.

Cette procédure s'effectue à l'aide d'appareils appelés "appareils à inclusion", qui comportent un réservoir de paraffine maintenu à l'état liquide par un système de chauffage.

La réalisation des coupes minces d'une épaisseur de 5 μm est rendue possible grâce à l'utilisation d'instruments spécialisés appelés "Microtomes".

Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées sur la lame en utilisant une solution gélatineuse chauffée.

Ces étapes garantissent une préparation appropriée des échantillons pour l'analyse histologique, en assurant la solidification correcte du bloc de paraffine et la réalisation de coupes minces de haute qualité.

3.6.4. La coloration

Pour la coloration, la technique à l'Hématoxyline-Eosine (H et E) a été employée, impliquant l'utilisation de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), de l'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml d'ammoniaque), et de la solution d'Eosine (100 ml de solution aqueuse à 3% d'Eosine, 125 ml d'alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée, et 2 gouttes d'acide acétique).

Les étapes de coloration sont les suivantes :

3.6.5. Déparaffinage et hydratation des lames

On commence par déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet, suivi d'un rinçage à l'eau distillée. Hématoxyline de Harris : les lames sont immergées dans un bain d'Hématoxyline de Harris pendant 15 minutes.

3.6.6. Différenciation

Les coupes sont différenciées dans l'alcool acide avec 1 à 2 plongées. Ensuite, les lames sont déposées dans un bain d'eau du robinet et vérifier la différenciation au microscope.

3.6.7. Bleuissement

Un bleuissement a été effectué dans un bain d'eau ammoniacale.

3.6.8. Eosine

Les lames sont immergées dans un bain d'Eosine pendant 15 secondes à 2 minutes.

3.6.9. Observation microscopique

Les préparations ont été séchées avant d'être examinées au microscope optique. Toutes les images ont été capturées à un grossissement de $\times 400$ à l'aide d'un microscope optique (Leica ICC50 HD Microscope Camera).

3.7. Méthodes d'analyses statistiques des résultats

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne accompagnée de l'erreur standard de la moyenne (Moy \pm SD).

La comparaison entre les différents groupes a été réalisée par une analyse de la variance à l'aide du test « One Way ANOVA », suivie d'un test « t de Student » pour la comparaison des moyennes.

L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide des logiciels GraphPad Prism (version 8.0.1.244) et Microsoft Excel (version 2016).

- Trois comparaisons distinctes ont été réalisées :

- (*) : comparaison de groupe (NTO) vs le groupe **contrôle**.
- (a) : comparaison des groupes (NTO-D₁), (NTO-D₂), (NTO-D₃) et (NTO-D₄) vs le groupe **contrôle**.
- (b) : comparaison des groupes (NTO-D₁), (NTO-D₂), (NTO-D₃) et (NTO-D₄) vs le groupe (NTO).

- Les différences sont considérées comme :

- (*, a, b) : significative lorsque ($p < 0.05$),
- (**, aa, bb) : hautement significative lorsque ($p < 0.01$),
- (***, aaa, bbb) : très hautement significative lorsque ($p < 0.001$).

| Résultats

Résultats

1. Analyse de l'huile d'olive

1.1. Caractérisation morphologique de la variété étudiée « Rougette de Mitidja »

Les caractéristiques morphologiques de la variété d'olivier « Rougette de Mitidja » sont présentées dans le **tableau 09**, qui compare en photos les caractéristiques observées par nous-mêmes avec celles du catalogue des variétés algériennes, défini par l'ITAFV, (2023). Le **tableau 10** présente les mesures biométriques comparatives entre la variété étudiée et la « Rougette de Mitidja ».

L'olivier étudié montre une forte vigueur, avec une hauteur d'environ $4,2 \pm 0,50$ m et un tronc de $65 \pm 10,46$ cm de diamètre, ce qui correspond aux caractéristiques générales de la Rougette de Mitidja (hauteur typique : 3,5-5,5 m ; diamètre : 60-90 cm). L'arbre présente $5 \pm 0,83$ branches principales, dans la fourchette typique de 4 à 6 pour cette variété.

Les feuilles, elliptiques et lancéolées, mesurent en moyenne $5,83 \pm 0,64$ cm de longueur et $1,22 \pm 0,14$ cm de largeur, avec un rapport longueur/largeur de $4,81 \pm 0,70$, ce qui correspond aux proportions habituelles de la Rougette de Mitidja (L : 5-7 cm ; l : 1-1,5 cm ; L/l : 4-6).

Les fruits, de forme allongée et pointus à la base, sans mamelon et avec de petites lenticelles, mesurent en moyenne $2,37 \pm 0,26$ cm de longueur et $1,53 \pm 0,18$ cm de largeur, avec un rapport longueur/largeur de $1,95 \pm 0,21$, supérieur au seuil typique de 1,45. Leur poids moyen est de $3,63 \pm 0,45$ g, ce qui correspond à la plage de 2 à 4 g observée pour la Rougette de Mitidja. À maturité, le fruit devient noir.

L'endocarpe, également allongé, mesure $1,1 \pm 0,16$ cm de longueur et $0,5 \pm 0,09$ cm de largeur, avec un rapport longueur/largeur de $0,8 \pm 0,54$. Son poids est relativement élevé, atteignant $0,9 \pm 0,20$ g, ce qui est supérieur au seuil typique de 0,45 g. Il présente un diamètre transversal maximal au niveau du point d'insertion central. La surface de l'endocarpe est rugueuse, avec une extrémité supérieure dotée d'un mucron.

1.2. Teneur en huile des olives

L'évaluation de la teneur en huile est essentielle, car la production d'huile est l'objectif principal de la culture de l'olivier.

Le résultat obtenu concernant la teneur en huile de la variété étudiée est de 9.6 % par rapport à la matière fraîche.

Tableau 09 : Illustration en photos des caractéristiques morphologiques entre la variété étudiée avec celles de la variété « Rougette de Mitidja » du catalogue (ITAFV, 2023).







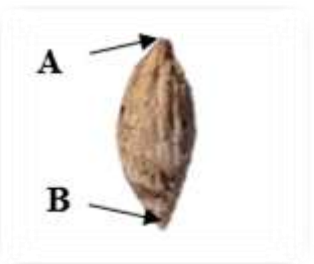

Caractères	Variété étudiée (Photos personnelles, 2020)	Variété « Rougette de Mitidja » (Photos du catalogue)	Aspect général
Arbre			<p>Vigueur : Forte, avec un bon développement.</p> <p>Port : Dressé, avec des branches bien développées.</p> <p>Densité du feuillage : Moyenne.</p>
Feuille			<p>Forme : Elliptiques et lancéolées.</p> <p>Taille : Longueur et largeur moyennes.</p>
Fruit			<p>Forme : Allongée.</p> <p>Base : Pointue, sans mamelon.</p> <p>Lenticelles : Petites.</p>
Endocarpe			<p>Poids : Moyen,</p> <p>Forme : Allongée pointue à ses deux extrémités.</p> <p>Surface : Rugueuse.</p>

Tableau 10 : Mesures biométriques de l'olivier étudié en comparaison avec la variété « Rougette de Mitidja » du **catalogue (ITAFV, 2023)**.

	Caractéristique	Mesures	Valeur typique pour la Rougette de Mitidja
Arbre	Hauteur de l'arbre (m)	4,2 ±0,50	3,5 - 5,5
	Diamètre du tronc (cm)	65±10,46	60 - 90
	Nombre de branches principales	5±0,83	4-6
Feuille	Longueur (L) (cm)	Moyenne : 5,83±0,64	Moyenne : 5-7
	Largeur (I) (cm)	Moyenne : 1,22±0,14	Moyenne : 1 - 1,5
	Rapport (L/I) (cm)	4,81±0,70	4-6
	Forme des feuilles	Elliptique lancéolée	Elliptique, légèrement lancéolée
Fruit	Longueur (L) (cm)	2,37±0,26	1,5 - 2,5
	Largeur (I) (cm)	1,53±0,18	1 - 1,5
	Rapport (L/I) (cm)	1,95±0,21	> 1,45
	Poids (g)	Moyen : 3,63±0,45	Moyen : 2-4
	Forme	Allongée	Allongée
Endocarpe	Longueur (L) (cm)	1,1±0,16	1 - 1,5
	Largeur (I) (cm)	0,5±0,09	0,5 - 0,7
	Rapport (L/I) (cm)	0,8±0,54	< 2,2
	Poids (g)	Elevé : 0,9±0,20	Elevé : > 0,45
	Forme	Allongée	Allongée

1.3. Caractérisation physicochimique

Les résultats des caractéristiques physicochimiques obtenus sont récapitulés dans le **tableau 11**. L'analyse des résultats montre que l'acidité de l'huile d'olive est de 1.9 %, avec des valeurs UV de 0,05 pour K₂₃₂ et 0,03 pour K₂₇₀.

L'indice de saponification est de 185,13 mg KOH/g d'huile, tandis que l'indice de peroxyde est de 5,4 mEq d'O₂/kg d'huile. L'humidité de l'huile est mesurée à 0,19 %, avec un taux de phosphatides de 0,83 %.

Tableau 11 : Caractérisation physicochimique de l'huile d'olive vierge monovariétale étudiée.

Caractéristiques	Valeurs	Normes (COI. 2019) (Huile d'olive vierge)	Normes (CODEX. 2013) (Huile d'olive vierge)
Acidité (%)	1.9	≤ 2,0	≤ 3,3
Absorbance UV	DO 232 :0.05 DO 270 :0.03 ΔK : 0.07	DO 232 : ≤ 2.5 DO 270 : ≤0.22 ΔK : ≤0.01	DO 232 : ≤ 2.60 DO 270 : ≤0.25 ΔK ≤ 0,01
Indice de peroxyde (mEq d'O ₂ /kg d'huile)	5.4	≤20	≤20
Indice de saponification (mg KOH/g)	185.13	184-196	184-196
Humidité (%)	0,19	<0.2	0.2
Phosphatides (%)	0.83	<1	/

1.4. Teneurs en composés mineurs et activité antioxydante

Le **tableau 12** présente les résultats de l'analyse de la composition en composés mineurs dans l'huile d'olive étudiée, ainsi que l'activité antioxydante.

Les résultats sont les suivants : la concentration des polyphénols est de 439 mg EAG/kg, celle des caroténoïdes est de 8,50 ppm, et celle des chlorophylles est de 9,60 ppm.

Les flavonoïdes sont présents à une concentration de 60 mg EQ/kg, tandis que les tannins atteignent 29 mg EC/kg. L'activité antioxydante mesurée par le test DPPH montre un IC₅₀ de 14,49 µg/ml, avec un pourcentage d'inhibition de 87,70%.

Tableau 12 : Teneurs en composés mineurs et activité antioxydante DPPH de l'huile d'olive étudiée.

Paramètres	Polyphénols (mg EAG/kg)	Caroténoïdes (ppm)	Chlorophylles (ppm)	Flavonoïdes (mg EQ/kg)	Tannins (mg EC/kg)	Test DPPH	
						IC ₅₀ (µg/ml)	% Inhibition
Valeurs	439±0.11	8.50±0.01	9.60±0.05	60±0.01	29±0.01	14.49±0.02	87.70

Les valeurs sont les moyennes de triplicatas ± SD.

EAG : équivalent d'acide gallique ; EQ : équivalent de quercétine ; EC : équivalent de catéchine.

1.5. Analyse des composés phénoliques par HPLC-PDA.

Les quinze composés phénoliques standards utilisés pour l'analyse de l'huile d'olive par HPLC-PDA, ainsi que les résultats obtenus, sont présentés dans les **figures 11 et 12**.

Les deux pics marqués par des cercles rouges représentent l'acide cinnamique et la quercétine, avec des concentrations respectives de 0,047 mg/l et 0,185 mg/l, comme détaillé dans le **tableau 13**. Ce tableau indique également les limites de détection (LOD en mg/l), les limites de quantification (LOQ en mg/l), le temps de rétention (RT) et le coefficient de régression (R^2) pour chaque composé.

Les autres pics numérotés font également partie des résultats et peuvent correspondre à d'autres polyphénols connus présents dans l'huile d'olive, tels que l'hydroxytyrosol, le tyrosol ou la lutéoline.

Tableau 13 : Identification et quantification des composés phénoliques présents dans l'huile d'olive vierge par HPLC-PDA.

No.	Composés phénoliques	LOD (mg/l)	LOQ (mg/l)	RT (min)	Équation de calibration(R^2)	Huile étudiée (mg/l)
1	Acide gallique	0.7440	2.2547	4.352	$y=29799.9x+6494.60$ (0.9995)	-
2	Acide 4-hydroxybenzoïque	0.6445	1.9531	10.217	$y=40036.7x+1238.33$ (0.9995)	-
3	Acide chlorogénique	1.3687	4.1476	12.073	$y=28066.0x+25870.2$ (0.9990)	-
4	Acide vanillique	1.0565	3.2017	12.437	$y=48654.4x-26981.1$ (0.9997)	-
5	Acide caféique	3.1730	9.6153	12.850	$y=16914.9x-1409.46$ (0.9972)	-
6	Épicatéchine	8.4615	25.6410	14.150	$y=4788.08x+789.457$ (0.9986)	-
7	Acide p-coumarique	1.3807	4.1841	18.486	$y=64013.4x-19190.2$ (0.9933)	-
8	Acide férulique	1.3865	4.2016	20.971	$y=46665.0x-14606.2$ (0.9928)	-

9	Acide salicylique	4.6906	14.2140	21.929	$y=23472.2x+25113.1$ (0.9994)	-
10	Rutine	2.1258	6.4420	23.494	$y=17392.1x-5957.13$ (0.9959)	-
11	Acide chicorique	3.9639	12.0120	27.011	$y=7443.82x+72484.6$ (0.9887)	-
12	Apigénine 7-O-glucoside	0.7295	2.2107	27.574	$y=39321.9x+1685.18$ (0.9993)	-
13	Acide cinnamique	0.6776	2.0533	30.234	$y=75026.0x-11276.0$ (0.9988)	0.047
14	Quercétine	1.2724	3.8560	32.008	$y=26403.4x+1558.71$ (0.9997)	0.185
15	Naringénine	1.3147	3.9840	34.939	$y=24207.0x+2212.93$ (0.9920)	-

LOD (mg/l) : Limites de détection ; LOQ (mg/l) : Limite de quantification ; RT : Temps de rétention ; R² : Coefficient de régression.

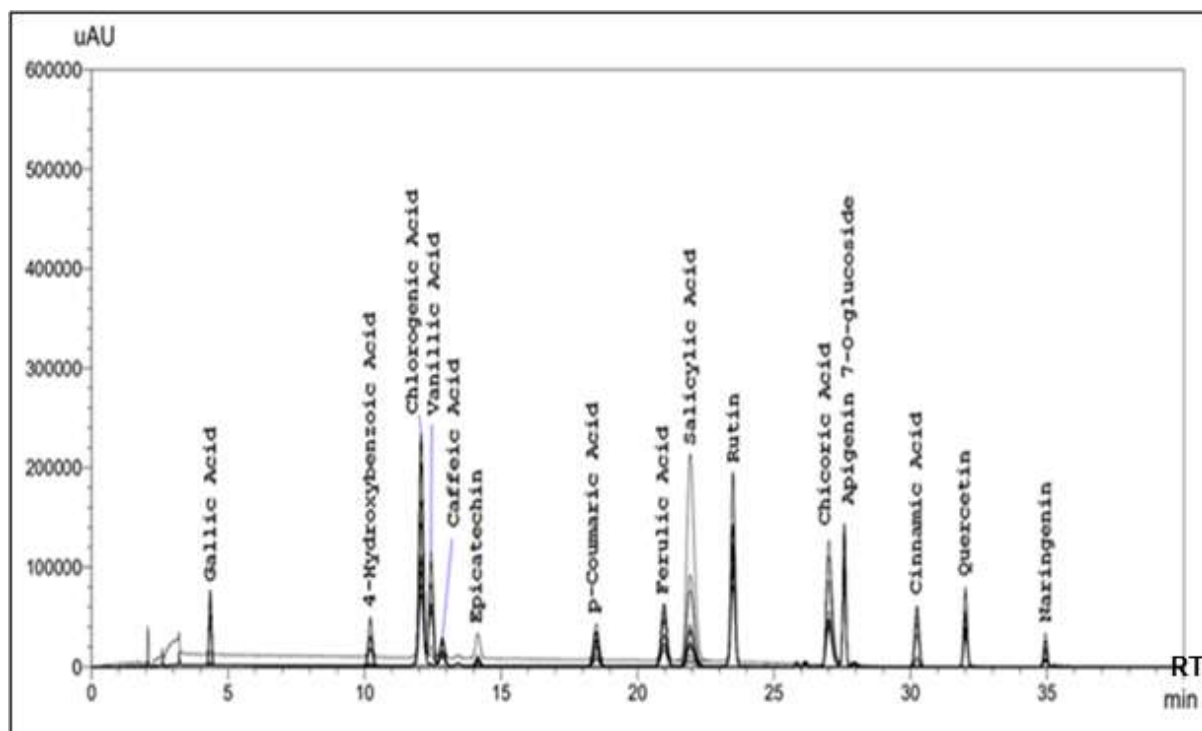


Figure 11 : Chromatogramme HPLC-PDA des composés phénoliques standards.

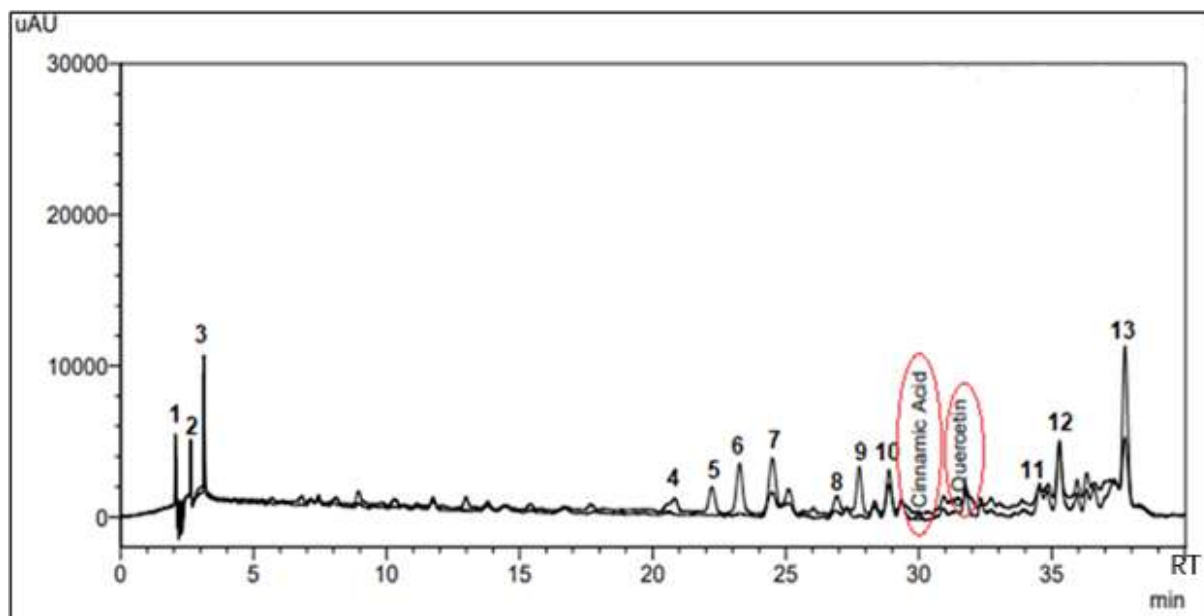


Figure 12 : Chromatogramme HPLC-PDA des composés phénoliques présents dans l'extrait d'huile d'olive étudiée.

2. Etude biologique

2.1. Effets du traitement sur la santé générale des rats

Pendant l'expérimentation, aucun décès n'a été observé dans tous les groupes étudiés. Les rats du groupe contrôle n'ont montré aucun signe de toxicité systémique.

En revanche, les rats du groupe NTO ont présenté des irritations et un gonflement au niveau des yeux.

2.2. Évaluation de la variation du poids corporel, poids absolus et relatifs des organes

Les variations des poids corporels, ainsi que des poids absolus et relatifs des foies et des reins des rats, sont présentées dans les **tableaux 14 et 15**.

L'administration de NPTiO_2 a provoqué des modifications hautement significatives ($p < 0,01$) des gains de poids corporels par rapport au groupe contrôle (25,00% de gain pour les rats du groupe contrôle et 8,11% pour les NTO).

Comparés aux NTO, les rats traités avec les NPTiO_2 et l'huile d'olive vierge ont montré une amélioration des poids corporels. Une différence hautement significative ($p < 0,01$) a été constatée dans les groupes NTO-D₁, NTO-D₃ et NTO-D₄, et une différence très hautement significative ($p < 0,001$) dans le groupe NTO-D₂.

Tableau 14 : Variation du poids corporels initiaux, finaux et gains de poids des groupes de rats.

Groupes expérimentaux	Poids corporels			
	Initiaux (g)	Finaux (g)	Gains (g)	Gains (%)
Contrôle	196,00±15,12	245,20±26,49	49,00±13,22	25,00
NTO	296,00±47,09	340,50±59,73	24,00±8,34 ^(**)	8,11
NTO-D₁	232,70±10,13	274,00±13,81	41,00±9,93 ^(bb)	17,62
NTO-D₂	210,20±11,09	275,30±22,02	65,00±16,63 ^(bbb)	30,93
NTO-D₃	257,80±20,28	301,30±19,39	44,00±13,22 ^(bb)	17,07
NTO-D₄	240,00±16,00	281,50±26,74	42,00±27,18 ^(bb)	17,50

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± S.D, n=06.

^(*) p <0,05, ^(**) p <0,01, ^(***) p <0,001 : (NTO) vs (contrôle).

^(a) p <0,05, ^(aa) p <0,01, ^(aaa) p <0,001: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle).

^(b) p <0,05, ^(bb) p <0,01, ^(bbb) p <0,001): (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO).

En ce qui concerne les foies, les poids relatifs des NTO sont inférieurs à ceux des témoins avec une différence hautement significative (p <0,01).

Pour les rats traités à l'huile d'olive, le groupe NTO-D₂ a montré un poids relatif proche de celui du contrôle alors qu'une différence très hautement significative a été notée entre les NTO et le contrôle. Des variations significatives des poids relatifs des foies des lots NTO-D₁, NTO-D₃ et NTO-D₄ ont été observées comparés aux NTO ainsi qu'au contrôle.

Quant aux poids relatifs des reins, aucune différence significative n'a été observée pour tous les groupes comparés au contrôle.

Tableau 15 : Effets du traitement sur les poids et les proportions des organes chez les groupes étudiés.

Groupes expérimentaux	Poids (g)			
	PA (Foie)	PR (Foie)	PA (Reins)	PR (Reins)
Contrôle	7,81±0,88	3,23±0,63	1,46±0,07	0,60±0,10
NTO	7,93±1,25	1,91±0,50 (**)	1,81±0,28	0,55±0,05
NTO-D ₁	7,55±0,43	2,84±0,23 (a, b)	1,58±0,16	0,57±0,08
NTO-D ₂	7,96±0,86	3,24±0,20 (bbb)	1,41±0,11	0,58±0,03
NTO-D ₃	7,75±0,75	2,58±0,28(a, b)	1,46±0,12	0,49±0,10
NTO-D ₄	7,54±1.00	2,86±0,30 (a, b)	1.42±0.22	0,56±0,08

PA : poids absolus. PR : Poids relatifs.

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± S.D, n=06.

(*) p <0,05, (**) p <0,01, (***) p <0,001 : (NTO) vs (contrôle).

(a) p <0,05, (aa) p <0,01, (aaa) p <0,001: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle).

(b) p <0,05, (bb) p <0,01, (bbb) p <0,001): (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO).

2.3. Évaluation de l'examen hématologique

2.3.1. Érythrocytes et paramètres associés

Les résultats des effets du traitement sur les paramètres érythrocytaires et les plaquettes sont présentés dans le **tableau 16**.

Les résultats montrent des altérations significatives chez les rats du groupe NTO par rapport au groupe contrôle. Une diminution significative du nombre de globules rouges et du volume globulaire moyen ($p < 0,05$) a été observée ainsi qu'une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de la concentration d'hémoglobine et du nombre de plaquettes.

En revanche, les groupes traités avec différentes doses d'huile d'olive montrent des améliorations significatives ($p < 0,05$) du nombre de globules rouges comparés aux NTO, avec des pourcentages d'amélioration différents (NTO-D₁ : ↑47,1% ; NTO-D₂ : ↑44,2% ; NTO-D₃ : ↑40,2% et NTO-D₄ : 44,80 %).

De même, la concentration d'hémoglobine a également augmenté de manière significative ($p < 0,05$) dans ces groupes (NTO-D₁, ↑36,7%), (NTO-D₂, ↑33,7%) et (NTO-D₃, ↑27,7%) par rapport au groupe NTO.

Pour le nombre de plaquettes, une élévation hautement significative ($p < 0,01$) a été constatée dans les groupes NTO-D₁ ($\uparrow 40,6\%$) et NTO-D₃ ($\uparrow 41,2\%$) et une augmentation significative ($p < 0,05$) dans le groupe NTO-D₂ ($\uparrow 30,5\%$).

Concernant le volume globulaire moyen (VGM), une réduction hautement significative ($p < 0,01$) est notée pour le groupe traité avec la dose D₂ ($\downarrow 5,2\%$), tandis qu'une diminution significative ($p < 0,05$) est relevée dans les groupes NTO-D₃ ($\downarrow 3,5\%$) et NTO-D₄ ($\downarrow 3,8\%$), comparés au groupe NTO.

Aucune différence significative n'est relevée entre le groupe témoin et les groupes traités avec l'huile d'olive.

Tableau 16 : Effets du traitement sur les paramètres érythrocytaires chez les groupes étudiés.

Groupes	Paramètres					
	GR ($\times 10^{12}/l$)	HGB (g/dl)	PLT ($\times 10^9/l$)	HCT (%)	VGM (fl)	CCMH (g/dl)
Contrôle	7,65 \pm 0,75	15,025 \pm 1,05	1126,75 \pm 127,42	33,05 \pm 10,72	50,63 \pm 1,13	38,55 \pm 1,18
NTO	5,20 \pm 1,33 (*)	10,56 \pm 2,96 (**)	713,50 \pm 192,26 (**)	34,50 \pm 5,82	52,72 \pm 2,04 (*)	37,68 \pm 1,10
NTO-D₁	7,65 \pm 0,43 (b)	14,43 \pm 1,03 (b)	1003,16 \pm 168,87 (bb)	39,17 \pm 3,03	51,10 \pm 1,16	37,92 \pm 0,83
Variation (%)	$\uparrow 47,10$	$\uparrow 36,70$	$\uparrow 40,60$	$\uparrow 13,60$	$\downarrow 3,10$	$\uparrow 0,60$
NTO-D₂	7,50 \pm 0,76 (b)	14,12 \pm 1,39 (b)	931,33 \pm 161,55 (b)	37,47 \pm 3,72	49,97 \pm 1,55 (bb)	37,67 \pm 0,85
Variation (%)	$\uparrow 44,20$	$\uparrow 33,70$	$\uparrow 30,50$	$\uparrow 8,60$	$\downarrow 5,20$	$\downarrow 0,03$
NTO-D₃	7,29 \pm 1,18 (b)	13,48 \pm 1,65 (b)	1008 \pm 175,23 (bb)	37,05 \pm 5,76	50,88 \pm 1,15 (b)	36,85 \pm 0,84
Variation (%)	$\uparrow 40,20$	$\uparrow 27,70$	$\uparrow 41,20$	$\uparrow 7,40$	$\downarrow 3,50$	$\downarrow 2,20$
NTO-D₄	7,53 \pm 0,65 (b)	13,00 \pm 0,98 (b)	875,67 \pm 151,37	38,22 \pm 3,94	50,72 \pm 0,05 (b)	36,03 \pm 0,56
Variation (%)	$\uparrow 44,80$	$\uparrow 23,10$	$\uparrow 22,70$	$\uparrow 10,80$	$\downarrow 3,80$	$\downarrow 4,40$

Les valeurs sont données sous forme de moyenne \pm S.D, n=06.

(*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

(a) $p < 0,05$, (aa) $p < 0,01$, (aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle).

(b) $p < 0,05$, (bb) $p < 0,01$, (bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO).

\uparrow augmentation et \downarrow diminution en % : variation des paramètres des groupes traités comparés au groupe NTO.

2.3.2. Leucocytes et paramètres associés

L'analyse des paramètres leucocytaires, présentée dans le **tableau 17**, révèle des différences significatives entre les groupes expérimentaux. Dans le groupe NTO, le nombre moyen de globules blancs, de lymphocytes, de monocytes et des granulocytes est relativement élevé par rapport au groupe témoin.

Les groupes traités avec NPTiO₂ et l'huile d'olive montrent une réduction hautement significative ($p < 0,01$) du nombre de globules blancs, avec une diminution de 39,1 % dans le groupe NTO-D₁, et de lymphocytes, avec une baisse de 36,2 % dans le groupe NTO-D₃, par rapport au groupe NTO. Les valeurs moyennes des paramètres étudiés sont proches de celles du groupe contrôle.

Une diminution significative ($p < 0,05$) du nombre des monocytes est observée chez le groupe NTO-D₁, avec un pourcentage de réduction de 36,9 % ; aucune différence significative n'a été observée pour les autres lots traités comparés aux NTO.

De plus, une réduction significative ($p < 0,05$) des granulocytes est notée dans les quatre groupes de rats traités avec l'huile par rapport au groupe NTO.

2.4. Evaluation des paramètres biochimiques

2.4.1. Effet du traitement sur la glycémie et le profil lipidique

Le **tableau 18** montre les résultats de la glycémie et du profil lipidique des groupes expérimentaux.

Les résultats mettent en évidence des différences significatives entre le groupe NTO et le groupe contrôle pour divers paramètres biochimiques ; une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de la glycémie à jeun et des triglycérides, ainsi qu'une diminution hautement significative ($p < 0,01$) des HDL-c, ont été observées.

De plus, une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du cholestérol total et significative ($p < 0,05$) des LDL-c sont notées dans le groupe NTO.

Des baisses non significatives de glycémies ont été notées chez les groupes traités comparés aux NTO.

Les taux de triglycérides diminuent significativement ($p < 0,05$) pour les groupes NTO-D₂, avec une baisse de 12,9% et NTO-D₃ avec une diminution de 8,8%.

Ces diminutions sont hautement significatives ($p < 0,01$) dans le groupe NTO-D₁, avec une réduction de 26,30%, et de 37,30% pour le groupe NTO-D₄, comparés au groupe NTO.

Pour les taux de cholestérol total, une diminution significative ($p < 0,05$) est observée dans le groupe NTO-D₁ avec une réduction de 25,5 % et pour le groupe NTO-D₂ avec 23,8 %. Une baisse hautement significative ($p < 0,01$) est notée pour les groupes NTO-D₃ et NTO-D₄ avec une réduction de 41,2 % et 31,9 % respectivement comparés aux NTO.

Concernant les taux des HDL-c, une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) est constatée dans les groupes NTO-D₁, NTO-D₂, NTO-D₃ et NTO-D₄ avec des hausses de 71,40 %, de 65,20 %, de 65,20 % et 52,4 %, respectivement, comparés au groupe NTO.

Quant aux taux des LDL-c, une diminution significative ($p < 0,05$) est observée pour le groupe NTO-D₁, avec une réduction de 51,6% ; hautement significative ($p < 0,01$) dans les groupes NTO-D₂ et NTO-D₃, avec une baisse de 57,3%, et 56,5%, respectivement et très hautement significative ($p < 0,001$) pour le groupe NTO-D₄ (64,2 %), comparés au groupe NTO.

Tableau 17 : Effets du traitement sur les leucocytes et leurs paramètres associés chez les groupes étudiés.

Groupes	Paramètres			
	GB ($\times 10^9/l$)	Lymphocyte ($\times 10^9/l$)	Midnocytes ($\times 10^9/l$)	Granulocyte ($\times 10^9/l$)
Contrôle	5,35±2,05	4,40±0,66	0,83±0,13	1,50±0,32
NTO	11,42±1,43 (**)	6,63±0,73 (*)	1,22±0,23 (*)	3,38±1,08 (*)
NTO-D ₁	6,96±1,17 (bb)	4,45±0,67 (b)	0,77±0,15 (b)	1,72±0,43 (b)
Variation (%)	↓39.10	↓32.90	↓36.90	↓49.10
NTO-D ₂	7,62±0,92 (b)	4,48±0,98 (b)	0,80±0,17	1,85±0,67 (b)
Variation (%)	↓33.30	↓32.40	↓34.40	↓45.30
NTO-D ₃	7,08±0,85 (b)	4,23±1,16 (bb)	0,88±0,03	1,58±0,20 (b)
Variation (%)	↓38.00	↓36.20	↓27.90	↓53.20
NTO-D ₄	7,50±0,58 (b)	4,60±0,51 (bb)	1±0,06	1,87±0,13 (b)
Variation (%)	↓34.30	↓30.60	↓18.00	↓44.70

Les valeurs sont données sous forme de moyenne \pm S.D, n=06.

(*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

(a) $p < 0,05$, (aa) $p < 0,01$, (aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle).

(b) $p < 0,05$, (bb) $p < 0,01$, (bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO).

↑ augmentation et ↓ diminution en % : variation des paramètres des groupes traités comparés au groupe NTO.

Tableau 18 : Effets du traitement sur la glycémie et les paramètres du profil lipidique chez les différents groupes.

Groupes	Paramètres				
	Glycémie (mg/l)	TG (g/l)	Cholestérol total (g/l)	HDL-c (g/l)	LDL-c (g/l)
Contrôle	78,00± 0,01	0,50 ± 0,01	0,46 ± 0,02	0,34 ± 0,05	0,33 ± 0,08
NTO	148,00 ± 0,39 (**)	0,91 ± 0,01 (**)	1,02 ± 0,02 (***)	0,21 ± 0,07 (**)	0,62 ± 0,17 (*)
NTO-D₁	102,00±0,27	0,67 ± 0,13 (bb)	0,76 ± 0,08 (b)	0,36 ± 0,03 (bb)	0,30 ± 0,02 (b)
Variation (%)	↓ 31.10	↓ 26.30	↓ 25.50	↑ 71.40	↓ 51.60
NTO-D₂	114,00 ± 0,17	0,79 ± 0,14 (b)	0,77 ± 0,13 (b)	0,35 ± 0,05 (bb)	0,26 ± 0,07 (bb)
Variation (%)	↓ 22.90	↓ 12.90	↓ 23.80	↑ 65.20	↓ 57.30
NTO-D₃	98,00 ± 0,04	0,83 ± 0,26 (b)	0,60 ± 0,08 (bb)	0,32 ± 0,04 (bb)	0,27 ± 0,10 (bb)
Variation (%)	↓ 33.80	↓ 8.80	↓ 41.20	↑ 52.40	↓ 56.50
NTO-D₄	102,00 ± 0,15	0,57 ± 0,20 (bb)	0,69 ± 0,14 (bb)	0,35 ± 0,04 (bb)	0,22 ± 0,10 (bbb)
Variation (%)	↓ 31.10	↓ 37.30	↓ 31.90	↑ 65.20	↓ 64.20

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± S.D, n=06.

(*) p <0,05, (**) p <0,01, (***) p <0,001 : (NTO) vs (contrôle).

(a) p <0,05, (aa) p <0,01, (aaa) p <0,001: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle).

(b) p <0,05, (bb) p <0,01, (bbb) p <0,001): (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO).

↑ augmentation et ↓ diminution en % : variation des paramètres des groupes traités comparés au groupe NTO.

2.4.2. Effets du traitement sur le profil rénal

Le **tableau 19** montre les résultats des paramètres biochimiques du profil rénal, notamment l'urée, l'acide urique et la créatinine, pour les groupes expérimentaux après six semaines de traitement.

Le groupe NTO a montré une augmentation très hautement significative (p < 0,001) des taux d'urée, d'acide urique et de créatinine par rapport au groupe contrôle,

Cependant, l'administration d'huile d'olive vierge aux rats exposés aux NPTiO₂ a entraîné des améliorations.

Une réduction très hautement significative ($p < 0,001$) des paramètres, précédemment cités, est observée dans les groupes traités avec l'huile d'olive par rapport au groupe NTO.

Pour le taux d'urée, une diminution de 59,7 % a été observée dans le groupe NTO-D₁, de 58,4% dans le groupe NTO-D₂, de 70,1 % dans le groupe NTO-D₃ et de 75,3 % dans le groupe NTO-D₄.

Les taux d'acide urique ont diminué de 59,3 % dans le groupe NTO-D₁, de 58,6 % dans le groupe NTO-D₂, de 62,8 % dans le groupe NTO-D₃ et de 74,8 % dans le groupe NTO-D₄, par rapport au groupe NTO.

Enfin, les taux de créatinine ont montré une réduction de 74,6 % dans le groupe NTO-D₁, de 76,9 % dans le groupe NTO-D₂, de 68,9 % dans le groupe NTO-D₃ et de 76,5 % dans le groupe NTO-D₄, par rapport au groupe NTO.

Il est important de noter que les groupes traités à l'huile d'olive ne montrent aucune différence significative par rapport au groupe contrôle.

Tableau 19 : Effets du traitement sur les paramètres du profil rénal chez les groupes expérimentaux.

Groupes	Paramètres		
	Urée (g/l)	Acide urique (g/l)	Créatinine (mg/l)
Contrôle	0,25 ± 0,01	7,38 ± 0,63	7,80 ± 1,74
NTO	0,77 ± 0,01 (***)	29,06 ± 0,78 (***)	29,10 ± 5,45 (***)
NTO-D ₁	0,31 ± 0,13 (bbb)	11,82 ± 5,28 (bbb)	7,38 ± 0,31 (bbb)
Variation (%)	↓59.70	↓59.30	↓74.60
NTO-D ₂	0,32 ± 0,25 (bbb)	12,02 ± 2,89 (bbb)	6,73 ± 1,34 (bbb)
Variation (%)	↓58.40	↓58.60	↓76.90
NTO-D ₃	0,23 ± 0,11 (bbb)	10,80 ± 7,36 (bbb)	9,05 ± 2,87 (bbb)
Variation (%)	↓70.10	↓62.80	↓68.90
NTO-D ₄	0,19 ± 0,06 (bbb)	7,32 ± 5,58 (bbb)	6,84 ± 1,54 (bbb)
Variation (%)	↓75.30	↓74.80	↓74.80

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± S.D, n=06.

(*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

(a) $p < 0,05$, (aa) $p < 0,01$, (aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle).

(b) $p < 0,05$, (bb) $p < 0,01$, (bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO).

↑ augmentation et ↓ diminution en % : variation des paramètres des groupes traités comparés au groupe NTO.

2.4.3. Effets du traitement sur le profil hépatique

Le tableau 20 présente les résultats des paramètres hépatiques, notamment la bilirubine totale, la bilirubine directe, la bilirubine indirecte, la concentration des protéines totales, ainsi que les enzymes hépatiques : Aspartate Aminotransférase (ASAT) et Alanine Aminotransférase (ALAT) chez les différents groupes de rats.

En comparaison avec le groupe contrôle, on pourrait déduire que les NPTiO₂ ont été à l'origine de perturbations des biomarqueurs hépatiques. Les rats du groupe NTO ont montré une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) des taux de bilirubine directe, des protéines totales et de l'activité de l'ALAT et une hausse hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité de l'ASAT comparés aux témoins.

Cependant, l'administration de l'huile d'olive aux groupes NTO-D₁, NTO-D₂, NTO-D₃ et NTO-D₄ a entraîné une amélioration significative des marqueurs hépatiques par rapport au groupe NTO.

La bilirubine totale a diminué de 34,7% dans le groupe NTO-D₁ et de 33,3% dans le groupe NTO-D₂. En revanche, une légère augmentation, non significative, a été notée dans les groupes NTO-D₃ et NTO-D₄, avec des hausses respectives de 4,0 % et 9,2 % comparés aux NTO.

La bilirubine directe a été réduite de manière significative dans le groupe NTO-D₁ (34,7%, $p < 0,05$) et pour le groupe NTO-D₂ (37,1 %) par rapport au groupe NTO, tandis que les variations observées dans les groupes NTO-D₃ et NTO-D₄ restent non significatives.

Comparé au témoin, le groupe NTO a présenté une élévation hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité de l'ASAT et une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de l'ALAT et de la concentration des protéines totales.

L'administration d'huile d'olive aux groupes NTO-D₁ à NTO-D₄ a permis une amélioration notable des paramètres étudiés par rapport au groupe NTO.

On observe des baisses significatives, pour l'ALAT, l'ASAT et très hautement significative pour les protéines totales avec des taux de réduction 39,60 % et 51.40% et 9.50 respectivement chez les NTO-D₁.

Pour le groupe NTO-D₂, les baisses sont hautement significatives pour l'ASAT et les protéines totales et significatives pour l'ALAT avec des taux de réduction de 49,8 ; 8,8 et 46,10% respectivement.

Concernant le NTO-D₃, les diminutions sont hautement significatives, très hautement significatives et significatives pour l'ASAT, l'ALAT et les protéines totales avec des taux de réduction de 64.90, 63.30 et 8.20 % respectivement.

Quant à la dose NTO-D₄, les réductions sont significatives, non significatives et très hautement significatives pour l'ASAT, l'ALAT et les protéines totales respectivement.

On remarque également pour ces groupes une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) des protéines totales comparées à celles du contrôle.

Tableau 20 : Effets du traitement sur les paramètres du profil hépatique chez les groupes expérimentaux.

Groupe	Paramètres					
	Bil. T (mg/l)	Bil. D (mg/l)	Bil. Ind (mg/l)	ASAT (UI/l)	ALAT (UI/l)	Prot. T (g/l)
Contrôle	4,08±0,17	1,70±0,89	2.38±0,37	93,45±7,87	60,75±19,00	45,98±1,36
NTO	5.19 ± 1.31	4,24±1,44 (***)	0.99 ± 0,59	220,90 ± 40,24(**)	189,40 ± 18,30(***)	73,30 ± 2,74(***)
NTO-D₁	3,39 ± 1,46	2,78±1,01 ^(b)	0,61 ± 0,59	133,40 ± 54,43 ^(b)	91,97 ± 26,40 ^(b)	66,32 ± 3,54 ^(aaa, bb)
Variation (%)	↓ 34,70	↓ 34,40	↓ 38,40	↓ 39,60	↓ 51,40	↓ 9,50
NTO-D₂	3.46 ± 1,40	2,67±1,41 ^(b)	0,79 ± 0,69	112,30 ± 73,44 ^(bb)	102,10 ± 23,97 ^(b)	66,86 ± 1,74 ^(aaa, bb)
Variation (%)	↓ 33,30	↓ 37,02	↓ 20,20	↓ 49,20	↓ 46,10	↓ 8,80
NTO-D₃	5,40 ± 3,07	4,38 ± 1,40	1,79± 0,51	77,51 ± 67,48 ^(bb)	69,44 ± 33,88 ^(bbb)	67,30 ± 0,97 ^(aaa, b)
Variation (%)	↑ 4,05	↑ 3,30	↑ 81,10	↓ 64,90	↓ 63,30	↓ 8,20
NTO-D₄	5,67 ± 0,75	4,08 ± 0,74	1,58± 0,14	125,40 ± 10,30 ^(b)	116,70 ± 69,29	64,83 ± 3,45 ^(aaa, bbb)
Variation (%)	↑ 9,25	↓ 3,80	↑ 59,90	↓ 43,20	↓ 38,40	↓ 11,60

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± S.D, n=06.

(*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

^(a) $p < 0,05$, ^(aa) $p < 0,01$, ^(aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle).

^(b) $p < 0,05$, ^(bb) $p < 0,01$, ^(bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO).

↑ augmentation et ↓ diminution en % : variation des paramètres des groupes traités comparés au groupe NTO.

2.5. Etude des paramètres du stress oxydant

Les paramètres du stress oxydant (protéines totales, MDA, GSH, GPx, catalase et GST) ont été analysés dans les organes (foies et reins) des rats traités et témoins.

2.5.1. Protéines totales

La **figure 13** montre les taux des protéines totales dans les organes des rats au niveau hépatique, on observe une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) dans le groupe (NTO), tandis qu'au niveau rénal, cette augmentation est non significative par rapport au groupe contrôle.

Concernant la supplémentation avec l'huile d'olive, on observe une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) au niveau hépatique dans les groupes (NTO-D₁, NTO-D₃, et NTO-D₄) et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) dans le groupe (NTO-D₂) par rapport au groupe (NTO). Au niveau rénal, seule une amélioration significative du taux des protéines totales ($p < 0,05$) est observée dans le groupe (NTO-D₁) par rapport au groupe NTO. En revanche, comparé au groupe contrôle, une diminution hautement significative ($p < 0,01$) est notée dans le groupe (NTO-D₁), tandis qu'une diminution significative ($p < 0,05$) est observée dans les groupes (NTO-D₃ et NTO-D₄).

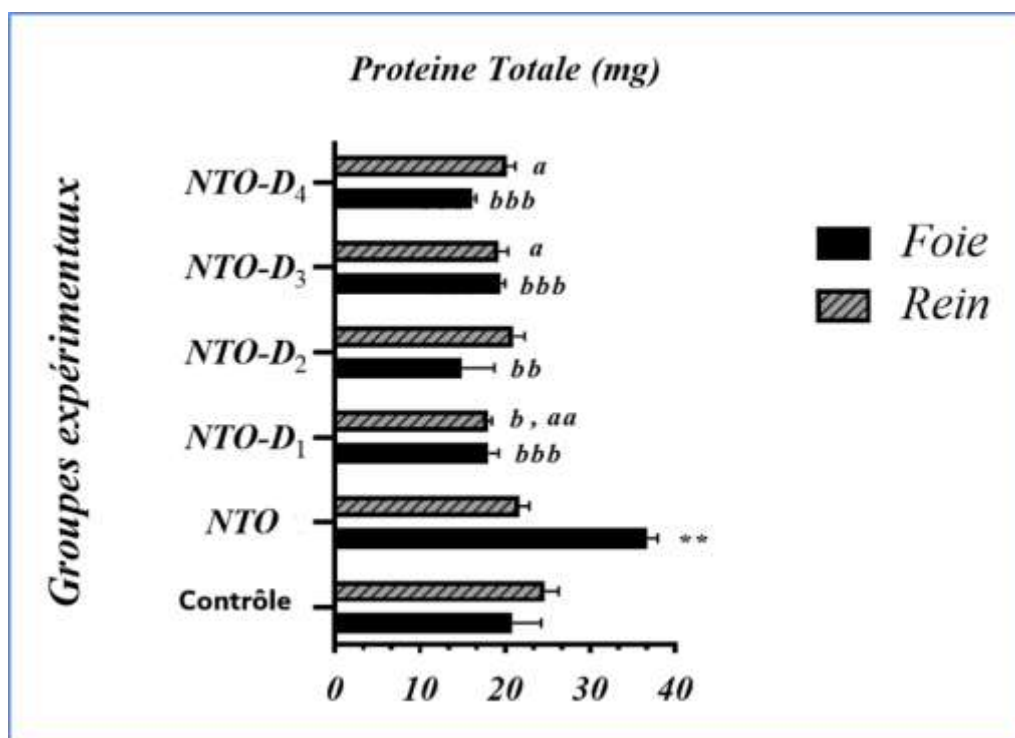


Figure 13 : Histogramme de la variation des taux des protéines totales dans les foies et les reins des rats des groupes étudiés. (a) $p < 0,05$, (aa) $p < 0,01$, (aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle). (b) $p < 0,05$, (bb) $p < 0,01$ (bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO). (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

2.5.2. Malondialdéhyde (MDA)

La **figure 14** présente les résultats de l'analyse du MDA. Le stress oxydatif induit par les NPTiO₂ a été associé à une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) des taux de malondialdéhyde dans les foies et les reins du groupe (NTO), par rapport au groupe contrôle.

Les rats des groupes traités avec l'huile d'olive ont montré une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) des taux de MDA dans les foies, comparativement au groupe (NTO). De plus, les groupes ayant reçu les doses (D₁, D₂ et D₄) ont également présenté une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) des taux de MDA dans les foies, en comparaison avec le groupe contrôle. L'huile d'olive vierge semble aussi avoir un effet positif dans les reins qui se traduit par une diminution hautement significative ($p < 0,01$) des taux de MDA pour les doses (D₁, D₂ et D₄), et très hautement significative ($p < 0,001$) pour la dose (D₃). Des différences par rapport au groupe contrôle ont également été notées, avec une élévation hautement significative ($p < 0,01$) pour le groupe (NTO-D₁) et significative ($p < 0,05$) pour le groupe (NTO-D₂).

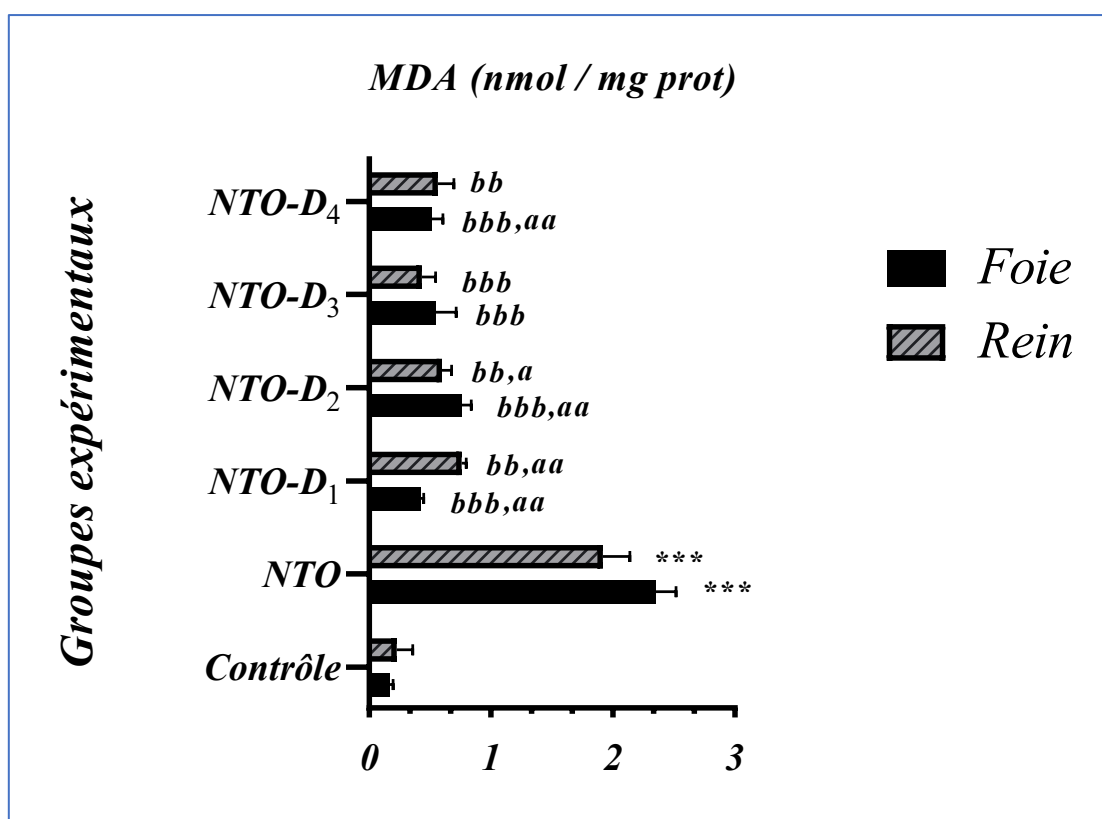


Figure 14 : Histogramme de la Variation des taux de MDA dans les foies et les reins des rats.

(^a) $p < 0,05$, (^{aa}) $p < 0,01$, (^{aaa}) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle). (^b) $p < 0,05$, (^{bb}) $p < 0,01$ (^{bbb}) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO). (^{*}) $p < 0,05$, (^{**}) $p < 0,01$, (^{***}) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

2.5.3. Glutathion réduit (GSH)

La variation de GSH est montrée sur la **figure 15**, l'injection des rats avec les NPTiO₂ a entraîné une diminution significative ($p < 0,05$) des taux de GSH dans les foies et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) dans les reins, comparativement au groupe contrôle.

Dans les foies des rats traités avec l'huile d'olive, on observe une amélioration des taux de GSH, avec une différence hautement significative ($p < 0,01$) pour les doses D₁ et D₃ et significative ($p < 0,05$) pour la dose D₄ par rapport au groupe (NTO).

Dans les reins, seul le groupe (NTO-D₄) montre une amélioration des taux de GSH avec une différence significative ($p < 0,05$) par rapport au groupe (NTO). En revanche, les doses D₁ et D₂ présentent une différence hautement significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe contrôle.

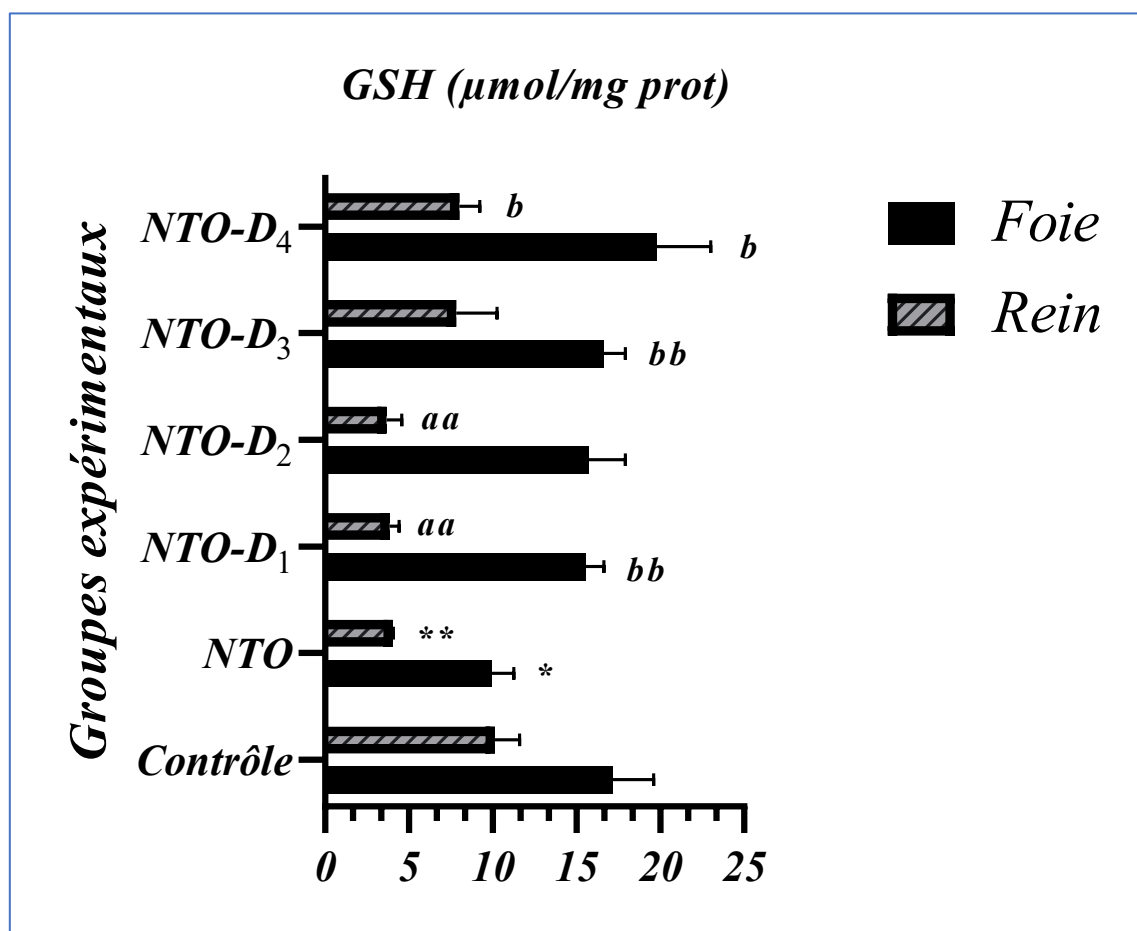


Figure 15 : Histogramme de la variation des taux de GSH dans le foie et les reins des rats des différents groupes expérimentaux. (a) $p < 0,05$, (aa) $p < 0,01$, (aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle). (b) $p < 0,05$, (bb) $p < 0,01$, (bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO). (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

2.5.4. Glutathion peroxydase (GSH-Px)

Les résultats de l'analyse de l'activité GSH-Px sont présentés dans la **figure 16**. On constate que les NPTiO₂ ont provoqué une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) dans les foies et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) des niveaux de GSH-Px dans les reins par rapport au groupe contrôle.

Dans les organes des rats traités avec de l'huile d'olive, on observe une augmentation de l'activité enzymatique de la GSH-Px. Cette augmentation est très hautement significative ($p < 0,001$) pour les doses D₁, D₃, et D₄, tandis que la dose D₂ montre une différence hautement significative ($p < 0,01$) dans les foies, en comparaison avec le groupe (NTO).

Comparativement au groupe contrôle, on note une différence hautement significative ($p < 0,01$) des niveaux de GSH-Px dans les foies des rats des groupes (NTO-D₁ et NTO-D₂), et une différence très hautement significative ($p < 0,001$) dans les groupes (NTO-D₃ et NTO-D₄). Dans les reins, une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) est observée pour tous les groupes traités à l'huile d'olive.

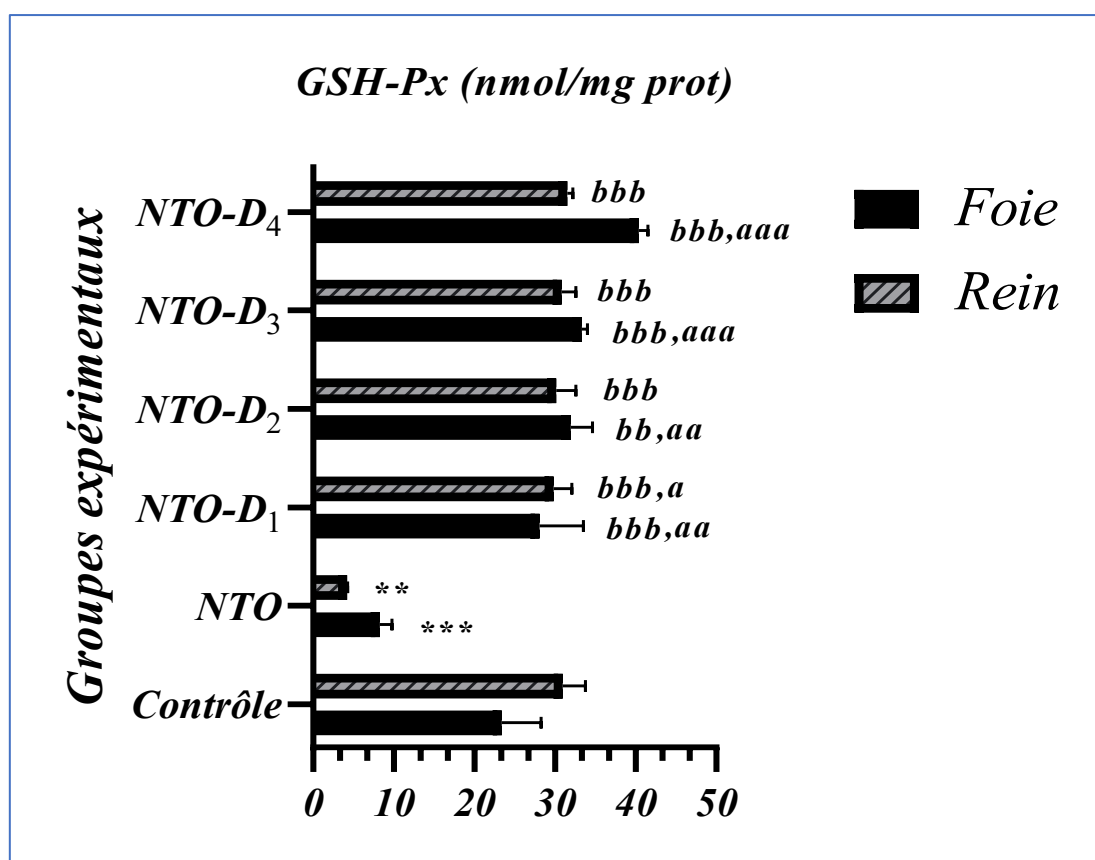


Figure 16 : Histogramme de la variation de l'activité enzymatique de la GSH-Px dans le foie et les reins des rats des différents groupes expérimentaux. ^(a) $p < 0,05$, ^(aa) $p < 0,01$, ^(aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle). ^(b) $p < 0,05$, ^(bb) $p < 0,01$, ^(bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO). ^(*) $p < 0,05$, ^(**) $p < 0,01$, ^(***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

2.5.5. Catalase (CAT)

La **figure 17** présente les résultats de l'analyse de l'activité de la catalase dans les foies et les reins. Une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité de la catalase est observée dans les foies, ainsi qu'une diminution hautement significative ($p < 0,01$) dans les reins des rats du groupe (NTO) comparativement au groupe contrôle.

Dans les groupes traités avec l'huile d'olive, une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la catalase est observée dans les foies des rats (NTO-D₁ et NTO-D₄), tandis que les deux autres doses ne montrent pas de différences significatives.

Une différence significative ($p < 0,05$) est également constatée dans les reins des rats traités avec les doses D₁, D₃, et D₄, avec une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) pour la dose D₂ par rapport au groupe (NTO). Aucune différence n'a été observée entre les groupes traités avec l'huile d'olive et le groupe contrôle.

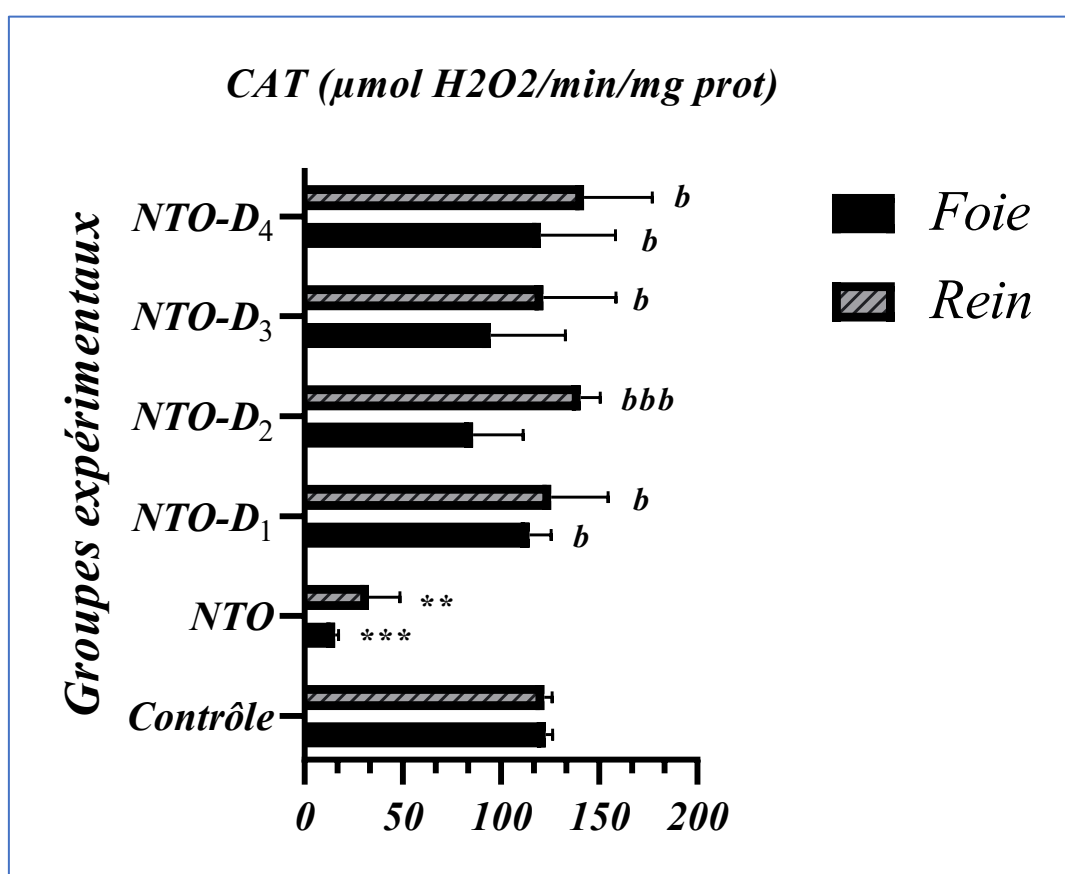


Figure 17 : Histogramme de la variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le foie et les reins des rats des différents groupes expérimentaux. ^(a) $p < 0,05$, ^(aa) $p < 0,01$, ^(aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle). ^(b) $p < 0,05$, ^(bb) $p < 0,01$ ^(bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO). ^(*) $p < 0,05$, ^(**) $p < 0,01$, ^(***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

2.5.6. Glutathion S-transférase (GST)

L'analyse de l'activité enzymatique de la GST est illustrée dans la **figure 18**. On observe une diminution hautement significative ($p < 0,01$) des niveaux de GST dans les organes des rats exposés aux NPTiO_2 par rapport au groupe contrôle.

Cependant, une amélioration positive est enregistrée chez les rats supplémentés en huile d'olive. Cette amélioration se traduit par une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité de la GST dans les foies des rats (NTO-D₁ et NTO-D₂) et de manière significative ($p < 0,05$) dans le groupe des rats (NTO-D₄) par rapport au groupe (NTO).

En ce qui concerne les reins, une augmentation hautement significative de l'activité de la GST ($p < 0,01$) est observée chez les groupes (NTO-D₁ et NTO-D₃) et de manière significative ($p < 0,05$) pour les groupes (NTO-D₂ et NTO-D₄) par rapport au groupe (NTO). Aucune différence significative n'est observée entre les groupes traités avec l'huile d'olive et le groupe contrôle.

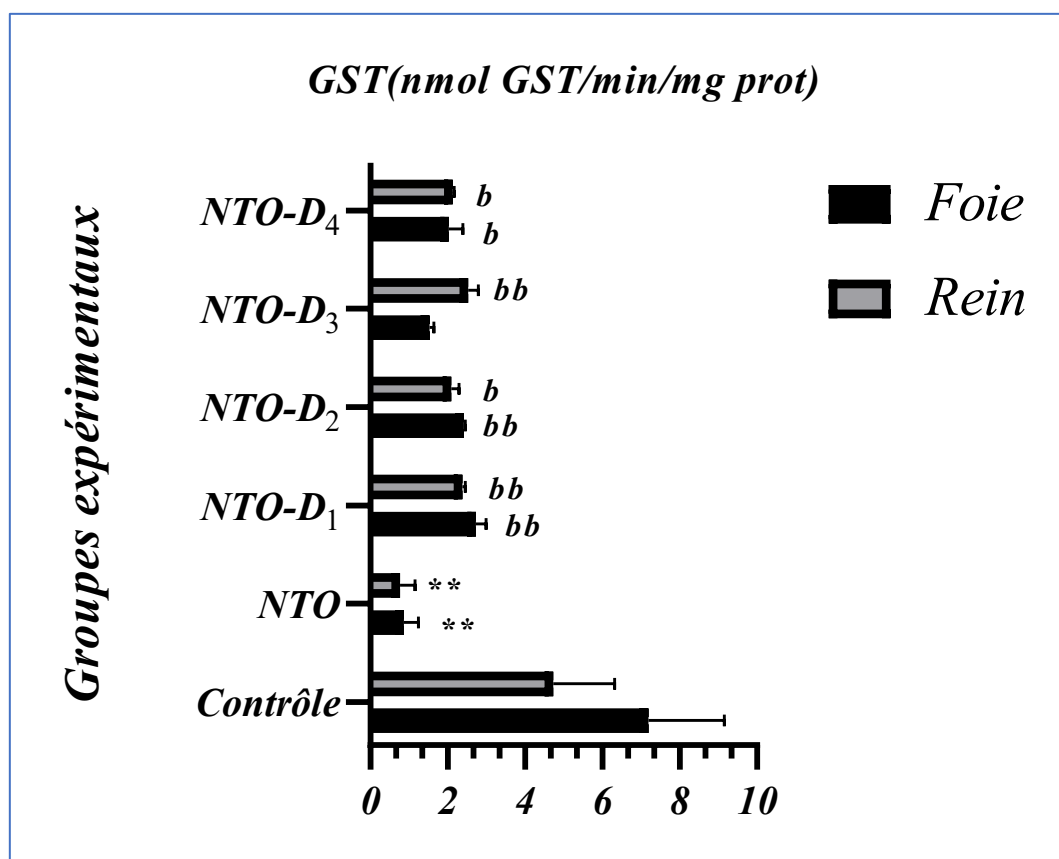


Figure 18 : Histogramme de la variation de l'activité enzymatique de la GST dans le foie et les reins des rats des différents groupes expérimentaux. (a) $p < 0,05$, (aa) $p < 0,01$, (aaa) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (contrôle). (b) $p < 0,05$, (bb) $p < 0,01$, (bbb) $p < 0,001$: (NTO-D₁-D₂-D₃-D₄) vs (NTO). (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$: (NTO) vs (contrôle).

2.6. Etude histologiques

Les résultats de l'analyse histopathologique des tissus hépatiques et rénaux a été réalisée, et les résultats sont présentés dans la **figure 19** pour les foies et la **figure 20** pour les reins.

2.6.1. Effet du traitement sur les tissus hépatiques

Les tissus hépatiques des rats du groupe contrôle présente une architecture normale avec un schéma lobulaire hexagonal caractéristique, et aucun dommage tissulaire n'a été observé (**figure 19-A**).

En revanche, les foies des rats du groupe (NTO) ont montré des dommages histopathologiques caractérisés par la dilatation des sinus hépatiques (**figure 19-B**). Les rats du groupe (NTO-D₁) ont présenté des changements réparateurs, et leur tissu hépatique a montré une récupération notable sous forme d'hépatocytes normaux (**figure 19-C**).

De plus, l'histomorphologie des tissus hépatiques des rats du groupe (NTO-D₂) était proche de la normale (**figure 19-D**).

L'observation microscopique des foies des rats du groupe (NTO-D₃) et (NTO-D₄) révèle une modification cellulaire bien visible, se traduisant par une amélioration des sinusoides avec un rétablissement des dégénérescences hépatocellulaires (**figures 19-E et 19-F**).

2.6.2. Effet du traitement sur les tissus rénaux

Les observations histologiques des tissus rénaux du groupe contrôle ont révélé une structure normale du cortex (partie externe) et de la médulla (partie interne) du rein (**figure 20-A**). En revanche, les rats du groupe (NTO) ont présenté des anomalies dans l'agencement cellulaire des cellules rénales, caractérisées par des zones étendues d'hémorragie et la formation de dépôts (**figure 20-B**).

Les groupes NTO-D₁ et NTO-D₂ montrent des améliorations histologiques dans le cortex et la médulla rénaux par rapport au groupe NTO. La morphologie rénale normale est restaurée, avec une réduction de la dégénérescence et de la congestion des tubules rénaux (**figure 20-C et 20-D**).

Les tissus rénaux des rats du groupe (NTO-D₃) et (NTO-D₄) présentent une réduction de ces changements histologiques par rapport au groupe (NTO), les glomérules et les tubules semblent être en voie de régénération (**figure 20-E et 20-F**).

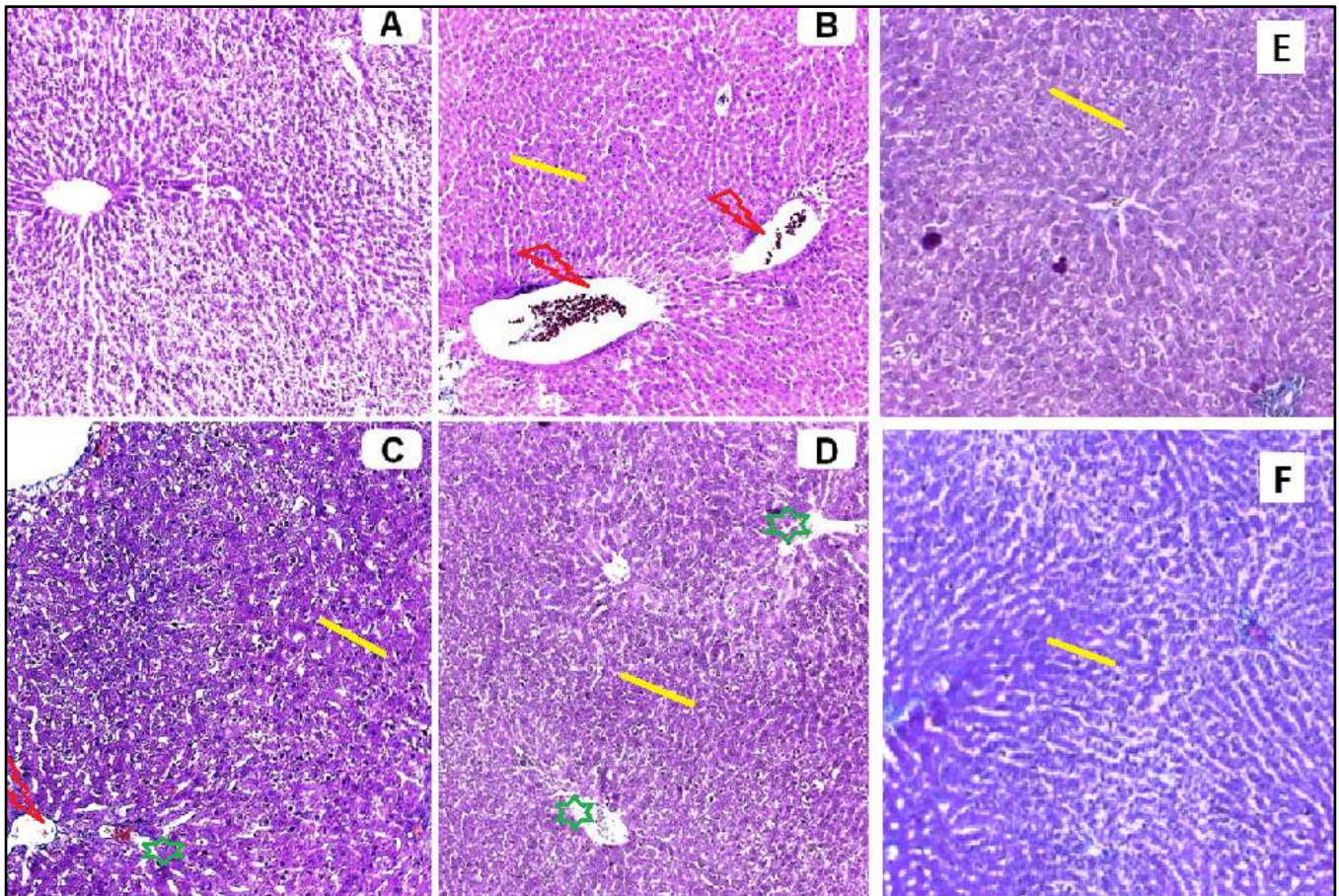


Figure 19 : Coupes histologiques du foie observés au microscope optique ($\times 400$). (A) : Le groupe contrôle, (B) : Le groupe (NTO), (C) : Le groupe (NTO-D₁), (D) : Le groupe (NTO-D₂), (E) : Le groupe (NTO-D₄), (F) : Le roupe (NTO-D₄).

- **Flèches jaunes** : Une architecture normale des hépatocytes.
- **Flèches rouges** : Des veines centrales dilatées et congestionnées.
- **Étoiles vertes** : Des zones de récupération histologique (veines centrales).

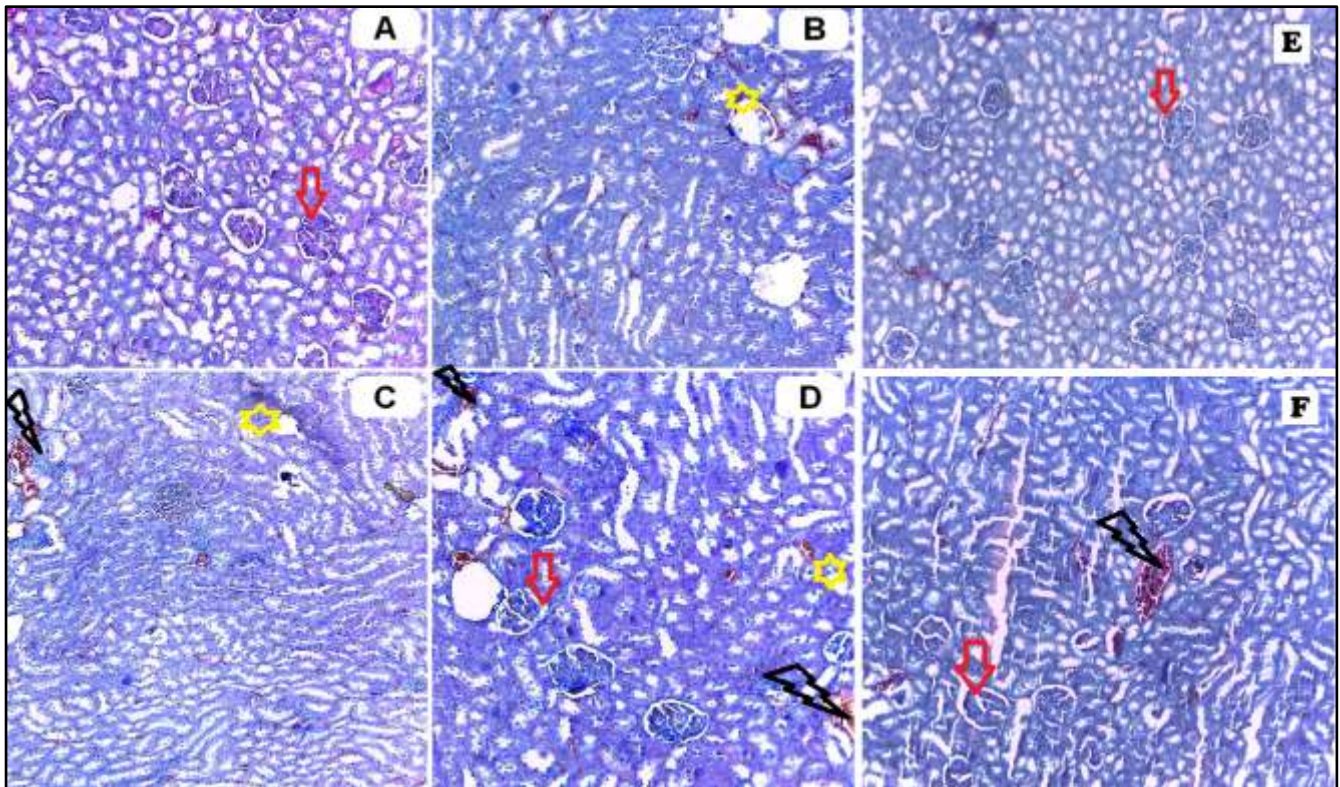


Figure 20 : Coupes histologiques des reins observés au microscope optique ($\times 400$). (A) : Le groupe contrôle, (B) : Le groupe (NTO), (C) : Le groupe (NTO-D₁), (D) : Le groupe (NTO-D₂), (E) : Le groupe (NTO-D₄), (F) : Le roupe (NTO-D₄).

- **Flèches rouges** : Des glomérules et tubules normaux.
- **Etoiles jaunes** : Une congestion des vaisseaux.
- **Flèches noires** : Régénération des glomérules et réduction des dommages.

| Discussion

Discussion

La variété d'olivier sélectionnée pour cette étude présente tous les caractères morphologiques de la « Rougette de Mitidja » établis dans le catalogue des variétés algériennes d'olivier (ITAFV, 2023).

La teneur en huile des olives revêt une importance majeure dans l'industrie oléicole, fournissant des informations essentielles pour évaluer le rendement potentiel en huile des olives cultivées. Cette teneur en huile varie en fonction de la variété, de la date de récolte et du lieu de culture (Essiari *et al.*, 2014).

La teneur en huile obtenue est de 9,6%, par rapport à la matière fraîche ; cette valeur est inférieure aux valeurs obtenues pour cette variété dans le nord du pays (entre 18% et 20%). Cela pourrait être dû au climat chaud et sec des régions du sud.

Cette valeur est également inférieure à celle obtenue pour des variétés algériennes étudiées par Benrachou *et al.* (2010) et pour des variétés marocaines étudiées par Essiari *et al.* (2014).

Les paramètres physicochimiques de l'huile d'olive évaluent sa qualité et sa composition. Parmi ces paramètres, l'acidité est un critère de classification des huiles d'olive et un indicateur clé de la qualité commerciale de l'huile. Elle permet aussi de détecter l'altération de la matière grasse due à l'activité de la lipase, ainsi que d'apprécier la fraîcheur des fruits, la durée de stockage et la stabilité de l'huile (COI, 2011).

Les résultats obtenus montrent que l'huile d'olive étudiée est classée dans la catégorie des huiles d'olives vierges dont l'acidité libre est inférieure ou égale à 2 %, selon les normes du COI (2019). Cette valeur est inférieure au résultat de Boulfane *et al.* (2015) pour des échantillons du Maroc, ayant une acidité comprise entre 2,17 % et 3,29 %.

Par contre, les travaux de Sadok *et al.* (2018), ont révélé que 36 variétés de la Wilaya de Bejaia avaient une acidité allant de 0,20 % à 0,80 % d'acide oléique, des valeurs nettement inférieures à celles observées dans notre étude. De plus, nos résultats sont supérieurs à ceux observés pour des variétés de l'Est de l'Algérie (0,8 %) (Benaziza et Semad, 2016) ainsi que ceux du Sud de la Tunisie (0,9 % et 1 %) (Nakbi *et al.*, 2010).

Les résultats de mesure de l'extinction spécifique montrent $K_{232} = 0.05$ et $K_{270} = 0.03$, des valeurs faibles selon Mordret *et al.* (2012), indiquant une faible formation de produits d'oxydation dans l'huile d'olive.

Le paramètre K_{232} est associé aux produits d'oxydation primaires, comme les hydroperoxydes, tandis que K_{270} est lié aux produits d'oxydation secondaires, tels que les aldéhydes et les cétones. Ainsi, des valeurs basses de ces deux paramètres suggèrent une bonne qualité et fraîcheur de l'huile.

L'étude de **Benaziza et Semad, (2016)**, a signalé des valeurs plus élevées pour la même variétés ($K_{232} = 1,02$ et $K_{270} = 0,07$) dans la région de Loutaya, Biskra. De même, pour la variété Chemlal originaire du Sud de la Tunisie, **Faghim et al. (2018)** ont obtenu des valeurs nettement supérieures ($K_{232} = 4,3$ et $K_{270} = 0,4$).

Nos résultats montrent que l'échantillon respecte les normes établies par le **COI (2019)** pour l'huile d'olive vierge, avec un indice de peroxyde 5,4 mEq O_2 /kg inférieur ou égal à 20 mEq O_2 /kg. Cette valeur est comparable à celles rapportées par **Benaziza et Semad, (2016)**, qui ont observé des indices de peroxyde variant de 5,42 à 7,63 mEq O_2 /kg pour des variétés cultivées dans la région aride de Loutaya (Biskra).

D'autre part, cette valeur est proche de celles rapportées par **El-Gharbi et al. (2018)**, pour des huiles d'olive tunisiennes du sud de Sfax, qui varient entre 6,6 et 11,5 mEq O_2 /kg. Elle est aussi inférieure à celles observées par **Torres et Maestri, (2006)** pour des variétés cultivées en Argentine dans une zone semi-aride.

L'indice de saponification mesuré pour l'huile d'olive étudiée est de 185,13 mg KOH/g d'huile, ce qui est conforme aux limites fixées par la norme du **COI, (2019)** pour l'huile d'olive vierge, indiquant une teneur modérée en acides gras à longue chaîne. Un indice élevé suggère une proportion plus importante d'acides gras à chaîne courte et moyenne (**Codex, 2021**).

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Derradj et al. (2015)** et **Djedioui et al. (2018)**, qui ont trouvé respectivement 191,95 mg KOH/g d'huile pour des variétés cultivées dans la Wilaya de Guelma et 189,99 mg KOH/g d'huile pour des variétés produites dans la Wilaya de Skikda, à l'est de l'Algérie. »

La teneur en humidité de l'huile est de 0,19%. Cette valeur se situe dans les normes acceptables **COI (2019)**. Indiquant un risque limité d'hydrolyse des triglycérides. En effet, l'eau peut accélérer les réactions d'altération (**Aïssi et al., 2009**).

La teneur en phosphatides de cette huile est de 0,83 %, ce qui est conforme aux limites recommandées par les normes **COI (2019)**. Une concentration plus élevée en phosphatides peut affecter négativement la qualité gustative de l'huile, en lui donnant un goût désagréable.

De plus, les phosphatides ont tendance à être associés à des métaux tels que le fer et le cuivre, qui peuvent agir comme catalyseurs d'oxydation, entraînant une acidification de l'huile d'olive **(Ryan et Robards, 1998)**.

L'analyse des composants mineurs dans l'huile d'olive vise à identifier les molécules qui affectent sa qualité nutritionnelle et ses propriétés antioxydantes. Parmi ces composants, les composés phénoliques jouent un rôle crucial dans l'évaluation de la qualité des huiles.

En tant qu'antioxydants puissants, ils contribuent au maintien de la pression artérielle normale et protègent les lipides sanguins contre les dommages oxydatifs. Ils renforcent également le système de défense de l'organisme contre les maladies cardiovasculaires, le cancer et les processus inflammatoires liés au stress oxydatif **(Scalbert et al., 2005)**.

L'évaluation des composés phénoliques dans l'huile d'olive étudiée révèle des quantités significatives, en accord avec les résultats de **Boulfane et al. (2015)**, qui observent des valeurs comprises entre 182,83 et 514,93 mg EAG/kg.

Cette valeur est supérieure à celles observées pour différentes variétés algériennes du Nord, qui se situent entre 115 et 420 mg EAG/kg **(Laincer et al., 2014)**. De plus, elle dépasse celle rapportée par **Merouane et al. (2014)**, pour la variété Chemlal du Nord-Ouest algérien, qui est de 167,29 mg EAG/kg d'extrait.

L'analyse des pigments de l'huile d'olive vierge montre des teneurs moyennes en caroténoïdes et en chlorophylles qui sont respectivement 8,50 ppm et 9,60 ppm. Ces valeurs pourraient être liées au stade de maturité des olives au moment de l'échantillonnage tardif, comme le suggère **Sadok et al. (2018)**.

Nos résultats sont supérieurs à ceux de **Dabbou et al. (2010)**, qui indiquaient une teneur de caroténoïdes de 6,58 ppm. En ce qui concerne les chlorophylles, notre analyse révèle une teneur élevée, dépassant les valeurs enregistrées pour la variété Chemlali d'origine tunisienne **(Lazzez et al., 2006)**.

Les flavonoïdes, composés polyphénoliques abondants dans les végétaux et les fruits, jouent un rôle important dans la stabilité à l'oxydation des huiles d'olive vierges, tout en offrant des propriétés nutritionnelles et organoleptiques remarquables **(Ollivier et al., 2004)**.

La teneur en flavonoïdes a été mesurée à 60 mg EQ/kg, valeur très élevée comparée à celles rapportées pour certaines variétés cultivées en algérie. Par exemple, **Khelifi et al. (2019)** ont mesuré 2,5 mg EQ/kg pour une variété importée « Koroneiki ». De plus, **Ilyasoglu et al. (2010)** ont rapporté des teneurs allant de 0,8 à 2,8 mg EQ/kg pour des variétés turques.

L'analyse de l'activité antioxydante de l'huile d'olive a été effectuée à l'aide du test DPPH, qui permet d'évaluer la capacité de neutralisation des radicaux libres. Les résultats obtenus indiquent que l'huile présente une activité inhibitrice notable, avec une concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) évaluée à 14,49 µg/ml. Cette valeur est inférieure à celle observée par **Merouane et al. (2014)** pour la variété Chemlal dans le nord-ouest de l'Algérie, où l'IC₅₀ est de 25,38 µg/ml. La valeur obtenue est aussi inférieure à celles rapportées pour des variétés italiennes, allant de 91 et 160 µg/ml (**Vincenzo, 2017**).

En revanche, la valeur obtenue est supérieure à celle obtenue pour certaines variétés de l'Est algérien, rapportée par **Metlef et al. (2017)**, qui a enregistré une IC₅₀ de 5,75 µg/ml. Cette capacité antioxydante peut être expliquée par la richesse en composés phénoliques et en antioxydants présents dans l'huile d'olive, comme le souligne **Finicelli et al. (2021)**.

L'analyse HPLC de l'huile d'olive étudiée met en évidence la présence de plusieurs composés phénoliques, tels que l'acide cinnamique (0,047 mg/l) et la quercétine (0,189 mg/l). Bien que les concentrations restent faibles, la présence de quercétine suggère une certaine capacité antioxydante de l'huile, susceptible de contribuer à l'atténuation du stress oxydatif.

Ces résultats sont comparables avec ceux obtenus par **Dierkes et al. (2012)** qui ont rapporté des concentrations de quercétine autour de 0,2 mg/l et d'acide cinnamique proches de 0,05 mg/l pour l'huile d'olive vierge. **Boussahel et al. (2020)**, ont également rapporté des concentrations d'acide cinnamique autour de 0,147 mg/l dans des huiles d'olive algériennes. Par contre, les résultats obtenus sont inférieurs à ceux rapportés par **Zhu et al. (2023)**, qui ont trouvé une concentration de quercétine de 20 mg/l dans leur huile.

En ce qui concerne l'étude biologique, le traitement des rats par les NPTiO₂ montre des variations de poids corporels et des organes. Il pourrait être dû à l'effet toxique de ces nanoparticules. En effet, **Wang et al. (2018)** ont confirmé l'existence d'un lien entre les modifications des poids corporels ou des organes et la toxicité des nanoparticules.

L'analyse de la numération de la formule sanguine (FNS) révèle des différences significatives entre les groupes étudiés. Le groupe NTO présente une diminution significative du nombre de globules rouges. Une baisse hautement significative de la concentration en hémoglobine et du nombre de plaquettes est également observée. Une légère augmentation du volume globulaire moyen est notée.

Parallèlement, une augmentation significative du nombre moyen de globules blancs et de lymphocytes est notée par rapport au groupe contrôle.

L'étude de **Vasantharaja et al. (2015)**, portant sur l'impact potentiel des NPTiO₂ sur la coagulation sanguine, suggère des dommages graves au système hématopoïétique. Ceci pourrait être liée à une stimulation du système de peroxydation lipidique par les NPTiO₂, favorisant la production de MDA et contribuant à l'hémolyse des globules rouges (**Kolanjiappan et al., 2003**).

Nam et al. (2020), indiquent que la diminution en question pourrait affecter la teneur en oxygène dans le sang, réduisant le métabolisme et affaiblissant la réponse immunitaire.

Les effets des nanoparticules sur les systèmes immunitaire et hématologique ont été largement étudiés. Des études, comme celle de **Xu et al. (2013)**, ont montré que le traitement des rats avec des NPTiO₂ produit des résultats similaires aux nôtres.

Bien que les taux de HCT et CCMH ne montrent pas de variations significatives entre les groupes traités et le groupe NTO, une diminution significative du VGM est observée. Une étude sur des rats exposés au mercure, induisant un stress oxydatif, a révélé une diminution significative du VGM, tandis que les taux de CCMH et TGMH restaient similaires au groupe témoin (**Necib et al., 2014**).

Une autre étude a montré que les NPTiO₂ induisent une génotoxicité au niveau des leucocytes, entraînant une élévation de leur nombre par activation du système immunitaire (**Grissa et al., 2015**).

Ces résultats concordent avec ceux de l'étude de **Rezaei et al. (2019)**, qui a montré que les NPTiO₂ provoquent des changements significatifs, notamment une élévation des globules blancs. Ils sont également en accord avec les travaux d'autres chercheurs, qui ont observé que l'injection intrapéritonéale de NPTiO₂ entraîne des variations substantielles de divers paramètres hématologiques chez les rats (**Vasantharaja et al., 2015**).

En revanche, tous les groupes traités par les NPTiO₂ + huile d'olive présentent des améliorations notables, en particulier une amélioration significative des paramètres hématologiques précédemment mentionnés.

La dose D₁ a montré le meilleur effet sur les globules rouges (↑47,10 %), l'hémoglobine (↑40,60 %) et les globules blancs (↓39,10 %), tandis que la dose D₃ a eu le meilleur effet sur les plaquettes (↑41,20 %) et les lymphocytes (↓36,20%), par rapport au groupe NTO.

Ces améliorations pourraient être dues à une augmentation des enzymes antioxydantes, réduisant le stress oxydatif au niveau de la moelle osseuse et de la rate (**Casas *et al.*, 2018**).

Ces constatations sont similaires aux résultats rapportés par **Fathy *et al.* (2018)**, où l'huile d'olive a montré des effets bénéfiques sur les paramètres hématologiques chez des rats soumis à un stress oxydatif induit par le doxorubicine et les γ -radiations.

Toutes ces observations montrent que l'huile d'olive vierge pourrait améliorer les paramètres hématologiques affectés par le stress oxydatif induit par les nanoparticules, en particulier les NPTiO₂.

L'analyse des résultats montre que les NPTiO₂ ont induit une augmentation hautement significative de la glycémie par rapport au groupe contrôle. Cette observation suggère que les NPTiO₂ pourraient affecter les cellules pancréatiques, provoquant ainsi les altérations métaboliques (**Mohammadparast et Mallard, 2023**). De même, une élévation de la glycémie a été observée dans le groupe des souris traitées avec les NPTiO₂, comme rapporté par **Hu *et al.* (2015)**. Ces auteurs ont confirmé que cette augmentation est liée à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), entraînant une résistance à l'insuline.

Quant au profil lipidique, les résultats montrent que le traitement par les NPTiO₂ a induit des perturbations, notamment des élévations : hautement significative des triglycérides, très hautement significative du cholestérol total et significative des LDL-c, accompagnées d'une diminution hautement significative du HDL-c, par rapport au groupe contrôle.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **He (2016)**, qui a montré que les nanoparticules modulent le profil lipidique, entraînant des taux élevés de cholestérol sérique, de triglycérides et de LDL-c.

Selon **Bruckdorfer (1995)**, l'accroissement des radicaux libres notamment les peroxydes, résultant de l'action des NPTiO₂, engendre une oxydation préférentielle des HDL par rapport aux LDL.

Pour le profil rénal, les résultats ont montré que les NPTiO₂ induisent une élévation très hautement significative de la créatinine, l'urée et de l'acide urique. L'urée et la créatinine sont des indicateurs pertinents pour évaluer la fonction rénale (**Brosnan et Brosnan, 2010**).

Une élévation du taux d'urée sérique peut suggérer une altération de l'excrétion rénale, signalant une éventuelle néphrotoxicité (**Adeyemi et Elebiyo, 2012**).

Johnson et al. (2021) suggèrent que l'administration de nanoparticules induit un dysfonctionnement rénal, probablement dû à une dégradation significative des bases puriques des acides nucléiques (ADN et ARN). Ces auteurs indiquent aussi que le taux élevé d'acide urique circulant peut refléter l'efficacité de la défense cellulaire contre les effets néfastes des radicaux libres. Les résultats obtenus concordent avec ceux de **Wang et al. (2007)**, qui ont montré que des taux élevés d'urée et de créatinine dans le sérum des souris exposées aux NPTiO₂ sont associés à un dysfonctionnement rénal.

Les résultats de l'analyse du profil hépatique montrent que les NPTiO₂ entraînent une élévation des enzymes hépatiques dans le sérum, avec une augmentation hautement significative de l'ASAT et très hautement significative de l'ALAT. On observe également une augmentation de la bilirubine totale, une augmentation très hautement significative de la bilirubine directe, ainsi qu'une diminution de la bilirubine indirecte, par rapport au groupe contrôle.

Selon **Oberdörster et al. (2005)**, ces nanoparticules peuvent s'accumuler dans le foie, entraînant des lésions hépatiques, ce qui se manifeste par des variations des enzymes marqueurs hépatiques (ALAT et ASAT). **Wang et al. (2007)**, ont trouvé, chez des souris, des résultats similaires liés à des dommages hépatiques causés par l'exposition aux NPTiO₂.

Selon **Adeyemi et Elebiyo, (2012)**, l'altération des taux sériques de bilirubine peut indiquer un stress hépatique induit par les nanoparticules. Cette augmentation peut être due à une hémolyse accrue des globules rouges, associée à une diminution de leur nombre dans cette étude.

Les quatre groupes de rats traités avec des doses croissantes d'huile d'olive vierge ont montré une amélioration significative des paramètres biochimiques comparés au groupe NTO.

Des effets bénéfiques sur la glycémie ont été observés. La dose D₃ a montré la plus grande réduction de la glycémie, la rapprochant de celle du groupe contrôle (↓33,80 % Vs NTO). Les antioxydants présents dans l'huile d'olive vierge peuvent jouer un rôle protecteur pour les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. **Rossi et al. (2017)**, ont montré que l'huile d'olive peut atténuer les effets néfastes des NPTiO₂ sur les cellules.

L'huile d'olive vierge améliore également le contrôle glycémique chez les rats exposés aux NPTiO₂. Les acides gras monoinsaturés qu'elle contient sont associés à une meilleure sensibilité à l'insuline, comme rapporté par **Mazzocchi et al. (2019)**.

Concernant le profil lipidique, la dose D₄ a montré le meilleur effet en termes de réduction des triglycérides (37,30 %) et des LDL-c (64,20 %). Pour le cholestérol total, la réduction la plus importante a été observée avec la dose D₃ (41,20 %), tandis que la dose D₁ a induit la meilleure amélioration du HDL-c avec une augmentation de 71,40 %, par rapport aux NTO.

Pour le profil rénal, la dose D₄ a induit une réduction significative des taux d'urée et d'acide urique, avec des diminutions respectives de 75,30 % et 74,80 %. La baisse la plus importante de la créatinine a été observée avec la dose D₂, atteignant un pourcentage de 76,90 % par rapport au groupe NTO.

En ce qui concerne le profil hépatique, la dose D₁ a induit la meilleure réduction de la bilirubine totale (34,70 %). La dose D₂ a entraîné la diminution la plus marquée de la bilirubine directe (37,00 %). Pour la bilirubine indirecte ainsi que pour les enzymes hépatiques ASAT et ALAT, la dose D₃ a montré les réductions les plus significatives, avec des pourcentages respectifs de 81,10 %, 64,90 % et 63,30 %. Enfin, la dose D₄ a permis la meilleure réduction des protéines totales, avec une baisse de 11,60 %, par rapport au groupe NTO.

Covas *et al.* (2006) ont montré que la consommation de l'huile d'olive vierge exerce des effets bénéfiques, notamment en réduisant le stress oxydatif, en limitant l'oxydation des lipoprotéines et en augmentant les taux de HDL.

Selon **Owen *et al.* (2000)**, la capacité antioxydante de l'huile d'olive vierge a été confirmée par des études *in vitro* et *in vivo*, qui ont montré des propriétés antioxydantes dépassant même celles de la vitamine E.

Lammi *et al.* (2020), ont rapporté que les extraits d'huile d'olive vierge possèdent des propriétés hypocholestérolémiantes.

Nous avons constaté que l'administration de l'huile d'olive a atténué l'effet néphrotoxique des NPTiO₂ chez les rats. La réduction de la concentration d'urée sérique indique une moindre dégradation des acides aminés par le foie. D'autre part, la diminution du taux de créatinine sérique suggère une amélioration de la filtration glomérulaire (**Adeyemi et Elebiyo, 2012**).

Ces résultats concordent avec d'autres études, comme celle de **Necib *et al.* (2013)** et celle **Wani *et al.* (2018)**, qui ont rapporté une réduction de la néphrotoxicité induite par les nanoparticules.

Concernant les résultats obtenus pour l'analyse du profil hépatique, nous avons remarqué une amélioration des paramètres (protéines totales et activités des ASAT et ALAT) après

traitement à l'huile d'olive en comparaison avec le groupe NTO ; ceci pourrait être associé à une diminution de la toxicité provoquée par les nanoparticules.

Ces observations sont en accord avec les travaux de **Mohammadian *et al.* (2018)**, qui ont montré que l'administration d'huile d'olive vierge réduisait de manière significative de l'activité des ASAT et ALAT chez des souris avec un stress oxydatif induit par l'arsenic.

Nos résultats concordent aussi avec ceux de **Al-Seeni *et al.* (2016)**. Ils ont constaté qu'une administration quotidienne d'huile d'olive pendant 30 jours chez des rats soumis à un stress induit par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) entraînait une diminution significative de l'activité des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT, ALP) et de la bilirubine totale par rapport aux rats témoins.

Bulotta *et al.* (2014) ont montré que l'huile d'olive vierge contient des composés phénoliques agissant comme des antioxydants naturels ; ceci explique l'amélioration que nous avons observée. L'huile d'olive vierge, riche en composés polyphénoliques, est reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et hépatoprotectrices. Parmi ces composés, l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol agissent en piégeant les radicaux libres et en chélatant les métaux lourds (**Bashandy *et al.*, 2014**).

La peroxydation lipidique constitue un processus autocatalytique, initié par les radicaux libres, au cours duquel les acides gras polyinsaturés présents dans les membranes cellulaires subissent une dégradation, conduisant à la formation d'hydroperoxydes lipidiques.

Nos résultats montrent que les NPTiO₂ induisent une augmentation significative de la peroxydation lipidique dans les foies et les reins, comme en témoigne la quantité élevée de MDA par rapport au groupe NTO.

Cette augmentation peut être attribuée à l'accumulation des nanoparticules dans les tissus. **Rajamani, (2011)** a observé que les NPTiO₂ s'accumulent dans le foie et les reins, entraînant la génération de radicaux libres et une peroxydation lipidique chez les rats *Wistar*.

En ce qui concerne les marqueurs du statut antioxydant, le glutathion (GSH), un antioxydant non enzymatique, a significativement diminué dans les organes des rats du groupe NTO par rapport au groupe témoin. Cette diminution reflète une perturbation de l'équilibre redox et une réduction de la capacité à neutraliser les espèces radicalaires, contribuant ainsi à l'augmentation du stress oxydant dans ce groupe.

Cette diminution s'explique par le rôle du glutathion dans le piégeage des radicaux libres et sa consommation accrue (**Matuz-Mares *et al.*, 2021**).

De plus, le GSH sert de substrat aux enzymes glutathion peroxydase et GST, essentielles pour la neutralisation des ERO (**Forman *et al.*, 2009**).

Shukla *et al.* (2014) ont montré que l'exposition aux NPTiO₂ peut augmenter la génération des ERO, accroître les taux de MDA et réduire les taux de GSH chez les souris.

Les résultats obtenus révèlent que l'exposition aux NPTiO₂ entraîne une diminution des activités des enzymes : GST, GSH-Px et catalase. **Ighodaro et Akinloye (2018)** ont signalé que ces enzymes sont essentielles pour neutraliser les ERO et prévenir les dommages liés au stress oxydatif. **Nadjarzadeh *et al.* (2014)** ont également signalé que la faible activité de ces enzymes pourrait accroître la sensibilité aux dommages cellulaires causés par les radicaux libres.

Certains auteurs ont suggéré que ces nanoparticules s'accumulent dans le foie et les reins, provoquant une génération accrue des ERO, une peroxydation lipidique et une réduction des taux de protéines et des activités des enzymes antioxydantes, dont GSH-Px et catalase. (**Rajamani, 2011 ; Abbasi *et al.*, 2019**).

Cependant, l'administration d'huile d'olive vierge a conduit à une amélioration significative des paramètres antioxydants dans les organes : le MDA, le GSH, la catalase, la glutathion peroxydase et la GST, montrant ainsi un effet antioxydant de cette huile.

Cependant, il est important de noter que l'huile d'olive n'a pas d'effet négatif lorsqu'elle est consommée par des sujets en bonne santé ; en effet, **Vissers *et al.* (2001)** ont montré que la consommation d'huile d'olive extra-vierge n'affectait pas la peroxydation des lipides plasmatiques chez des individus sains.

D'autres études, comme celles de **Oliveras-López *et al.* (2014)** et de **Amamou *et al.* (2015)**, ont montré que l'huile d'olive pourrait avoir la capacité de diminuer la peroxydation lipidique dans des conditions de stress oxydatif en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes dans les tissus.

Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de **Shakra *et al.* (2019)**, qui ont montré que l'huile d'olive a corrigé les paramètres du stress oxydatif hépatique et rénal chez des rats soumis à un stress oxydatif induit par les nanoparticules d'oxyde de fer (NPOF) ; ces effets peuvent être attribués à sa richesse en antioxydants (**Mihailovic *et al.*, 2021**).

L'analyse histopathologique a confirmé les dommages de stress oxydant sur les tissus hépatiques et rénaux induit par les NPTiO₂. Ce résultat concorde avec celui de **Verma *et al.* (2021)**, qui ont observé des changements similaires dans les tissus hépatiques et rénaux après l'administration de nanoparticules d'oxyde de fer (NPOF) ; ces changements incluaient une congestion de la veine centrale et une infiltration de cellules mononucléées.

De plus, l'examen histopathologique des reins a montré une altération de l'architecture cellulaire chez le groupe NTO. Ces résultats sont similaires à ceux de **Abd-Eltawab Tammam *et al.* (2022)** qui ont observé des cellules tubulaires rénales dégénérées chez des rats exposés aux nanoparticules ; ils ont aussi noté une perturbation de l'architecture cellulaire, avec des zones importantes d'hémorragie et de formation de caillots.

Les résultats histopathologiques montrent que l'administration de cette huile d'olive vierge, à différentes doses, a réduit les dommages causés par les NPTiO₂ aux foies et aux reins. Ceci est lié à sa richesse en flavonoïdes et composés phénoliques qui a non seulement préservé les fonctions hépatiques et rénales, mais a aussi diminué la plupart des altérations dégénératives.

D'après **Aniya *et al.* (2005)**, les antioxydants et les médicaments dérivés de plantes sont efficaces pour atténuer les toxicités hépatiques et rénales induites par le stress oxydatif.



Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Cette étude a été initiée dans le but essentiel de concevoir de nouvelles approches thérapeutiques contre le stress oxydatif induit par les nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂), en exploitant les bienfaits d'un extrait d'huile d'olive vierge monovariétale issue de la variété "Rougette de Mitidja".

Cette étude poursuit deux objectifs principaux : d'une part, caractériser les propriétés physico-chimiques et la composition en antioxydants de l'huile d'olive ; d'autre part, évaluer les effets d'une administration orale quotidienne d'un extrait d'huile d'olive à différentes doses, afin de déterminer si une huile produite dans le Sud présente les mêmes effets que celle issue du Nord, tout en identifiant la dose la plus efficace pour atténuer les effets néfastes du stress oxydatif.

Les principales conclusions de cette étude sont les suivantes :

- L'acidité libre mesurée, étant un paramètre clé pour la classification des huiles d'olive selon le COI, classe notre huile dans la catégorie des huiles d'olive vierges courantes. Ces résultats soulignent l'importance de maîtriser les bonnes pratiques oléicoles, depuis la récolte jusqu'au conditionnement et au stockage, afin de préserver les qualités commerciales de l'huile.
- Concernant les autres caractéristiques physicochimiques, les valeurs obtenues respectent les normes établies par le COI et le CODEX.
- En ce qui concerne les composés mineurs, les résultats ont révélé une richesse en caroténoïdes, chlorophylles, flavonoïdes et polyphénols, notamment en acide cinnamique et en quercétine. Cette composition en antioxydants a conféré à l'huile une activité antioxydante élevée, avec une IC₅₀ de 14,49 µg/ml et un pourcentage d'inhibition de 87,7 %.

En ce qui concerne l'activité antioxydante *in vivo*, les résultats ont montré que :

- L'administration des nanoparticules de dioxyde de titane (NPTiO₂) à une dose de 40 mg/kg p.c. a induit un stress oxydatif chez les rats, entraînant des altérations biochimiques, hématologiques ainsi que des perturbations des enzymes antioxydantes dans le foie et les reins.

➤ Le traitement quotidien des rats avec cette huile d'olive vierge à doses croissantes a montré que les quatre doses utilisées ont exercé des effets positifs sur la réduction du stress oxydatif :

- **La dose D₁** s'est révélée la plus efficace pour améliorer les paramètres immunitaires avec une augmentation significative du nombre de globules rouges (47,10 %), une élévation de la concentration d'hémoglobine (36,70 %) et une diminution notable du nombre de globules blancs (39,10 %). Une augmentation notable des HDL-c (71,40 %) a également été observée, par rapport au groupe NTO.
- **La dose D₂** a produit les effets les plus marqués sur la créatinine (↓76,90 %) et la bilirubine directe (↓37,00 %), comparé au groupe NTO.
- **La dose D₃** a montré une réduction marquée de la glycémie (33,80 %), du cholestérol total (41,20 %) ainsi que des activités enzymatiques ASAT (64,90 %) et ALAT (63,30%). Elle a également induit une augmentation significative des niveaux de bilirubine indirecte (81,10%), soulignant ainsi son efficacité dans la protection hépatique.
- **La dose D₄** a donné le meilleur effet sur le profil lipidique, avec une réduction importante des LDL-c (64,20 %) et des triglycérides (37,30 %). Par ailleurs, une diminution des protéines totales (↓11,6 %) et des paramètres rénaux, urée (75,30%) et acide urique (74,80%), a été constatée, suggérant un effet bénéfique de cette dose sur la fonction rénale.

Ces résultats montrent un effet dose-dépendant marqué, chaque dose s'est avérée efficace dans l'amélioration de certains paramètres sériques.

➤ Une analyse détaillée des paramètres de stress oxydatif dans les foies et les reins a révélé que la dose optimale varie selon le paramètre mesuré :

- **Dans le foie**, la dose D₁ a induit une diminution significative du MDA, témoignant d'une réduction de la peroxydation lipidique, avec une augmentation de l'activité de la GST, ce qui renforce la réponse antioxydante. La dose D₄ s'est révélée la plus efficace pour accroître les taux de GSH ainsi que l'activité de la GSH-Px et de la catalase, soulignant une protection antioxydante renforcée.

- **Dans les reins**, les effets observés en fonction de la dose, seules les doses D₁ et D₄ ont montré une protection antioxydante significative selon les paramètres évalués.

On pourrait déduire que l'administration régulière de cette huile d'olive, riche en composés antioxydants tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques, a permis une amélioration notable des divers paramètres biochimiques analysés. Elle a exercé un effet protecteur significatif contre les dommages oxydatifs dans les tissus hépatiques et rénaux, atténuant les effets délétères induits par les NPTiO₂. Cela s'est traduit par une réduction de la peroxydation lipidique, une augmentation de la concentration de glutathion réduit (GSH) et une amélioration de l'activité des enzymes antioxydantes (GSH-Px, GST, CAT).

Ces résultats préliminaires, semblent être acceptables et prometteurs quant à l'effet antioxydant de cette huile, mettent en lumière son intérêt potentiel dans la prévention des maladies liées au stress oxydatif, notamment pour une huile produite dans le Sud.

Dans la continuité de cette étude, nous suggérons les perspectives suivantes :

- Étendre ce type de recherche à d'autres variétés d'oliviers récemment introduites dans le Sud, telles que Chemlal, Sigoïse, Picual, Ferkani, Manzanilla, Frantoio, Abani et Tablout.
- Évaluer la qualité de ces huiles au moyen d'analyses détaillées de leur composition biochimique, notamment en acides gras, triglycérides, antioxydants, stérols, dialcools triterpéniques et stérols totaux, tout en procédant à une analyse complète des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques, recommandés par le conseil oléicole international.
- En complément de l'effet antioxydant, il serait pertinent d'explorer d'autres effets bénéfiques des huiles issues des variétés d'oliviers introduites dans le Sud, tels que leurs effets anti-inflammatoires, antidiabétiques et anticancéreux.
- Par ailleurs, essayer également des études cliniques, en complément des études biologiques sur les animaux, afin d'évaluer les effets à long terme de la consommation d'huile d'olive vierge sur la santé humaine. Ces études pourraient aboutir à l'élaboration de recommandations nutritionnelles précises sur les doses à consommer ou à l'intégration d'antioxydants naturels, présents dans l'huile d'olive et dans notre alimentation pour promouvoir la santé et prévenir diverses pathologies.

Enfin, l'objectif final de ce type d'étude est de produire des huiles de qualité, conformes aux normes internationales (COI et CODEX), et répondant aux attentes des consommateurs. Cela

nécessite la maîtrise des bonnes pratiques agricoles, en particulier dans le Sud où les conditions climatiques sont souvent défavorables.

Ces dernières années, l'extension de diverses variétés d'oliviers dans ces régions a été significative. Il serait donc intéressant d'obtenir des huiles de haute qualité (extra vierge) et d'obtenir des appellations d'origine telles que AOC (Appellation d'Origine Contrôlée) ou IGP (Indication Géographique Protégée) pour ces régions, critères essentiels dans le commerce international des huiles d'olive.



Références Bibliographiques



Références bibliographiques

- Abbasi, E., Mirzaei, F., & Pourjafar, M. (2019). NLRP3 inflammasome, oxidative stress, and apoptosis induced in the intestine and liver of rats treated with titanium dioxide nanoparticles: In vivo and in vitro study. *International Journal of Nanomedicine*, *14*, 1919–1936. <https://doi.org/10.2147/IJN.S192382>
- Abd-Eltawab Tammam, A., Khalaf, A. A., Zaki, A., Mansour Khalifa, M., Ibrahim, M., Mekkawy, A., Abdelrahman, R., Farghali, A., & Noshay, P. (2022). Hesperidin protects rats' liver and kidney from oxidative damage and physiological disruption induced by nickel oxide nanoparticles. *Frontiers in Physiology*, *13*, 912625. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.912625>
- Adeyemi, O. S., & ig, T. C. (2014). Moringa oleifera supplemented diets prevented nickel-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Journal of Nutrition and Metabolism*, *2014*, 958621. <https://doi.org/10.1155/2014/958621>.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, *105*, 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
- Aillon, K. L., Xie, Y., El-Gendy, N., Berkland, C. J., & Forrest, M. L. (2009). Effects of nanomaterial physicochemical properties on *in vivo* toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *61*(6), 457–466. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.03.010>
- Aïssi, M., Mohamed, S., Tchobo, F. P., & Kiki, D. (2009). Etude comparative de la qualité des huiles végétales alimentaires raffinées en usage au Bénin. *Bulletin d'Informations de la Société Ouest Africaine de Chimie*, *(6)*, 25–37.
- Al-Seeni, M. N., El Rabey, H. A., Zamzami, M. A., & Alnefayee, A. M. (2016). The hepatoprotective activity of olive oil and *Nigella sativa* oil against CCl₄-induced hepatotoxicity in male rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *16*(1), 438. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1422-4>.
- Amamou, F., Nemmiche, S., Meziane, R. K., Didi, A., Yazit, S. M., & Chabane-Sari, D. (2015). Protective effect of olive oil and colocynth oil against cadmium-induced oxidative stress in the liver of Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, *78*, 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.01.001>.
- Angiosperm Phylogeny Group. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *181*(1), 1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Aniya, Y., Koyama, T., Miyagi, C., Miyahira, M., Inomata, C., Kinoshita, S., & Ichiba, T. (2005). Free radical scavenging and hepatoprotective actions of the medicinal herb, *Crassocephalum crepidioides* from the Okinawa Islands. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *28*(1), 19–23. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.19>.
- Argenson, C., Régis, S., Jourdain, J.-M., & Vaysse, P. (1999). *L'olivier* (avec le concours de C. Agogue, H. Hoaro, & J.-M. Duriez). Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (CTIFL). Paris : CTIFL.
- Baldoni, L., Tosti, N., Ricciolini, C., Belaj, A., Arcioni, S., Pannelli, G., Germana, M. A., Mulas, M., & Porceddu, A. (2006). Genetic structure of wild and cultivated olives in the central Mediterranean Basin. *Annals of Botany*, *98*(5), 935–942. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl178>
- Bashandy, M. A., Abd El-Rasheid, H. G., Hasan, H. F., & Fathy, A. H. (2014). Protective and therapeutic effects of olive oil and *Ficus carica* as natural antioxidants on some biochemical parameters in liver of γ -irradiated male albino rats. *Al-Azhar Bulletin of Science*, *25*(1), 1–16. <https://doi.org/10.21608/absb.2014.25184>

- Beghè, D., Ferrarini, A., Ganino, T., & Fabbri, A. (2011). Molecular characterization and identification of a group of local *Olea europaea* L. varieties. *Tree Genetics & Genomes*, 7(6), 1185–1198. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0405-3>
- Ben Ayed, R., Ben Hassen, H., Ennouri, K., & Rebai, A. (2016). Genetic markers analyses and bioinformatic approaches to distinguish between olive tree (*Olea europaea* L.) cultivars. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 8(4), 366–373. <https://doi.org/10.1007/s12539-016-0155-x>
- Benaziza, A., & Semad, D. (2016). Oleiculture : Caractérisation de six variétés d'olives introduites dans le sud-est algérien. *European Scientific Journal, ESJ*, 12(33). <https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n33p537>
- Benrachou, N., Henchiri, C., & Djeghaba, Z. J. S. (2010). Caractérisation de trois huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. *Revue des Sciences et Technologie*, 22, 12–22.
- Benzohra, I. (2017). Integrated management of Bayoud disease on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* in Algeria. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*, 14, 93–100.
- Bertelli, M., Kiani, A. K., Paolacci, S., Manara, E., Kurti, D., Dhuli, K., Bianchi, L., Santoro, F., & Michelini, S. (2020). Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *Journal of Biotechnology*, 309, 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.12.016>
- Besnard, G., Baradat, P., & Bervillé, A. (2001). Genetic relationships in the olive (*Olea europaea* L.) reflect multilocal selection of cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 251–258. <https://doi.org/10.1007/s001220051642>
- Bhattacharya, K., Davoren, M., Boertz, J., Schins, R. P. F., Hoffmann, E., & Dopp, E. (2009). Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress and DNA-adduct formation but not DNA-breakage in human lung cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 6(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-6-17>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Boukhari, R., Ameer Ameer, A., Innal, H., & Gaouar, S. B. S. (2020). First morphological characterization of autochthonous olive (*Olea europaea* L.) denominations from central and eastern Algeria. *Acta Agriculturae Slovenica*, 116(2), 311–325. <https://doi.org/10.14720/aas.2020.116.2.1923>
- Boukhezna, B. (2008). *Contribution à l'étude de l'oléiculture dans les zones arides : Cas de l'exploitation de Dhaouia (Wilaya d'El-Oued)* [Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah-Ouargla].
- Boulfane, S., Maata, N., Anouar, A., & Hilali, S. (2015). Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8022. <https://doi.org/10.4314/jab.v87i1.5>
- Boussahel, S., Di Stefano, V., Muscarà, C., Cristani, M., & Melilli, M. (2020). Phenolic Compounds Characterization and Antioxidant Properties of Monocultivar Olive Oils from Northeast Algeria. *Agriculture*, 10, 494. <https://doi.org/10.3390/agriculture10110494>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E. (2010). Creatine metabolism and the urea cycle. *Molecular Genetics and Metabolism*, 100(S49-S52). <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2010.02.020>
- Bruckdorfer, K. R. (1995). Oxidized lipoproteins. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 9(4), 721–737. [https://doi.org/10.1016/S0950-351X\(95\)80097-2](https://doi.org/10.1016/S0950-351X(95)80097-2)

- Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302–310. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6)
- Bulotta, S., Celano, M., Lepore, S. M., Montalcini, T., Pujia, A., & Russo, D. (2014). Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: Focus on protection against cardiovascular diseases and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(8), 13318-13333. <https://doi.org/10.3390/ijms150813318>
- Casalino, E., Calzaretti, G., Sblano, C., & Landriscina, C. (2002). Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. *Toxicology*, 179(1-2), 37-50. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(02\)00245-7](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(02)00245-7)
- Casas, R., Estruch, R., & Sacanella, E. (2018). The protective effects of extra virgin olive oil on immune-mediated inflammatory responses. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 18(1), 23-35. <https://doi.org/10.2174/1871530317666171114115632>
- Catania, P., Vallone, M., Farid, A., & De Pasquale, C. (2016). Effect of O2 control and monitoring on the nutraceutical properties of extra virgin olive oils. *Journal of Food Engineering*, 169, 179-188. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.009>
- Codex. (2021). *Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires comité du Codex sur les graisses et les huiles (CX/FO 24/28/11)*.
- COI. (1997). *Conseil Oléicole International. Méthodologie pour la caractérisation primaire des variétés d'olives, projet RESGEN-CT (67/97), EU/IOC*.
- COI. (1997). *Conseil Oléicole International. Methodology for primary characterization of olive varieties, project*. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV).
- COI. (2003). *Conseil Oléicole International*. Récupéré de <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods/>
- COI. (2011). *Guide pour la détermination des caractéristiques des olives à huile*.
- COI. (2015). *Norme commerciale applicable à l'huile d'olive et à l'huile de grignons d'olive (COI/T.15/NC n°2/Rev.10)*.
- COI. (2017). *Les données du COI pour la campagne oléicole 2017/18*. Récupéré de <https://www.internationaloliveoil.org/1051-les-donnees-du-coi-pour-la-campagne-oleicole-2017-18>
- COI. (2018). *Analyse sensorielle de l'huile d'olive*. Récupéré de : <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/COI-T20-Doc.-15-REV-10-2018-Fr.pdf>
- COI. (2019). *Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive (COI/T.15/NC n°3/Rev.14)*. Récupéré de <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2022/05/COI-T.15-NC-No-3-REV-14-FR.pdf>
- COI. (2021). *Conseil Oléicole International*. Récupéré de <https://www.internationaloliveoil.org/world-catalogue-of-the-main-olive-tree-varieties/?lang=fr>
- COI. (2024). *Conseil Oléicole International*. Récupéré de : <https://www.internationaloliveoil.org/marche-mondial-de-lhuile-dolive-et-des-olives-de-table>
- Commission des Communautés Européennes. (1991). *Règlement (CEE) n° 2568/91 relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive et à leurs méthodes d'analyse*. *Journal officiel de l'Union européenne*, L 248.
- Covas, M. I., de la Torre, K., Farré-Albaladejo, M., Kaikkonen, J., Fitó, M., López-Sabater, M. C., Paananen, R., Tornero, J., & de la Torre, R. (2006). Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(4), 608–616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.09.027>
- Cypriyana, P. J., S., J., Angalene, J. L. A., Samrot, A. V., Kumar, S. S., Ponniah, P., & Chakravarthi, S. (2021). Overview on toxicity of nanoparticles, its mechanism, models used in toxicity studies

- and disposal methods – A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, 102117. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102117>
- Dabbou, S., Chehab, H., Brahmi, F., Dabbou, S., Esposto, S., Selvaggini, R., Taticchi, A., Servili, M., Montedoro, G. F., & Hammami, M. (2010). Effect of three irrigation regimes on Arbequina olive oil produced under Tunisian growing conditions. *Agricultural Water Management*, 97(5), 763–768. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2010.01.011>
- de Pablos, R. M., Espinosa-Oliva, A. M., Hornedo-Ortega, R., Cano, M., & Arguelles, S. (2019). Hydroxytyrosol protects from aging process via AMPK and autophagy: A review of its effects on cancer, metabolic syndrome, osteoporosis, immune-mediated, and neurodegenerative diseases. *Pharmacological Research*, 143, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.03.005>
- Derradj, M., Ouazouaz, M., Gourchala, F., Bourouis, M., & Henchiri, C. (2015). Effects of treatment by refined soybean and extra virgin olive oils on lipid profile and lipasic activity in Wistar albinos rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 35(2), 29-35.
- Dierkes, G., Krieger, S., Dück, R., Bongartz, A., Schmitz, O., & Hayen, H. (2012). High-performance liquid chromatography-mass spectrometry profiling of phenolic compounds for evaluation of olive oil bitterness and pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7597-7606. <https://doi.org/10.1021/jf3020574>
- Djedioui, A., Rahal, L., Ruberto, G., & Henchiri, C. (2018). Effet antidiabétique de l'huile d'olive extra vierge de la variété « Rougette » de la région de Skikda, Algérie orientale. *International Journal of Biosciences*, 12(4), 390–398. <https://doi.org/10.12692/ijb/12.4.390-398>
- Dominguez-Garcia, M., Laib, M., de la Rosa, R., & Belaj, A. (2012). Characterization and identification of olive cultivars from North-eastern Algeria using molecular markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 87, 95–100. <https://doi.org/10.1080/14620316.2012.11512837E1>
- Gharbi, S., Tekaya, M., Bendini, A., Valli, E., Palagano, R., Hammami, M., & Lercker, G. (2018). Effects of geographical location on chemical properties of Zarazi virgin olive oil produced in the South of Tunisia. *American Journal of Food Science and Technology*, 6(6), 228–236. <https://doi.org/10.12691/ajfst-6-6-1>
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- El-Samak, E. M., Soliman, H. A., Abdel-Ghaffar, A. A., Ibrahim, A. A., & El-Kholy, W. M. (2022). Nanoemulsion of thyme oil mitigates oxidative stress, genotoxicity and DNA damage induced by titanium dioxide nanoparticles in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 54322–54337. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19949-0>
- Essiari, M., Rachid, Z., & Chimi, H. (2014). Contribution à l'étude de la typicité des huiles d'olives vierges produites dans la région de Sais (Maroc). *Olivae*, 119, 8–22.
- Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M. I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventos, R. M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M. A., Sorlí, J. V., Martínez, J. A., Fitó, M., Gea, A., Hernán, M. A., Martínez-González, M. A. (2018). Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *The New England Journal of Medicine*, 378(25), 34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1800389>
- Faghim, J., Guasmi, F., Ben Mohamed, M., Ben Ali, S., Triki, T., Guesmi, A., Zammouri, T., Lahzein, M., & Nagaz, K. (2018). Comparaison de la composition physicochimique d'huile d'olive chez la variété Chemlali sous l'effet d'irrigation. *Revue des Régions Arides*, 43, 513–521.
- Farr, S. A., Price, T. O., Dominguez, L. J., Motisi, A., Saiano, F., Niehoff, M. L., Morley, J. E., Banks, W. A., Ercal, N., & Barbagallo, M. (2012). Extra virgin olive oil improves learning and memory in SAMP8 mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 28(1), 81–92. <https://doi.org/10.3233/jad-2011-110662>

- Fathy, A. H., Bashandy, M. A., Bashandy, S. A. E., Mansour, A. M., & Azab, K. S. (2018). The beneficial effect of natural antioxidants from olive oil with fig and date palm fruit extracts on biochemical and hematological parameters in rats treated with doxorubicin and γ -radiation. *Facets*, 3(1), 722–735. <https://doi.org/10.1139/facets-2017-0080>
- Finicelli, M., Squillaro, T., Galderisi, U., & Peluso, G. (2021). Polyphenols, the healthy brand of olive oil: Insights and perspectives. *Nutrients*, 13(11), 3831. <https://doi.org/10.3390/nu13113831>
- Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 114-120).
- Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30(1-2), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>
- Friedman, M., & iso, H. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2101-2110. <https://doi.org/10.1021/jf990489j>
- García-González, D. L., & Aparicio, R. (2010). Research in olive oil: Challenges for the near future. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12569-12577. <https://doi.org/10.1021/jf102735n>
- Grissa, I., Elghoul, J., Ezzi, L., Chakroun, S., Kerkeni, E., Hassine, M., El Mir, L., Mehdi, M., Ben Cheikh, H., & Haouas, Z. (2015). Anemia and genotoxicity induced by sub-chronic intragastric treatment of rats with titanium dioxide nanoparticles. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 794, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.09.005>
- Guclu, G., Kelebek, H., & Selli, S. (2021). Antioxidant activity in olive oils. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 313-325). Elsevier. <https://doi:10.1016/B978-0-12-819528-4.00031-6>
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
- Haddam, M., Chimi, H., & Amine, A. (2014). Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *Journal of Olfaction and Taste*, 21(5), D507.
- Hamdiken, M., Soufi, Y., Ait Boukader, H., Kacimi, N., & Djerdjouri, B. (2024). Antioxidant and protective effects of oleaster oil against silica nanoparticle-induced oxidative stress and organ toxicity in rats. *Applied Sciences*, 14(21), 10046. <https://doi.org/10.3390/app142110046>
- He, X. (2016). *In vivo* nanotoxicity assays in animal models. In *Nanotoxicity: From In Vivo and In Vitro Models to Health Risks* (pp. 151-198). Academic Press.
- Hould, R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Montréal, Canada : Décarie.
- Hsiao, I. L., & Huang, Y.-J. (2011). Effects of various physicochemical characteristics on the toxicities of ZnO and TiO₂ nanoparticles toward human lung epithelial cells. *Science of the Total Environment*, 409(7), 1219–1228. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.12.033>
- Hu, H., Guo, Q., Wang, C., Ma, X., He, H., Oh, Y., Feng, Y., Wu, Q., & Gu, N. (2015). Titanium dioxide nanoparticles increase plasma glucose via reactive oxygen species-induced insulin resistance in mice. *Journal of Applied Toxicology*, 35(10), 1122-1132. <https://doi.org/10.1002/jat.3150>
- Hu, Q., Zhao, F., Fan, M., He, C., Yang, X., Huang, Z., & Fu, Z. (2019). The influence of titanium dioxide nanoparticles on their cellular response to macrophage cells. *Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology & Pharmacology*, 223, 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.05.006>
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defense grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>

- Ilyasoglu, H., Ozcelik, B., Van Hoed, V., & Verhe, R. (2010). Characterization of Aegean olive oils by their minor compounds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 627-636.
- ISO 15189, 2012. Laboratoires de biologie médicale — Exigences concernant la qualité et la compétence. Genève, Suisse. Organisation internationale de normalisation.
- ISO 659. (1988). *Graines oléagineuses : Détermination de l'extrait à l'hexane (ou à l'éther de pétrole), dit "teneur en huile"*. Organisation internationale de normalisation.
- ISO 659. (1996). *Graines oléagineuses : Détermination de l'extrait à l'hexane (ou à l'éther de pétrole), dit "teneur en huile"*. Organisation internationale de normalisation.
- ITAFV. (2020). *Institut technique de l'arboriculture et fruitière et de la vigne*. Récupéré de <http://www.itafv.dz/>
- ITAFV. (2023). *Institut technique de l'arboriculture et fruitière et de la vigne*. Récupéré de <http://www.itafv.dz/>
- Johnson, M. B., Chandler, M., & Afonin, K. A. (2021). Nucleic acid nanoparticles (NANPs) as molecular tools to direct desirable and avoid undesirable immunological effects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 173, 427–438. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.04.011>
- Jollow, D. J., Mitchell, J. R., Zampaglione, N., & Gillette, J. R. (1974). Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. *Pharmacology*, 11(3), 151–169. <https://doi.org/10.1159/000136485>
- JORDP. (2007). *Décret exécutif n° 07-147 du 20 mai 2007 fixant la nature des investissements de recherche et de développement déductibles des hydrocarbures de l'assiette de la Taxe sur le Revenu Pétrolier (TRP)*. *Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire*, n° 35, 23 mai 2007. Récupéré de <https://www.joradp.dz/FTP/jo-francais/2007/F2007035.pdf>
- Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213–217. <https://doi.org/10.1021/jf00062a013>
- Kolanjiappan, K., Shanmugam, M., & Kayalvizhi, M. (2003). Measurement of erythrocyte lipids, lipid peroxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients. *Clinica Chimica Acta*, 326, 143–149. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(02\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(02)00300-5)
- Laincer, F., Laribi, R., Tamendjari, A., Arrar, L., Rovellini, P., & Venturini, S. (2014). Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y Aceites*, 65(1). <https://doi.org/10.3989/gya.035713>
- Lammi, C., Mulinacci, N., Cecchi, L., Bellumori, M., Bollati, C., Bartolomei, M., Franchini, C., Clodoveo, M. L., Corbo, F., & Arnoldi, A. (2020). Virgin olive oil extracts reduce oxidative stress and modulate cholesterol metabolism: Comparison between oils obtained with traditional and innovative processes. *Antioxidants*, 9(9), 798. <https://doi.org/10.3390/antiox9090798>
- Lazzez, A., Cossentini, M., Khlif, M., & Karray, B. (2006). Étude de l'évolution des stérols, des alcools aliphatiques et des pigments de l'huile d'olive au cours du processus de maturation. *Journal de la société chimique de Tunisie*, 8, 21–32.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Rusciano, M. R., Manzoli, L., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757-772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
- Limketkai, B. N., Wolf, A., & Parian, A. M. (2018). Nutritional interventions in the patient with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 47(1), 155-177. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2017.09.007>
- Lombardo, L., Grasso, F., Francesca, L., Stefania, L., & Monetti, E. (2018). Broad-spectrum health protection of extra virgin olive oil compounds. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 36). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819528-4.00004-4>

- Mancuso, L., & Cao, G. (2014). Acute toxicity test of CuO nanoparticles using human mesenchymal stem cells. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 24(7), 449-454. <https://doi.org/10.3109/15376516.2014.928920>
- Mariotti, M., & Peri, C. (2014). The composition and nutritional properties of extra-virgin olive oil. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 21-34). Academic Press.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48-78. <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Matuz-Mares, D., Riveros-Rosas, H., Vilchis-Landeros, M. M., & Vázquez-Meza, H. (2021). Glutathione participation in the prevention of cardiovascular diseases. *Antioxidants (Basel)*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/antiox10081220>
- Mazzocchi, A., Leone, L., Agostoni, C., & Pali-Schöll, I. (2019). The secrets of the Mediterranean diet. Does [only] olive oil matter? *Nutrients*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/nu11122941>
- McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine*, 108(8), 652-659. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(00\)00412-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(00)00412-5)
- Merouane, A., Noui, A., Housseyn, M., Nedjari, K., Nedjari Benhadj Ali, K., & Saadi, A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8, 1865-1870. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i4.45>
- Metlef, S., Dilmi Bouras A., Azdinia, Z., & Benali, A. (2017). Antioxydant activity of some Algerian olive oil samples in the Eastern and Center of Algeria. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5, 929-934. <https://doi.org/10.17265/2328-2150/2017.12.006>
- Mihailovic, V., Katanić Stanković, J., Selakovic, D., & Rosic, G. (2021). An Overview of the Beneficial Role of Antioxidants in the Treatment of Nanoparticle-Induced Toxicities. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-21. <https://doi.org/10.1155/2021/7244677>
- Mínguez-Mosquera, M. I., Gandul-Rojas, B., Montaño-Asquerino, A., & Garrido-Fernández, J. (1991). Determination of chlorophylls and carotenoids by high-performance liquid chromatography during olive lactic fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 585(2), 259-266.
- Mohammadian, M., Mianabadi, M., Zargari, M., Karimpour, A., Khalafi, M., & Amiri, F. (2018). Effects of olive oil supplementation on sodium arsenate-induced hepatotoxicity in mice. *International Journal of Preventive Medicine*, 9, 59. https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_165_18
- Mohammadparast, V., & Mallard, B. L. (2023). The effect and underlying mechanisms of titanium dioxide nanoparticles on glucose homeostasis: A literature review. *Journal of Applied Toxicology*, 43(1), 22-31. <https://doi.org/10.1002/jat.4318>
- Mordret, A., Lands, M., Shapiro, N., Singh, S., Roux, P., & Barkved, O. (2012). Near Surface Structures and Anisotropy from Cross-correlations of Ambient Seismic Noise at the Valhall Oil Field. *Geophysical Journal International*, 191(2), 711-724. <https://doi.org/10.1111/j.1365-246X.2012.05684.x>
- Musumeci, G., Trovato, F. M., Pichler, K., Weinberg, A. M., Loreto, C., & Castrogiovanni, P. (2013). Extra-virgin olive oil diet and mild physical activity prevent cartilage degeneration in an osteoarthritis model: an *in vivo* and *in vitro* study on lubricin expression. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(12), 2064-2075. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.07.007>
- Nadjarzadeh, A., Shidfar, F., Amirjannati, N., Vafa, M. R., Motevalian, S. A., Gohari, M. R., Nazeri Kakhki, S. A., Akhondi, M. M., & Sadeghi, M. R. (2014). Effect of Coenzyme Q10 supplementation on antioxidant enzymes activity and oxidative stress of seminal plasma: a double-blind randomised clinical trial. *Andrologia*, 46(2), 177-183. <https://doi.org/10.1111/and.12062>

- Nakbi, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Nadia, K., Echbili, A., Hammami, M., & Attia, N. (2010). Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 711–715. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.05.003>
- Nam, S.-E., Haque, M. N., Lee, J. S., Park, H. S., & Rhee, J.-S. (2020). Prolonged exposure to hypoxia inhibits the growth of Pacific abalone by modulating innate immunity and oxidative status. *Aquatic Toxicology*, 227, 105596. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105596>
- Necib, Y., Bahi, A., Zerizer, S., Abdennour, C., & Boulakoud, M. S. (2013). Effect of virgin olive oil (*Olea europea*. L) on kidney function impairment and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 9, 415-422. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2013.415.422>
- Necib, Y., Bahi, A., Zerizer, S., Abdennour, C., & Boulakoud, M. S. (2014). Protective effect of virgin olive oil (*Olea europea* L.) against oxidative damage induced by mercuric chloride in rat albinos Wistar. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 10, 45-58.
- Nel, A., Xia, T., Mädler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761), 622-627. <https://doi.org/10.1126/science.1114397>
- Nunes, X., Silva, F., Almeida, J. R., Lima, J., Ribeiro, L., Quintans-Júnior, L., & Barbosa Filho, J. (2011). Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. In *Natural Products in Medicinal Chemistry* (pp. 1-14).
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., & Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823-839. <https://doi.org/10.1289/ehp.7339>
- Oliveras-López, M.-J., Berná, G., Jurado-Ruiz, E., López-García de la Serrana, H., & Martín, F. (2014). Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds has beneficial antioxidant effects in healthy human adults. *Journal of Functional Foods*, 10, 475-484. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.013>
- Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M., & Artaud, J. (2004). Analyse de la fraction phenolique des huiles d'olive vierges. *Annal Expert Forum Chem Toxicol*, 965, 169-196.
- OMS. (2019). Les 10 principales causes de mortalité. *Organisation mondiale de la santé*. <https://www.who.int/fr>
- Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans, and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38(8), 647-659. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(00\)00061-2](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(00)00061-2)
- Pak, T., Luz, L. F. L., Jr., Tosco, T., Costa, G. S. R., Rosa, P. R. R., & Archilha, N. L. (2020). Pore-scale investigation of the use of reactive nanoparticles for in situ remediation of contaminated groundwater source. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(24), 13366-13373. <https://doi.org/10.1073/pnas.1918683117>
- Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S., & Nowack, B. (2011). Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research*, 14, 1109. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1109-9>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Polari, J. J., Mori, M., & Wang, S. C. (2021). Virgin Olive Oils from Super-High-Density Orchards in California: Impact of Cultivar, Harvest Time, and Crop Season on Quality and Chemical Composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123(3), 2000180. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000180>

- Project on Emerging Nanotechnologies (2011). *Consumer Products Inventory*. The Woodrow Wilson International Center for Scholars. Disponible sur: <https://www.nanotechproject.org/cpi>
- Rajamani, P. (2011). Oxidative stress mediated cytotoxicity of TiO₂ nano anatase in liver and kidney of Wistar rat. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 94, 1-18.
<https://doi.org/10.1080/02772248.2011.638441>
- Rashid, M. M., Forte Tavčer, P., & Tomšič, B. (2021). Influence of Titanium Dioxide Nanoparticles on Human Health and the Environment. *Nanomaterials*, 11(9).
<https://doi.org/10.3390/nano11092354>
- Rezaei, R., Safaei, M., Mozaffari, H. R., Moradpoor, H., Karami, S., Golshah, A., . . . Karami, H. (2019). The Role of Nanomaterials in the Treatment of Diseases and Their Effects on the Immune System. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(11), 1884-1890.
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.486>
- Rigacci, S., & Stefani, M. (2016). Nutraceutical Properties of Olive Oil Polyphenols. An Itinerary from Cultured Cells through Animal Models to Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6). <https://doi.org/10.3390/ijms17060843>
- Rossi, M., Caruso, F., Kwok, L., Lee, G., Caruso, A., Gionfra, F., Candelotti, E., Belli, S. L., Molasky, N., Raley-Susman, K. M., Leone, S., Filipický, T., Tofani, D., Pedersen, J., & Incerpi, S. (2017). Protection by extra virgin olive oil against oxidative stress in vitro and in vivo. Chemical and biological studies on the health benefits due to a major component of the Mediterranean diet. *PLOS ONE*, 12(12), e0189341. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189341>
- Roubos, K., Moustakas, M., & Aravanopoulos, F. A. (2010). Molecular identification of Greek olive (*Olea europaea*) cultivars based on microsatellite loci. *Genetics and Molecular Research*, 9(3), 1865-1876. <https://doi.org/10.4238/vol9-3gmr916>
- Roubos, K., Moustakas, M., & Aravanopoulos, F. A. (2010). Molecular identification of Greek olive (*Olea europaea*) cultivars based on microsatellite loci. *Genetics and Molecular Research*, 9(3), 1865-1876. <https://doi.org/10.4238/vol9-3gmr916>
- Ryan, D., & Robards, K. J. A. (1998). Phenolic compounds in olives. *Critical Review*, 123(5), 31R-44R.
- Sadok, H., Rebiha, K., & Terki, D. (2018). Caractérisation physico-chimique et organoleptique des huiles d'olive vierges de quelques variétés algériennes. *Agrobiologia*, 8(1), 706-718.
- Sahali, N., & Sahnoune, M. (2023). Regard sur l'évolution de l'espace agricole saharien à travers l'analyse des filières arboricoles. *Revue Nouvelle Économie*, 14(1), 701-718.
- Saibandith, B., Spencer, J. P. E., Rowland, I. R., & Commane, D. M. (2017). Olive polyphenols and the metabolic syndrome. *Molecules*, 22(7), 1082. <https://doi.org/10.3390/molecules22071082>
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287-306.
<https://doi.org/10.1080/1040869059096>
- Shakra, M., El-Din, R., Hamouda, S., Mohammed, A., & Al-Rahman, R. (2019). Hepatotoxicity of bare and polyethylene glycol coated iron oxide nanoparticles and the protective role of virgin olive oil in male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 76, 3607-3617.
<https://doi.org/10.21608/ejhm.2019.39169>
- Shukla, R. K., Kumar, A., Vallabani, N. V. S., Pandey, A. K., & Dhawan, A. (2014). Titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress triggers DNA damage and hepatic injury in mice. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 9(9), 1423-1434.
<https://doi.org/10.1016/j.nano.2013.05.017>
- Som, C., Wick, P., Krug, H., & Nowack, B. (2011). Environmental and health effects of nanomaterials in nanotextiles and façade coatings. *Environment International*, 37(6), 1131-1142.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.013>

- Souza, P. A. L., Marcadenti, A., & Portal, V. L. (2017). Effects of Olive Oil Phenolic Compounds on Inflammation in the Prevention and Treatment of Coronary Artery Disease. *Nutrients*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/nu9101087>
- Torres, M. M., & khe, D. (2006). The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina). *Food Chemistry*, 96, 507-511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.003>
- UE. (2012). *Union européenne*. https://european-union.europa.eu/index_fr.
- Vasantharaja, D., Ramalingam, V., & Reddy, G. (2015). Oral toxic exposure of titanium dioxide nanoparticles on serum biochemical changes in adult male Wistar rats. *Nanomedicine Journal*, 2, 46-53.
- Vaziri, N. D., Dicus, M., Ho, N. D., Boroujerdi-Rad, L., & Sindhu, R. K. (2003). Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney International*, 63(1), 179-185. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00702.x>
- Veillet, S. (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : entre tradition et innovation. Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Verma, G. S., Nirmal, N. K., Gunpal, D., Gupta, H., Yadav, M., Kumar, N., & John, P. J. (2021). Intraperitoneal exposure of iron oxide nanoparticles causes dose-dependent toxicity in Wistar rats. *Toxicology and Industrial Health*, 37(12), 763-775. <https://doi.org/10.1177/07482337211058668>
- Villegas, A. S., & Sanchez-Taínta, A. (2017). *The Prevention of cardiovascular disease through the Mediterranean diet*. Academic Press.
- Vincenzo, S. (2017). Antioxidant potential of extra virgin olive oils extracted from three different varieties cultivated in the Italian province of Reggio Calabria. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90, 76-82. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2017.090.011>
- Viola, P., & Viola, M. (2009). Virgin olive oil as a fundamental nutritional component and skin protector. *Clinical Dermatology*, 27(2), 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2008.01.008>
- Visioli, F., Poli, A., & Gall, C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medical Research Reviews*, 22(1), 65-75. <https://doi.org/10.1002/med.1028>
- Vissers, M. N., Zock, P. L., Wiseman, S. A., Meyboom, S., & Katan, M. B. (2001). Effect of phenol-rich extra virgin olive oil on markers of oxidation in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 55(5), 334-341. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601161>
- Wakib, S., El Bakkali, A., Zaher, H., Meddich, A., Aouabe, A., El Modafar, C., Barkaoui, K., & Garnier, E. (2024). A comparative study of phenotypic traits linked to drought tolerance in 83 olive tree varieties grown in Moroccan and French collections. *Acta Horticulturae*.
- Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T.-C., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Sun, J., Jiao, F., Zhao, Y., & Chai, Z. (2007). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology Letters*, 168(3), 176-185. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.12.001>
- Wang, R., Song, B., Wu, J., Zhang, Y., Chen, A., & Shao, L. (2018). Potential adverse effects of nanoparticles on the reproductive system. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 8487-8506. <https://doi.org/10.2147/ijn.S170723>
- Wani, F., Ibrahim, M., Moneim, M., & Hamdan, A. R. (2018). Cytoprotectant and anti-oxidant effects of olive oil on cadmium induced nephrotoxicity in mice. *Open Journal of Pathology*, 8, 31-46. <https://doi.org/10.4236/ojpathology.2018.81004>
- Weseler, A. R., & Bast, A. (2010). Oxidative stress and vascular function: Implications for pharmacologic treatments. *Current Hypertension Reports*, 12(3), 154-161. <https://doi.org/10.1007/s11906-010-0103-9>
- Wolf, J. P. (1968). *Manuel d'analyses des corps gras*. Azoulay Ed., Paris, France, 519 p.

- Wong, S., Leong, L., & Koh, J. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99, 775-783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.058>
- Woodrow Wilson, (2011). International Center for Scholars. <https://www.wilsoncenter.org/article/woodrow-wilson-international-center-for-scholars-plan-for-federal-funding-hiatus>
- Xu, J., Shi, H., Magaye, R., Yu, H., Lazar, L., Zou, B., Yang, C., Wu, A., & Zhao, J. (2013). Acute toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in mice. *PloS One*, 8, e70618. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070618>
- Yubero-Serrano, E. M., Lopez-Moreno, J., Gomez-Delgado, F., & Lopez-Miranda, J. (2019). Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72(Suppl 1), 8-17. <https://doi.org/10.1038/s41430-018-0304-x>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)
- Zhou, S., Cai, H., He, X., Tang, Z., & Lu, S. (2024). Enzyme-mimetic antioxidant nanomaterials for ROS scavenging: Design, classification, and biological applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 500, 215536. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215536>
- Zhu, Z., Li, X., Zhang, Y., Wang, J., Dai, F., & Wang, W. (2023). Profiling of phenolic compounds in domestic and imported extra virgin olive oils in China by high performance liquid chromatography-electrochemical detection. *LWT*, 174, 114424. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114424>
- Ziental, D., Czarczynska-Goslinska, B., Mlynarczyk, D. T., Glowacka-Sobotta, A., Stanisz, B., Goslinski, T., & Sobotta, L. (2020). Titanium Dioxide Nanoparticles: Prospects and Applications in Medicine. *Nanomaterials (Basel)*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/nano10020387>

| Annexes

Annexe 01 : Caractérisation morphologique de la variété « Rougette de Mitidja »

La variété "Rougette de la Mitidja" est fréquemment présente dans la plaine de la Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude. Cette variété est rustique, caractérisée par des fruits de taille moyenne et allongée, principalement utilisés pour la production d'huile. Le rendement est estimé entre 18 et 20%, et le taux d'enracinement des boutures herbacées donne un résultat moyen de 48,30%. La méthode de caractérisation morphologique utilisée dans cette étude suit les directives établies par le **catalogue des variétés algériennes de l'olivier (ITAF, 2023)** pour l'identification primaire des variétés.

1. La feuille

Quatre caractères relatifs à la feuille ont été pris en compte, dont trois sont de nature quantitative et le quatrième est qualitatif. Ces observations ont été réalisées sur des échantillons comprenant une quarantaine de feuilles adultes provenant de la partie médiane de 8 à 10 pousses de l'année. Ces pousses ont été sélectionnées parmi les plus représentatives et situées dans la partie de l'arbre orientée vers le sud, à hauteur d'homme

1.1. La forme

Déterminée par :

- ❖ Le rapport entre longueur (L) et la largeur (l) :
 - Elliptique ($L/l : < 4$)
 - Elliptique lancéolée ($L/l : 4-6$)
 - Lancéolée ($L/l : > 6$)
- ❖ Longueur :
 - Réduite (< 5 cm)
 - Moyenne (5-7 cm)
 - Elevée (> 7 cm)
- ❖ Largeur :
 - Réduite (< 1 cm)
 - Moyenne (1- 1,5 cm)
 - Elevée ($> 1,5$ cm)

1.2. Courbure longitudinale du limbe

L'axe longitudinal de la feuille permet de classer le limbe en quatre catégories :

- Epinastique

- Plane
- Hyponastique
- Hélicoïdale

2. Le fruit

2.1. Fruit entier

Les caractères pris en considération sont évalués sur un échantillon de 40 fruits provenant de la zone médiane des rameaux fructifères. Ces fruits sont soigneusement sélectionnés parmi les plus représentatifs, situés dans la partie de l'arbre orientée vers le sud, en excluant les plus petits, les plus gros et ceux présentant des malformations. La description du fruit est effectuée au moment de la fin de la véraison. Pour certains caractères, deux positions sont prises en compte : la position "A", où le fruit présente généralement son asymétrie maximale lorsqu'il est pris par ses deux extrémités entre l'index et le pouce, et la position "B", résultant de la rotation du fruit de 90° afin de tourner la partie la plus développée vers l'observateur.

2.2. Poids

Dans l'hypothèse où chaque variété a été cultivée dans des conditions agronomiques normales pour sa zone de culture, les catégories suivantes ont été définies :

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

2.3. Forme (en position A)

Déterminée en fonction du rapport entre la longueur (L) et la largeur (l).

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

2.4. Symétrie (en position A)

Déterminée par la correspondance entre ses deux moitiés longitudinales.

- Symétrique
- Légèrement asymétrique
- Asymétrique

2.5. Position du diamètre transversal maximal par rapport au pédoncule (en position B)

- Vers la base (situé vers le pédoncule)
- Centrale
- Vers le sommet
- Sommet (en position A) :
- Pointu
- Arrondi
- Base (en position A) :
- Tronquée
- Arrondie

2.6. Mamelon

Ce caractère du point stylaire du fruit peut être :

- Absent
- Présent

2.7. Présence de lenticelles

Les caractères liés aux lenticelles sont évalués lorsque le fruit est complètement développé mais encore à un stade de couleur verte. Ces formations, discernables à l'œil nu, peuvent être classifiées comme suit :

- Peu nombreuses
- Nombreuses

2.8. Dimension des lenticelles

Par rapport à d'autres variétés, elles peuvent être :

- Petites
- Grandes

3. L'endocarpe (noyau)

L'endocarpe représente la partie interne lignifiée du fruit qui assure la protection de la graine ou de l'amandon, et c'est sur cette partie que les observations structurelles sont effectuées. On utilise généralement le terme "noyau" pour décrire l'ensemble formé par l'endocarpe et la graine. Les caractères associés à l'endocarpe doivent être évalués sur l'échantillon mentionné précédemment, constitué de 40 fruits. Tout comme pour le fruit lui-même, certaines

caractéristiques sont évaluées en deux positions : la position "A", normalement associée à l'asymétrie maximale où la suture du carpelle est visible pour l'observateur, et la position "B", résultant de la rotation de la position "A" de 90° afin de présenter la partie la plus développée à l'observateur. En général, les caractères de l'endocarpe se révèlent être fortement discriminants pour l'identification des variétés.

3.1. Poids

Dans l'hypothèse où chaque variété a été cultivée dans des conditions agronomiques normales pour sa zone de culture, les catégories suivantes ont été définies :

- Réduit (< 0,3 g)
- Moyen (0,3- 0,45 g)
- Elevé (> 0,45 g)

3.2. Forme (en position A)

Déterminée en fonction du rapport entre la longueur (L) et la largeur (l) :

- Sphérique ($L/l : < 1,4$)
- Ovoïde ($L/l : 1,4- 1,8$)
- Elliptique ($L/l : 1,8- 2,2$)
- Allongée ($L/l : > 2,2$)

3.3. Symétrie (en position A)

Déterminée par la correspondance entre ses deux moitiés longitudinales :

- Symétrique
- Légèrement asymétrique
- Asymétrique

Position du diamètre transversal maximal du noyau par rapport au point d'insertion (en position B). Selon sa situation, elle peut être :

- Vers la base (situé vers l'insertion)
- Centrale
- Vers le sommet

3.4. Sommet (en position A)

- Pointu
- Arrondi

3.5. Base (en position A)

- Tronquée
- Pointue
- Arrondie

3.6. Surface (en position B)

En fonction de la profondeur et de l'abondance des sillons fibrovasculaires :

- Lisse
- Rugueuse
- Raboteuse

3.7. Nombre de sillons fibrovasculaires

Observés à partir du point d'insertion du pédoncule

- Réduit (< 7 g)
- Moyen (7- 10 g)
- Elevé (> 10 g)
- Extrémité du sommet :

3.8. Mucron

- Sans mucron
- Avec mucron

ROUGETTE DE MITIDJA

Synonymes : pas de synonymes connus

ORIGINE :	plaine de Mitidja
DIFFUSION :	restreinte
DESTINATION :	Huile
PUBLICATION :	Arrêté du 10 Mai 2007 modifiant et complétant l'arrêté du 2 octobre 2006 JORDP N° 01 de 6 janvier 2008

I-CARACTÉRISTIQUES AGRONOMIQUES ET COMMERCIALES

Rendement en huile :	18 à 20 %
Précocité :	précoce
Résistance :	rustique
Productivité :	faible
Rapport pulpe noyau :	Faible (04,33)
Taux de nouaison :	moyen (02,50 %)
Aptitude rhizogène :	très bon (> 55 %)
Alternance :	alternante



II-CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES

ARBRE			
Vigueur :	moyenne	Densité du feuillage :	moyenne
Port :	étalé	Longueur des entre - nœuds :	moyenne

FEUILLE			
Forme :	elliptique lancéolée	Largeur :	moyenne
Longueur :	moyenne	Courbure longitudinale du limbe :	plane

INFLORESCENCE			
Longueur :	moyenne	Nombre de fleurs :	faible

FRUIT			
Poids :	moyen	Mamelon :	absent
Forme :	allongée	Présence de lenticelles :	peu nombreuses
Symétrie :	légère asymétrique	Dimension des lenticelles :	petites
Position du diamètre transversal maximal :	centrale	Début de la véraison :	uniformément
Sommet :	pointu	Couleur en pleine maturation :	noire
Base :	tronquée		



Figure A : Caractéristiques morphologiques de la variété « Rougette de Mitidja » (ITAFV, 2023).

Annexe 02 : Analyse des caractéristiques physicochimiques d'huile d'olive

1. L'acidité libre

- **Mode opératoire**

L'acidité libre, exprimée en pourcentage d'acide oléique, est déterminée comme suit :

- Dissoudre 1g d'huile d'olive dans 50 ml d'éthanol à 95%, préalablement neutralisé.
- Utiliser une solution d'hydroxyde de potassium 0,1N en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré pour titrer la solution.
- Effectuer la titration sur la solution de 1g d'huile dissoute dans 50 ml d'éthanol à 95%, préalablement neutralisée.
- La fin du dosage est indiquée par l'apparition d'une couleur légèrement rose.
- L'acidité est déterminée par le volume de solution de soude nécessaire au changement de couleur (**ISO 660, 1996**).

- **Expression des résultats**

L'acidité est donnée par l'équation suivante :

$$\text{Acidité} = \frac{V \times N \times M}{10 \times m}$$

Où,

- **V** : volume, en millilitres, de la solution titrée d'hydroxyde de sodium éthanoïque utilisée.
- **N** : normalité exacte, en moles par litre, de la solution titrée de NaOH éthanolique utilisée.
- **M** : poids molaire, en grammes par mole, de l'acide adopté pour l'expression du résultat (égale à 282).
- **m** : masse, en grammes, de la prise d'essai.
- Simplification pour ce cas particulier : $N \times M / 10 \approx 1$

$$\text{Calcul de l'indice d'acide : } (\mathbf{IA}) = \mathbf{A\%} \times 2$$

Où, **A%** : représente le pourcentage d'acidité.

2. Analyse spectrophotométrique dans l'ultra-violet

- **Mode opératoire**

- **Préparation des échantillons** : Diluer 0,25 grammes d'huile d'olive dans 25 ml de cyclohexane (Prolabo). Assurer une homogénéité parfaite en filtrant à une température ambiante d'environ 30°C jusqu'à ce que les densités optiques (DO) soient inférieures à 1.
- **Mesure des absorbances** : Utiliser une cuve en quartz pour la lecture des absorbances par rapport à celles du solvant. Utiliser un spectrophotomètre de marque SECOMAM UV line 9400 (COI, 2015).

- **Expression des résultats**

Les valeurs sont exprimées comme extinction spécifique notée de façon conventionnelle par $K\lambda$ et exprimé comme suit :

$$K\lambda = E\lambda / C \times S$$

Où,

- $K\lambda$: extinction spécifique à la longueur d'onde λ .
- $E\lambda$: extinction à la longueur d'onde λ .
- C : Concentration de la solution en grammes par millilitres (g/100ml).
- S : Chemin optique (1cm).

3. Indice de peroxyde (Ip)

- **Mode opératoire**

- Peser 2 g d'huile avec une précision de 0,001 g dans une fiole.
- Dissoudre les 2 g d'huile dans 10 ml de chloroforme, agiter.
- Ajouter 15 ml d'acide acétique glacial et 1 ml d'iodure de potassium saturé (KI), agiter pendant 1 minute, puis laisser reposer pendant 5 minutes à l'abri de la lumière, à une température de 15 à 25°C, puis Ajouter 75 ml d'eau distillée.
- Titrer l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium $[Na_2S_2O_3]$ à 0,02N, tout en agitant vigoureusement.

Annexes

- Utiliser quelques gouttes d'empois d'amidon (1 g/100 ml) comme indicateur coloré, titrer jusqu'à la disparition de la couleur.
- Effectuer simultanément un essai à blanc (**ISO 3960, 1977**).

- **Expression des résultats**

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

$$I_p = \frac{T(V-V_0)}{m} \times 1000$$

Où,

- **T** : normalité de la solution de thiosulfate de sodium (Na₂ S₂ O₃)
- **V₀** : volume de thiosulfate versé dans le blanc (en ml)
- **V** : volume de thiosulfate versé dans la prise d'essai (en ml)
- **m** : prise d'essai exprimée en grammes.

4. Indice de saponification

- **Mode opératoire**

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

- **Expression des résultats**

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

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

Où,

- **V₀** : Volume, en millilitres, de la solution d'HCl utilisé pour l'essai à blanc.
- **V₁** : Volume, en millilitres, de la solution d'HCl utilisé pour l'échantillon
- **N** : Normalité de la solution d'HCl.

Annexes

- **m** : la masse, en grammes, de la prise d'essai.
- **t** : la température à laquelle a été effectuée la détermination.

5. La teneur en eau et en matière volatile (l'humidité)

- **Mode opératoire**

- Peser 0,5 g de l'échantillon.
- Chauffer l'échantillon dans une étuve à une température comprise entre 103°C et 105°C pendant une demi-heure.
- Laisser refroidir dans un dessiccateur pendant 1 heure.
- Peser une deuxième fois l'échantillon.
- Répéter l'opération de chauffage plusieurs fois, avec un temps d'incubation de 30 minutes, jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

- **Expression des résultats**

La teneur en eau et en matière volatile est exprimée en pourcentage, selon l'équation suivante :

$$\text{Eau et matière Volatile (\%)} = [(m_0 - m_1) / m_0] \times 100$$

Où,

m₀ : la masse en grammes de la prise d'essai avant la dessiccation.

m₁ : la masse en grammes de la prise après la dessiccation.

6. Détermination des phosphatides

- **Mode opératoire**

- Dissoudre 25 g d'huile dans 200 ml d'acétone.
- Mettre la solution au réfrigérateur à une température de -4°C pendant deux heures.
- Laver les papiers filtres avec de l'acétone, les sécher dans l'étuve pendant 30 minutes, puis les placer pendant une heure dans le dessiccateur.
- Peser les papiers filtres.
- Laver les papiers filtres avec de l'acétone jusqu'à disparition des corps gras.
- Sécher les papiers filtres à 100-105°C dans l'étuve pendant 30 minutes.
- Remettre les papiers filtres dans le dessiccateur pendant une heure.
- Repeser les deux papiers filtres.

Annexes

- **Expression des résultats**

Les résultats de la teneur en phosphatides sont exprimés en pourcentage, selon la formule suivante :

$$\text{Phosphatides (\%)} = [(P_1 - P_2) / P] \times 100$$

Où,

- **P₁** : le poids du filtre avant filtration.
- **P₂** : le poids du filtre Après filtration.
- **P** : le poids de la prise d'essai.

Annexe 03 : Analyse quantitative des composés mineurs l'huile d'olive

1. Dosage des Polyphénols totaux

- **Mode opératoire**

- Prélever un volume de 0,1 ml de l'huile d'olive et le mélanger avec 2 ml d'une solution fraîchement préparée de carbonate de sodium à 2%.
- Agiter vigoureusement le mélange à l'aide d'un vortex et incubé pendant 5 minutes.
- Ajouter 100 µl du réactif Folin-Ciocalteu 0,1N au mélange.
- Incuber le mélange obtenu à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes.
- Mesurer l'absorbance contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 750 nm.
- La lecture de l'absorbance maximale à 750 nm est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'huile d'olive.
- Réaliser une courbe d'étalonnage en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif

2. Détermination de la teneur en caroténoïdes

- **Mode opératoire**

- Une prise de 7,5 grammes d'huile est introduite dans une fiole jaugée de 25 ml.
- La fiole est complétée jusqu'au trait de repère avec du cyclohexane.
- L'absorbance de la solution de matière grasse obtenue est mesurée à 470 nm par rapport à celle du solvant.

- **Expression des résultats**

La teneur en caroténoïdes, exprimée en ppm, est déterminée par la formule suivante :

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

- Où : A_{470} : absorbance à 470 nm ; 7,5 g : poids de l'huile.

3. Détermination de la teneur en chlorophylles

- **Mode opératoire**

Annexes

- Une prise d'échantillon d'huile d'olive est prélevée.
- L'échantillon est dissous dans un solvant qui est l'acétone pour extraire les pigments chlorophylliens.
- L'échantillon préparé est analysé à l'aide d'un spectrophotomètre.
- Les mesures sont effectuées à trois longueurs d'onde spécifiques : 630 nm, 670 nm et 710 nm.

• Expression des résultats

La teneur en chlorophylles est exprimée en ppm. La teneur en chlorophylle est déterminée en utilisant la relation suivante :

$$\text{Chlorophylles (ppm)} = A_{670} - (A_{630} + A_{710}) / 2$$

Où,

- A_{630} : absorbance à 630 nm par rapport à une cuve de référence contenant de tétrachlorure de carbone.
- A_{670} : absorbance à 670 nm.
- A_{710} : absorbance à 710 nm.
- L : trajet optique = 1 cm.
- **0,1086** : coefficient lié à l'appareil.

4. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

• Mode opératoire

- Prélever 500 µl d'huile d'olive et dissoudre dans 2 ml d'éthanol ou de méthanol.
- Ajouter 150 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15%.
- Laisser réagir pendant 6 minutes. Introduire 150 µl de chlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 10% dans le mélange.
- Laisser reposer pendant 6 minutes. Ajouter 2 ml d'hydroxyde de sodium à 4% aux tubes.
- Compléter immédiatement le volume final à 5 ml avec de l'eau distillée.
- Après 15 minutes, effectuer la lecture à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.
- Réaliser une courbe d'étalonnage en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

5. Détermination de la teneur en tannins condensés

- **Mode opératoire**

- Prélever 50 µl d'huile d'olive et ajouter à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (Masse/volume, 4%).
- Mélanger le contenu à l'aide d'un vortex.
- Ajouter ensuite 750 µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) au mélange.
- Laisser réagir à température ambiante pendant 20 minutes.
- Mesurer l'absorbance à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

- **Expression des résultats**

Pour estimer la concentration des tanins en milligrammes équivalents de catéchine par kilogramme du poids de la matière sèche, une courbe d'étalonnage a été établie. Cette courbe a été obtenue en utilisant des solutions standards de catéchine avec des concentrations connues

Annexe 04 : Les courbes d'étalonnages

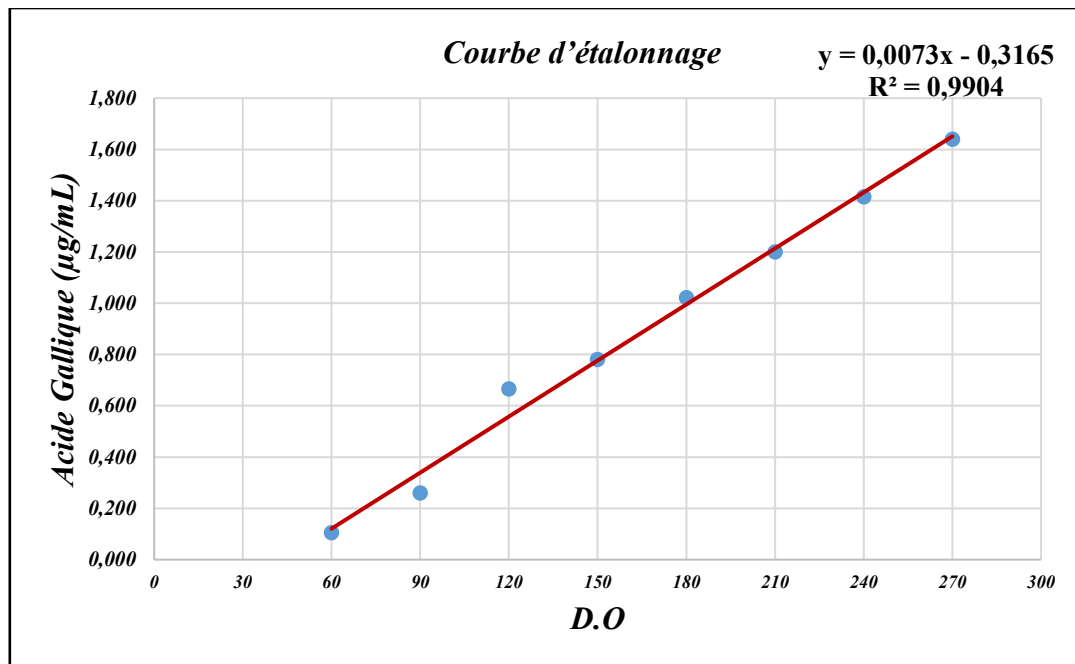


Figure A : Étalonage de l'acide gallique en vue du dosage des polyphénols totaux.

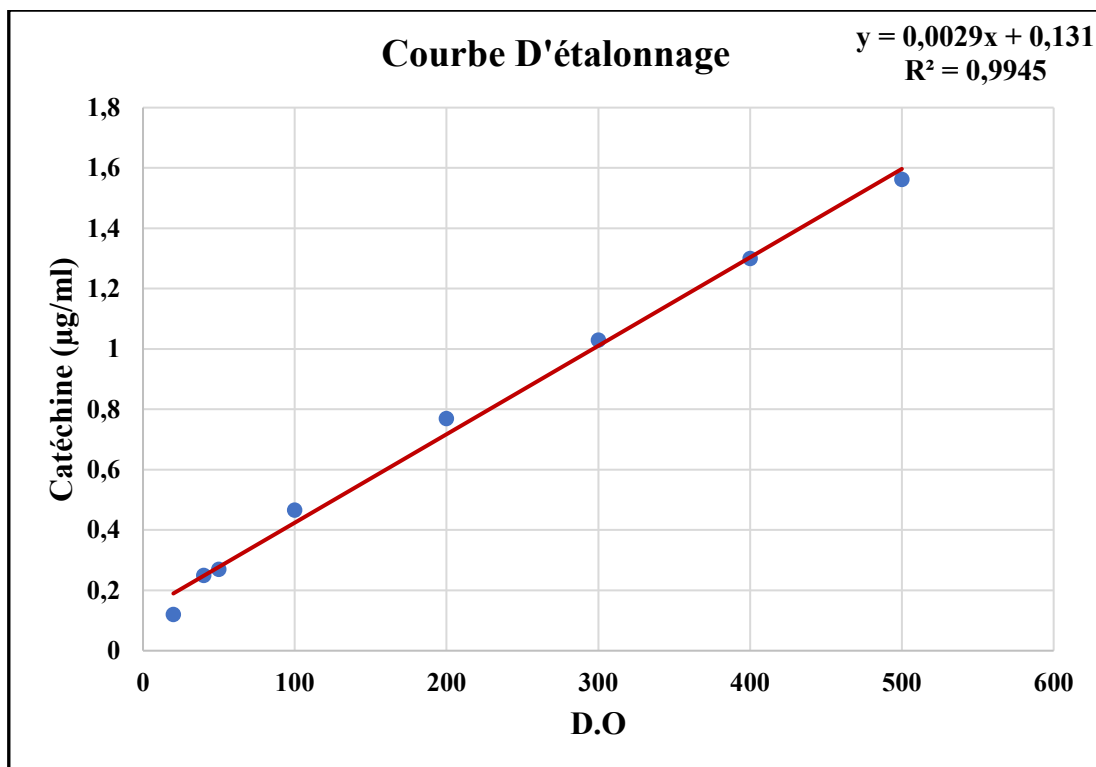


Figure B : Étalonage de la catéchine pour la quantification des flavonoïdes

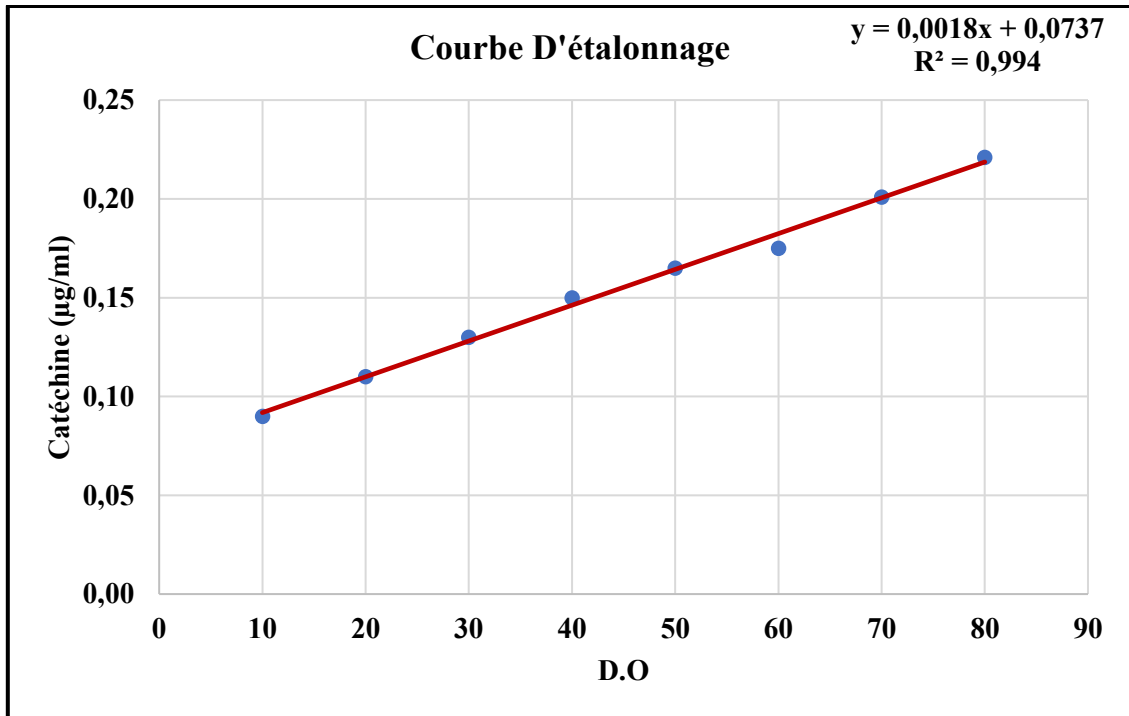


Figure C : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.

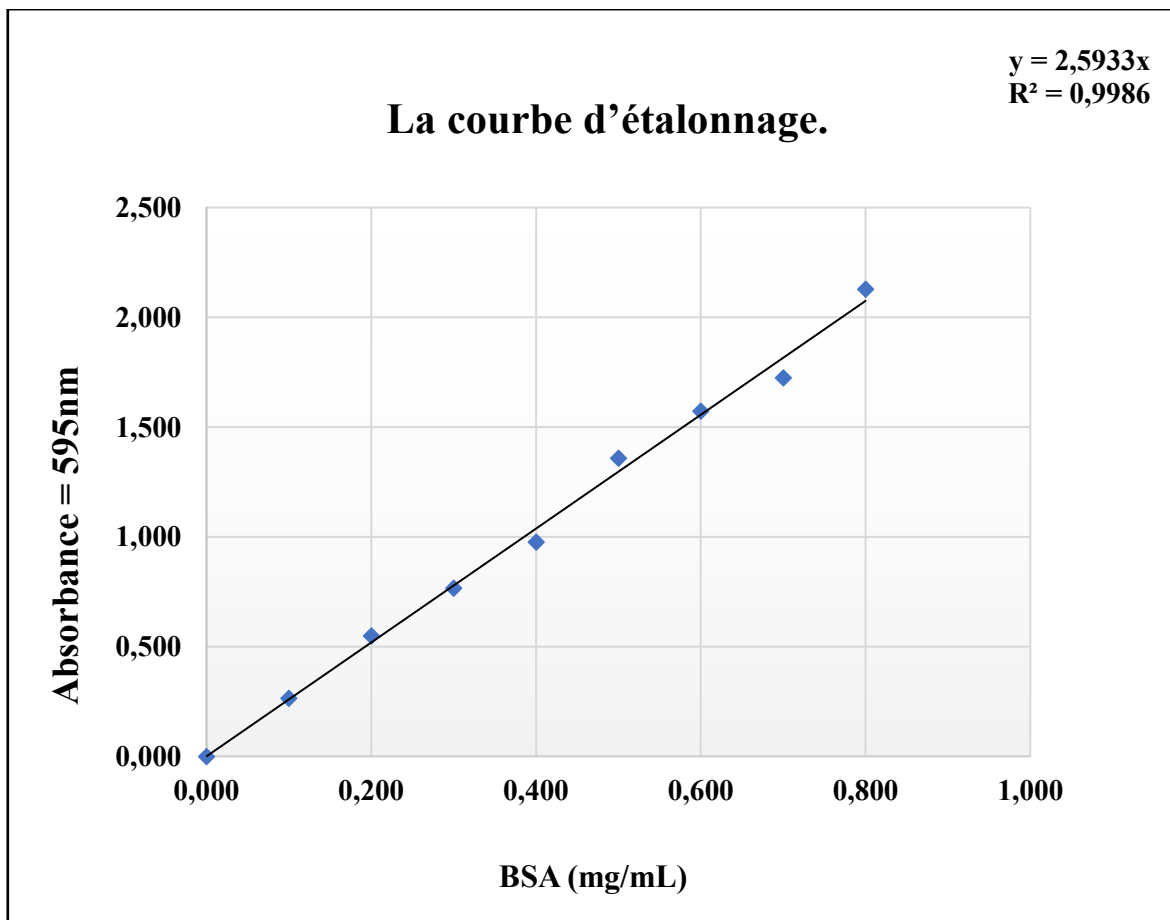


Figure E : La courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

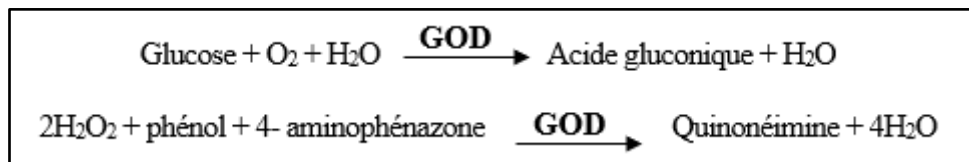
Annexe 05 : Dosage des paramètres biochimiques selon la fiche technique

Le dosage des paramètres biochimique a été réalisée par des méthodes colorimétriques avec un analyseur automatisé (Mindray BS 240, France) et des kits commerciaux (biosystem et diasys). Le principe de chaque test a été déterminé selon la fiche technique de cet analyseur.

1. Mesure de la glycémie

- **Principe**

Le glucose est oxydé sous l'action de la glucose-oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), ce dernier, en présence de peroxyde (POD) oxyde le phénol et le 4-aminophénazone (chromogène incolore) pour former la quinonéimine, un composé coloré en rouge violet (**Barham et Trinder, 1972**) selon les réactions suivantes :



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

- **Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	1.0	-
Echantillon (µl)	-	-	10

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

- **Calcul de la concentration**

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

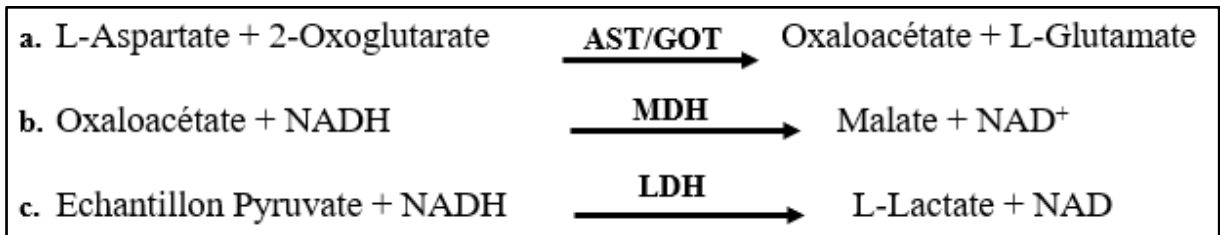
$$[\text{Glucose (g/l)}] = (\text{DO échantillon} / \text{DO étalon}) \times \text{lg/l (concentration de l'étalon)}.$$

2. Détermination de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

a) Principe

Ce réactif ASAT/SGOT est basé sur les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (l'IFCC) sans phosphate de pyridoxal (**Schumann, 2002**).

➤ La série de réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante :



- Le SGOT/ASAT présent dans l'échantillon catalyse le transfert du groupement amine du L-aspartate au 2-oxoglutarate formant l'oxaloacétate et le L-glutamate.
- L'oxaloacétate en présence de NADH et de malate déshydrogénase (MDH) est réduit en L-malate. Dans cette réaction, le NADH est oxydé en NAD. La réaction est surveillée en mesurant la vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH en NAD.
- L'ajout de lactate déshydrogénase (LDH) au réactif est nécessaire pour obtenir une réduction rapide et complète du pyruvate endogène afin qu'il n'interfère pas avec le dosage.

b) Mode opératoire

➤ Méthode à deux réactifs – substrat

Réactif 1 (tampon)	1,000 ml
Echantillon	0,100 ml

➤ Mélanger et incuber 5 min. à 37°C. Puis ajouter :

Réactif 2 (substrat)	0,250 ml
----------------------	----------

- Mélanger, incuber 1 min. à 37°C, puis mesurer l'absorbance initiale du Etalon et de l'échantillon par rapport au blanc réactif.
- Mesurer le changement d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 min. Calculer le changement d'absorbance sur 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

c) Calcul de la concentration

$$\text{ASAT/GOT (U/L)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min}} \times C (\text{Cal})$$

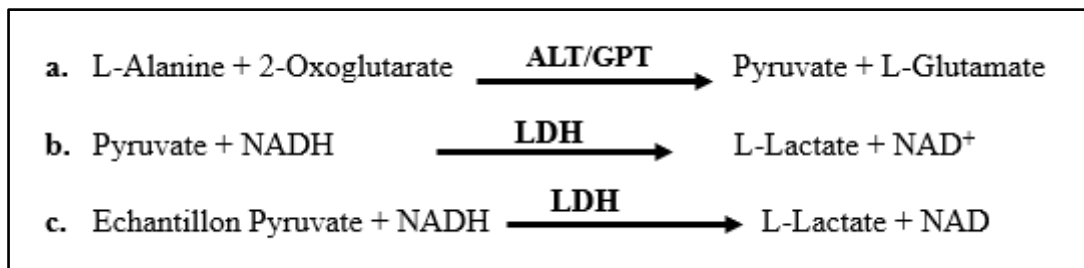
- Où, **C(cal)** = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

3. Détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT)

a) Principe

Ce réactif ALT/GPT est basé sur les recommandations de l'IFCC sans phosphate de pyridoxal (Schumann, 2002).

- La série de réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante :



- a. Le groupement amine est transféré par voie enzymatique par le SGPT/ALAT présent dans l'échantillon de l'alanine à l'atome de carbone du 2-oxoglutarate donnant du pyruvate et du L-glutamate.
- b. Le pyruvate est réduit en lactate par la LDH présente dans le réactif avec l'oxydation simultanée du NADH en NAD. La réaction est surveillée en mesurant la vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH.
- c. Le pyruvate de l'échantillon endogène est rapidement et complètement réduit par la LDH pendant la période d'incubation initiale pour éviter les interférences pendant le dosage.

b) Le mode opératoire

Méthode à deux réactifs – substrat

Réactif 1 (tampon)	1,000 ml
Echantillon	0,100 ml

- Mélanger et incuber 5 min. à 37°C. Puis ajouter :

Réactif 2 (substrat)	0,250 ml
-----------------------------	----------

- Mélanger, incuber 1 min. à 37°C, puis mesurer l'absorbance initiale du Etalon et de l'échantillon par rapport au blanc réactif.
- Mesurer le changement d'absorbance exactement après 1, 2 et 3 min. Calculer le changement d'absorbance sur 1 minute ($\Delta A/\text{min}$).

c) Calcul de la concentration

$$\text{ALAT/GPT (U/L)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min}} \times C(\text{Cal})$$

- Où, **C(cal)** = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument).

4. Dosage de la bilirubine totale, directe et indirecte**a) Principe**

Méthode modifiée de (**Pearlman et Lee, 1974**), dans laquelle un tensioactif est utilisé comme solubilisant. Le glucuronate de bilirubine réagit directement avec le sel de sulpho-di-azonium et forme un dérivé coloré azo-bilirubine. L'intensité de la couleur de l'azo-bilirubine formée.

b) Mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
Réactif de travail	0,500 ml	0,500 ml	0,500 ml
Echantillon	-	-	0,025 ml
Etalon (Cal)	-	0,025 ml	-
Eau distillé	0,025 ml	-	-

- Mélanger et incuber 5 min. à 37°C.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon A(Ech) et de l'étalon A(Cal) par rapport au blanc réactif.

c) Calcul de la concentration

$$\text{Bilirubine totale et directe (mg/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})}{\Delta A(\text{Cal})} \times C(\text{Cal})$$

d) Utilisation du facteur :

$$\text{Bilirubine totale et directe (mg/dl)} = f \times \Delta A$$

- f = facteur = Bilirubine totale = 23 à (546-630nm) ; Bilirubine Direct = 17 à (546-630nm)

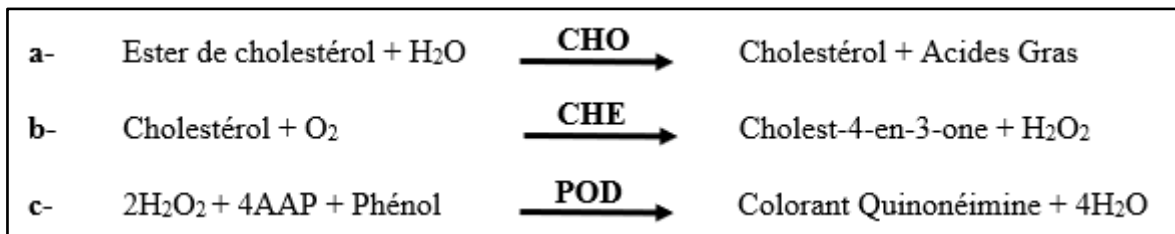
$$\text{Bilirubine indirecte (mg/dl)} = f_{\text{indirecte}} \times \Delta A_{\text{indirecte}}$$

- Où :
 - $f_{\text{indirecte}}$: est le facteur spécifique à la bilirubine indirecte.
 - $\Delta A_{\text{indirecte}}$: est la différence d'absorbance associée à la bilirubine indirecte.

5. Dosage du cholestérol

a) Principe

Ce réactif est basé sur la formulation de (Allain *et al.*, 1974) et la modification de (Roeschlaub P, & al. 1974) avec d'autres améliorations pour rendre le réactif stable en solution.



- Où :
 - **CHE** = Cholestérol Estérase
 - **CHO** = Cholestérol Oxydase
 - **4AAP** = 4-aminoantipyrine
 - **POD** = Péroxydase

- a. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par voie enzymatique par le cholestérol estérase en cholestérol et acides gras libres.
- b. Cholestérol libre, y compris celui présent à l'origine, puis oxydé par le cholestérol oxydase en cholest-4-en-3-one et peroxyde d'hydrogène.
- c. Le peroxyde d'hydrogène combiné avec la 4-aminoantipyrine pour former un chromophore (colorant quinonéimine) qui peut être quantifié à 505 nm.

b) Le mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon (Cal)	Echantillon
Réactif de travail	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Echantillon	-	-	0,01 ml
Etalon (Cal)	-	0,01 ml	-
Eau distillé	0,01 ml	-	-

- Mélanger et incuber 10 min. à 37°C. Mesurer l'absorbance de l'échantillon $A_{(Ech)}$ et de l'étalon $A_{(Cal)}$ par rapport au blanc réactif.

La coloration est stable pendant une heure.

c) Calcul de la concentration

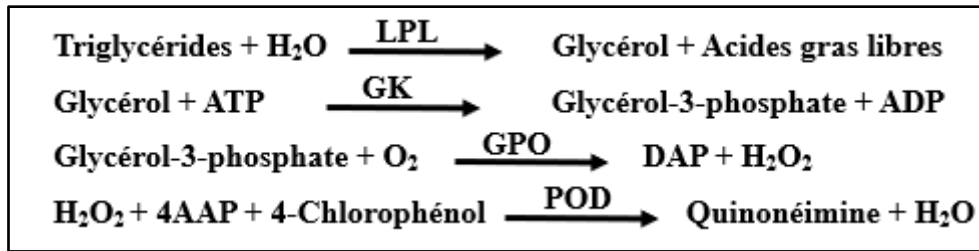
$$\text{Cholestérol (mg/dl)} = \frac{\Delta A_{(Ech)}}{\Delta A_{(Cal)}} \times C_{(Cal)}$$

- Où : $C_{(cal)}$ = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

6. Dosage des triglycérides (TG)

a) Principe

La série de réactions impliquées dans le système de dosage (Cole *et al.*, 1997) est la suivante :



Les triglycérides sont hydrolysés par hydrolyse enzymatique par la lipase en acides libres et en glycérol. Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) avec le glycérol kinase (GK) pour produire le glycérol-3-phosphate et l'adénosine diphosphate (ADP). Le glycérol-3-phosphate est oxydé en di-hydroxy-acétone phosphate (ADP) par le glycérol phosphate oxydase produisant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Dans une réaction colorée de type Trinder catalysée par la peroxydase, le H₂O₂ réagit avec la 4-aminoantipyrine (4AAP) et le 4-chlorophénol pour produire un colorant de couleur rouge. L'absorbance de ce colorant est proportionnelle à la concentration présente dans l'échantillon.

b) Le mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon (Cal)	Echantillon
Réactif de travail	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Echantillon	-	-	0,01 ml
Etalon (Cal)	-	0,01 ml	-
Eau distillé	0,01 ml	-	-

- Mélanger et incuber 10 min. à 37°C. Mesurer l'absorbance de l'échantillon $A_{(Ech)}$ et de l'étalon $A_{(Cal)}$ par rapport au blanc réactif.
- La coloration est stable pendant une heure.

c) Calcul de la concentration

$$\text{Triglycérides (mg/dl)} = \frac{\Delta A_{(Ech)}}{\Delta A_{(Cal)}} \times C_{(Cal)}$$

- Où : $C_{(cal)}$ = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

7. Dosage de HDL-c

a) Principe

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

b) Mode opératoire

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

R (µl)	100
Echantillon (ml)	1.0

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

c) Calcul de la concentration : La concentration des HDL c'est calculé par la réaction suivante :

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

8. Dosage des LDL-c

La formule de **Friedewald (1972)** permet de calculer le taux LDL-c selon la formule suivante :

$$\text{LDLc} = \text{CT} - ((\text{TG}/5) + \text{HDLc})$$

Où,

- **LDL-c**: low density lipoprotein cholesterol.
- **CT** : cholestérol total.
- **TG** : triglycérides.
- **HDLc**: high density lipoprotein cholesterol.

1- Dosage des protéines totales

a) Principe

Méthode de Biuret (*Cornall et al., 1949*). Les liaisons peptidiques de la protéine réagissent avec les ions cuivre II en solution alcaline pour former un complexe d'ions bleu-violet (la réaction dite du biuret), chaque ion cuivre se complexant avec 5 ou 6 liaisons peptidiques. Le tartrate est ajouté comme stabilisant tandis que l'iodure est utilisé pour empêcher l'auto-réduction du complexe de cuivre alcalin. La couleur formée est proportionnelle à la concentration en protéines et est mesurée à 546 nm.

b) Le mode opératoire

	Blanc réactif	Echantillon	Etalon (Cal)
Réactif R1	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Eau distillé	0,02 ml	-	-
Echantillon	-	0,02 ml	-
Etalon (Cal)	-	-	0,02 ml

- Mélanger et incubé pendant 10 minutes (en cas de procédure automatique, incubé pendant 5 minutes) incubation à l'obscurité.
- L'absorbance de l'échantillon A1 et de l'étalon (Cal) A2 par rapport au blanc réactif est lue à un intervalle de 30 minutes.

c) Calcul de la concentration

$$\text{Protéine Total (g/dl)} = \frac{A1}{A2} \times C (\text{Cal})$$

- Où, C(cal) = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument).

9. Dosage de créatinine

a) Principe

La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour produire une couleur rougeâtre (réaction de Jaffe), ceci est une réaction non spécifique et est donnée par de nombreuses autres substances. La spécificité du test a été améliorée par l'introduction d'une méthode cinétique, cependant, les antibiotiques céphalosporines sont encore des interférents majeurs. L'absorbance de la couleur jaune orangé formée est directement proportionnelle à la concentration en créatinine et est mesurée photométriquement à 490-510 nm (*Myers et al., 2006*).

b) Mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon (Cal)	Echantillon
Réactif de travail	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Echantillon	-	-	0,100 ml
Etalon (Cal)	-	0,100 ml	-
Eau distillé	0,100 ml	-	-

- Bien mélanger et lire l'absorbance initiale (**A1**) 30 secondes après le mélange et l'absorbance finale (**A2**) 60 secondes après le mélange.

c) Calcul de la concentration

$$(\Delta A = A2 - A1)$$

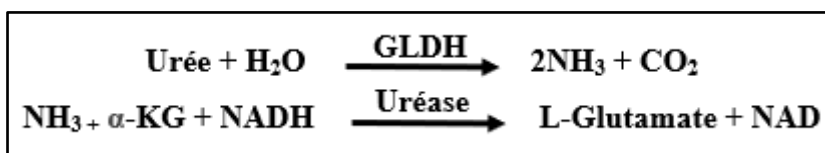
$$\text{Créatinine (g/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech})/\text{min} - \Delta A(\text{Bl})/\text{min}}{\Delta A(\text{Cal})/\text{min} - \Delta A(\text{Bl})/\text{min}} \times C(\text{Cal})$$

- Où, **C(cal)** = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

10. Dosage d'urée

a) Principe

La méthodologie enzymatique employée dans ce réactif est basée sur la réaction décrite pour la première fois par (**Talke et Schubert, 1965**). Pour raccourcir et simplifier le dosage. Les calculs sont basés sur la découverte de (**Tiffany *et al.*, 1972**) que la concentration d'urée est proportionnelle au changement d'absorbance sur un intervalle de temps fixe.



- L'urée est hydrolysée en présence d'eau et d'uréase pour produire de l'ammoniac et du dioxyde de carbone.

- b. En présence de glutamate déshydrogénase (**GLDH**) et de nicotinamide adénine dinucléotide (**NADH**) réduite, l'ammoniac se combine avec l'-cétoglutarate (α -KG) pour produire du L-glutamate.
- c. La réaction est surveillée en mesurant le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm lorsque le NADH est converti en NAD.

b) Mode opératoire

- Méthode à deux réactifs – substrat

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
Réactif 1	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Echantillon	-	-	0,010 ml
Etalon	-	0,010 ml	-
Eau distillé	0,010 ml	-	-

- Mélanger et après 5 min. incubation (à 37°C) ajouter :

Réactif 2	0.250 ml	0.250 ml	0.250
------------------	----------	----------	-------

- Mélanger et mesurer l'absorbance initiale après 30 sec (A1), démarrer le chronomètre simultanément et relire exactement après 1 min (A2). Mesurer par rapport au blanc réactif.
- Calculer le changement d'absorbance $\Delta A(\text{Ech}) = (A2 - A1) / \text{min.}$

d) Calcul de la concentration

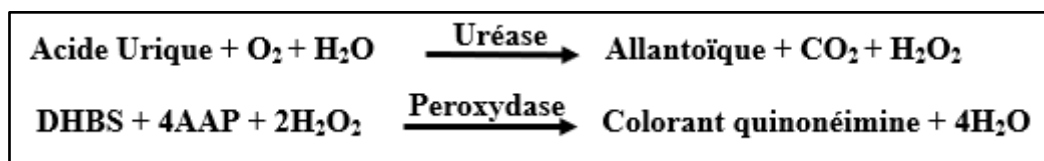
$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{\Delta A(\text{Ech}) - \Delta A(\text{bl})}{\Delta A(\text{Cal}) - \Delta A(\text{bl})} \times C(\text{Cal})$$

- Où, **C(cal)** = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument)

11. Dosage d'acide urique

a) Principe

La série de réactions impliquées dans le système de dosage (**Henry *et al.*, 1974**) est la suivante :



- L'acide urique est oxydé en allantoïne par l'uricase avec production de H₂O₂.
- Le peroxyde réagit avec la 4-aminoantipyrine (**4-AAP**) et le **DHBS** en présence de peroxydase pour donner un colorant quinonéimine.
- L'absorbance de ce colorant à 505 nm est proportionnelle à la concentration d'acide urique dans l'échantillon.

b) Mode Opérateur

- Méthode à deux réactifs – substrat

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
Réactif 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Echantillon	-	-	0,020 ml
Etalon	-	0,020 ml	-
Eau distillé	0,020 ml	-	-

- Mélanger et après 1-5 min. incubation lire l'absorbance initiale pour le blanc **A(bl)**, l'échantillon **A(Ech)** et l'étalon **A(Cal)**. Puis ajouter :

Réactif 2	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
------------------	--------	--------	--------

- Mélanger et après 1-2 min. incubation lire l'absorbance du blanc **A(bl)**, de l'échantillon **A(Ech)** et de l'étalon (étalon) **A(Cal)**.
- Calculer l'absorbance résultante comme la différence entre l'absorbance finale et initiale $A = (A_{\text{final}} - A_{\text{initial}})$.

c) Calcul de la concentration

$\text{Acide Urique } (\mu\text{Mol/L}) = \frac{\Delta A(\text{Ech}) - \Delta A(\text{bl})}{\Delta A(\text{Cal}) - \Delta A(\text{bl})} \times C(\text{Cal})$

- Où, **C(cal)** = concentration de l'Etalon (les Etalons sont calculés automatiquement par l'instrument).

Annexe 06 : Dosage des paramètres du stress oxydatif

1. Dosage des protéines :

- **Mode opératoire**

- Ajouter 5 ml de bleu brillant de Coomassie G250 à 0,1 ml de l'homogénat.
- Agiter le mélange pour assurer une homogénéité.
- Laisser le mélange à température ambiante pendant 5 minutes pour stabiliser la couleur.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon à 595 nm.
- Comparer l'absorbance de l'échantillon avec celle du blanc, qui contient la solution de tampon phosphate à la place de l'homogénat.
- Reporter les valeurs d'absorbance obtenues sur la courbe d'étalonnage établie préalablement dans des conditions similaires, en utilisant une solution mère d'albumine bovine sérique (1 mg/ml de BSA) comme standard.

2. Détermination de la malondialdéhyde (MDA) :

- **Mode opératoire**

- Prélever 375 μ l de l'homogénat.
- Ajouter 150 μ l de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Ajouter 375 μ l de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%).
- Agiter et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min.
- Prélever 400 μ l de surnageant. Puis ajouter 80 μ l d'HCl (0.6 M).
- Ajouter 320 μ l de solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM).
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.
- La densité optique a été enregistrée à $\lambda=530$ nm. L'absorbance est proportionnelle à la quantité de MDA formée, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

- **Calcul de la concentration**

La concentration du MDA est calculée selon la loi de **Beer-Lambert** (**DO = E.C.L**) :

$$C \text{ (nmol /mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

Où,

- **C** : Concentration de MDA en nmol/mg de protéines.
- **DO** : Densité optique lue à 530 nm.
- **ε** : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
- **L** : Longueur du trajet optique = 1 cm.
- **X** : Concentration d'échantillon en protéines (mg/ml).
- **Fd** : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

3. Détermination du taux de glutathion réduit (GSH) :

- **Mode opératoire**

- Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- Ajouter 0,2 ml de solution d'acide salicylique (0.25%).
- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/mn pendant 5 mn.
- Prélever 0,5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml de tampon Tris, pH 9,6.
- Mélanger et ajouter 0,025 ml d'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0,01M.
- Laisser pendant 5 mn à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

- **Calcul de la concentration**

La concentration du glutathion réduit est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nMol/mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times \text{L} \times 1.525}{13.1 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

Où,

- **D.O** : Densité optique.
- **L** : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- **1,525** : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant +1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- **13,1** : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- **0,8** : Volume de l'homogénat.
- **0,5** : Volume du surnageant.

4. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px) :

- **Mode opératoire**

- Prélever 0,2 ml de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 0,4 ml de GSH (0,1 mM).
- Ajouter 0,2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0,2ml de H₂O₂ (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0,48 ml du surnageant.
- Ajouter 2,2 ml de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0,32 ml de DTNB (1,0 mM).
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

- **Calcul de l'activité enzymatique de la GSH-Px**

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GSH-Px (nMol GSH/mg protéine)} = \frac{(\text{DO Echantillon} - \text{DO Etalon}) \times 0,04}{\text{DO Etalon}} \times \frac{5}{\text{mg de protéine}}$$

Où,

- **DO échantillon** : Densité optique de l'échantillon.
- **DO étalon** : Densité optique de l'étalon.
- **0,04** : Concentration de substrat (GSH).

5. Détermination de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)

- **Mode opératoire**

- Préparer un mélange de glutathion (GSH) et 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB).
- Maintenir la température à 37°C.
- Ajuster le pH à 6,5.
- Ajouter le mélange de GSH et CDNB à l'homogénat contenant les enzymes GST.
- Mesurer la variation de la densité optique à 340 nm pendant une minute, sur une période de cinq minutes.
- Soustraire la densité optique du blanc (contenant les réactifs sans l'homogénat) pour éliminer l'effet de la conjugaison spontanée du substrat.
- La variation mesurée reflète spécifiquement l'activité enzymatique de la GST dans les échantillons, contribuant à la compréhension des processus de conjugaison et de détoxification dans le métabolisme cellulaire.

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate (0.1M) pH 6.5	850	830
CDNB (0.02M)	50	50
GSH (0.1M)	100	100

Homogénat	-	20
-----------	---	----

- **Calcul de l'activité enzymatique de la GST**

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST (nMol CDNB /min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO Echantillon/min} - \text{DO blanc/min})}{9.6 \times \text{mg de protéine}}$$

Où,

- **DO (Echantillon)** : Densité optique de l'échantillon /min.
- **DO (Blanc)** : Densité optique du blanc /min.
- **9.6** : Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

6. Détermination de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT):

- **Mode opératoire**

Le mode opératoire se déroule selon les étapes présentées dans le tableau suivant :

Réactifs	Zéro (μL)	Blanc (μL)	Essai (μL)
Tampon phosphate (0.1M) pH 7.4	1000	800	780
H ₂ O ₂ (0.5M)		200	200
Homogénat		-	20

- Les absorbances sont enregistrées avec un délai de 15 secondes et pendant une période de mesure de 60 secondes.

- **Calcul de l'activité enzymatique de la catalase**

L'activité catalytique est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT (}\mu\text{moles d'H}_2\text{O}_2 \text{ /min/mg de protéine)} = \frac{\Delta\text{DO}}{\varepsilon \times l \times X \times \text{Fd}}$$

Où,

Annexes

- ΔDO : Variation de la densité optique par minute.
- ϵ : Coefficient d'extinction d' H_2O_2 ($0,043 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).
- l : Largeur de la cuve.
- X : Quantité de protéines en mg/ml.
- Fd : Facteur de dilution pour le H_2O_2 dans la solution tampon.