

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE D'AGRONOMIE ENSA EL-HARRACH

Thèse

**En vue de l'obtention du diplôme de
DOCTORAT EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

THEME

**Effets de l'ingestion des huiles d'olive et d'argan
enrichies en lycopène de tomate sur les
paramètres fonctionnels et structuraux chez le rat
de souche Wistar**

Présenté par : Aziouz AIDOU

Devant le jury composé de :

BELLAL. M.M	Professeur	ENSA El-Harrach	Président
AMMOUCHE .A	Professeur	ENSA El-Harrach	Directeur de thèse
NOUANI. A	M.C.A	Univ. Boumerdes	Examinateur
MEZIOUG. D	M.C.A	USTHB	Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Dédicaces

A mes parents

A mes frères et sœurs

A ma femme

A mes filles

Rania, Marwa, Sirine et Hanane

Remerciements

Je remercie le tout puissant de m'avoir donné le courage, la sagesse et la patience pour réaliser ce travail.

Afin de n'oublier personne, je tiens à remercier tous ceux qui ont participé, à titre professionnel ou personnel, à la réalisation de cette thèse.

Je voudrai adresser l'expression de ma gratitude, ma profonde sympathie ainsi que mes vifs remerciements,

A Monsieur Ammouche, A. Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique ENSA El-Harrach de m'avoir encadré et porté un intérêt à ce travail, aussi, pour ses encouragements et ses qualités humaines et intellectuelles, je le remercie bien vivement.

J'exprime mes respectueux dévouements à Monsieur BELLAL.M.M, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique ENSA El-Harrach, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider la commission d'examen de cette thèse.

A Madame Mezioug, D. Maître de conférence A à l'USTHB, Merci de me faire l'honneur de juger ce travail. Veuillez recevoir mes sincères remerciements.

A Monsieur Nouani, A. Maître de conférence A, à l'université de Boumerdes d'avoir accepté de juger et d'apporter ses conseils sur ce travail.

J'exprime toute ma gratitude à Mme Ana Beatriz Rodriguez Moratinos , Professeur au département de physiologie humaine à l'université d'Extremadura, Badajoz. Espagne. Ainsi que l'équipe de recherche en nanonutrition, notamment, Dr Maria Garrido, Dr Bravo Rafael ; Pr José António Rodriguez.

Table des matières

Résumé / Abstract

Liste des abréviations et acronymes

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction01

Première partie: Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Les caroténoïdes

1. Les caroténoïdes	05
1.1. Présentation générale	05
1.2. Les effets des antioxydants	05
1.3. Le lycopène	07
1.3.1. Description et source	07
1.3.2. La métabolisme du lycopène	09
1.3.3. Les effets du lycopène	11
1.3.3.1. Les maladies cardiovasculaires	11
1.3.3.2. Les cancers	12
1.3.3.3. Le lycopène et l'inflammation	13

Chapitre II : Les lipoprotéines

1. Définition des lipoprotéines	14
2. Structure des lipoprotéines	17
3. Classification des lipoprotéines	18
3.1. Chylomicrons (CM)	18
3.2. Lipoprotéines de très faible densité (VLDL)	18
3.3. Lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL)	18
3.4. Lipoprotéine de faible densité (LDL)	19
3.5. Lipoprotéine de haute densité (HDL)	19
3.6. Lipoprotéine (a) (Lp (a))	20
4. Caractéristiques des lipoprotéines	20
4.1. Caractéristiques chimiques	20
4.2. Caractéristiques physiques	21
4.2.1. Fluidité des lipoprotéines	21
5. Le métabolisme des lipoprotéines	24
5.1. La voie des lipides exogènes	24

5.2. La voie des lipides endogènes	25
5.3. Le transport inverse du cholestérol	26
5.4. La protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP)	28
5.5. Mécanisme de formation des particules LDL petites et denses	28

Chapitre III : L’Arganier ‘Argania Spinosa’

1. Historique	30
2. Caractères botaniques de l’arganier.....	30
2.1. Taxonomie de l’arganier.....	30
2.2. Description botanique de l’arganier	31
3. Aire et écologie de l’arganier	31
3.1. Aire et espace géographique	31
3.2. Facteurs climatiques	33
4. Rôles de l’arganier	33
5. Produits de l’arganier	33
5.1. Le bois	33
5.2. La pulpe	34
5.3. Les feuilles	34
5.4. Le tourteau	34
5.5. Le fruit	35

Chapitre IV : Huile d’Argan

1. Récolte des fruits	36
2. Procédés d’extraction de l’huile	37
2.1.Extraction traditionnelle	37
2.2. Extraction industrielle	37
3. Etude analytique de l’huile d’argan	38
3.1. Caractéristiques générales	38
3.2. Composition chimique	39
3.2.1. Fraction glycéridique	39
3.2.2. Fraction insaponifiable	41
3.2.2.1. Tocophérols	41
3.2.2.2. Stérols	43
3.2.2.3. Composés phénoliques	43
3.2.2.4. Alcools triterpéniques	44
3.2.2.5. Caroténoïdes	44
3.2.2.6. Squalène	44
4. Principales utilisations	46
4.1. Utilisation diététique	46
4.2. Utilisation en médecine traditionnelle	46

4.3. Utilisation en cosmétique	46
 Chapitre V : L’Huile d’Olive	
1. Définition	47
2. La technologie oléicole	47
2.1. La récolte des olives	47
2.1.1. Techniques de récolte traditionnelle	47
2.1.2. Techniques de récolte mécanique	48
2.2. Préparation de la pâte	49
2.2.1. Broyage	49
2.2.2. Malaxage	49
2.3. Extraction de l’huile	50
2.3.1. Séparation solide / liquide	50
2.3.1.1. Système de presse	50
2.3.1.2. Système de centrifugation horizontale	50
2.3.2. Séparation huile / eau	51
2.4. Raffinage	52
2.4.1. La neutralisation	52
2.4.2. La décoloration	52
2.4.3. La désodorisation	53
2.5. Les conditions de stockage de l’huile d’olive	53
3. Classification des huiles d’olive	53
3.1. Les huiles d’olive vierge	53
3.1.1. Les huiles d’olive vierges propres à la consommation en l’état	53
3.1.2. Les huiles d’olive vierges non propres à la consommation en l’état	54
3.2. L’huile d’olive raffinée	54
3.3. L’huile d’olive	54
4. Composition chimique de l’huile d’olive	54
4.1. Fraction saponifiable	54
4.1.1. Glycérides	54
4.1.2. Acides gras	55
4.2. Fraction insaponifiable	56
4.2.1. Les tocophérols	56
4.2.2. Stérols	57

4.2.3. Hydrocarbures	57
4.2.4. Les substances colorantes (pigments)	57
4.2.5. Les composés phénoliques	57
4.2.6. Autres composés mineurs	58
5. Les intérêts thérapeutiques	58
5.1. L'huile d'olive et les maladies cardiovasculaires	58
5.2. L'huile d'olive et le diabète	59
5.3. L'huile d'olive et l'appareil digestif	59
5.3.1. L'huile d'olive et l'estomac	59
5.3.2. L'huile d'olive et le système hépatobiliaire	59
5.3.3. L'huile d'olive et le pancréas	59
5.3.4. L'huile d'olive et les intestins	60
5.4. L'huile d'olive et l'ostéoporose	60
5.5. L'huile d'olive et la peau	60
5.6. L'huile d'olive et ses propriétés anti-oxydantes	61

Deuxième partie: Matériels et méthodes

1. Animaux et protocole expérimentale	62
1.1. Animaux	62
1.2. Protocole expérimental	62
1.3. Préparation des régimes	63
2. Etudes expérimentale	66
2.1. Prélèvement sanguin	66
2.2. Prélèvement des organes	66
2.3. Analyses biologiques	66
2.3.1. Dosage des paramètres sériques	66
2.3.1.1. Le cholestérol total	66
2.3.1.2. Le cholestérol HDL	67
2.3.1.3. Le cholestérol LDL	68
2.3.1.4. Dosage des triglycérides	68
2.3.2. Dosage plasmatique des transaminases ASAT/ALAT	70
2.3.2.1. Dosage de l'activité de l'ALAT	70
2.3.2.2. Dosage de l'activité de l'ASAT	71

2.3.2.3. Dosage de l'activité enzymatique de la PAL	71
2.4. Préparation du tissu et mesure de l'indice hépato-somatique	72
2.5. Caractéristiques physico-chimiques et profil des acides gras	
des huiles expérimentales	72
2.5.1. Les paramètres physico-chimiques	72
2.5.2. Profil des acides gras des huiles par chromatographie	
en phase gazeuse	72
2.5.2.1. Extraction des lipides totaux	72
2.5.2.2. Méthylation des extraits lipidiques	73
2.5.2.3. Conditions opératoires de la chromatographie en phase gazeuse	73
2.5.2.4. Identification par les étalons des acides gras estérifiés	73
2.5.2.5. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée	
à la spectrophotométrie de masse	74
2.6. Détermination des composants mineurs des huiles expérimentées	74
2.6.1. Principe	74
2.6.2. Appareillage	74
2.6.3. Préparation de l'échantillon	75
2.6.4. Analyse HPLC	75
2.7. Analyse statistique des résultats	76

Troisième partie: Résultats et Discussions

Résultats et discussions	77
Conclusion	100
Références bibliographiques	

Abstract

Lycopene has the highest antioxidant activity within carotenoids and is an effective free radical scavenger. Virgin olive oil (VOO) and argan oil (AO) contain trace amounts of a wide variety of phytochemicals which have desirable nutritional properties. The present study intended to assess the effect of various dietary VOO and AO in combination with lycopene consumption on serum biochemical parameters, including total cholesterol (TC), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), triglycerides (TGs), phospholipids, and on some hepatic enzymes (ALAT, ASAT and PAL) and hepatosomatic index (HSI) of rats, as well as on the fat acids profile of the liver of the rats.

Results showed that ingestion of VOO and AO diminished TC, LDL-C, TGs and phospholipid levels, whereas the HDL-C levels augmented in all the groups assayed. The enrichment of VOO and AO with lycopene improved the beneficial effects derived from the consumption of both oils on serum biochemical parameters. A decrease in ASAT, ALAT, PAL and also in body weight gain and HSI was detected after the consumption of lycopene-enriched oils. A significant decrease of the hepatic SFA in both groups VOO and AO consumed in combination with lycopene.

These findings suggest that the inclusion of lycopene in VOO and AO may be used as a natural tool to fight against hyperlipidaemic and hypercholesterolaemic derived disorders. and also against the hepatic cells damage.

Résumé

Lycopène a la plus haute activité antioxydante des caroténoïdes et capable d'agir et d'éliminer les radicaux libres. L'huile d'olive vierge (HOV) et l'huile d'argan (HA) contiennent des traces d'une large variété des éléments phytochimiques ayant des propriétés nutritionnelles désirables. La présente étude vise à évaluer les effets de l'ingestion de divers régimes alimentaires à base des HOV et HA en combinaison avec le lycopène sur les paramètres biochimiques sériques à savoir CT, HDL-C, LDL-C, TG et Phospholipides ainsi que ses effets sur le gain de poids, l'indice hépatosomatique et le profil en acides gras hépatique des rats mâles albinos de souche wistar.

Les résultats obtenus montrent que l'ingestion de HOV et HA diminue les niveaux de CT, LDL-C, TG et les phospholipides, par ailleurs, le niveau des HDL-C augmente dans tous les groupes expérimentaux. L'enrichissement des HOV et HA avec le lycopène montre des effets bénéfiques sur les paramètres biochimiques sériques, suite à la consommation de ces deux huiles. Une diminution significative est enregistrée dans le taux de l'ALAT, l'ASAT, PAL, le gain de poids et l' IHS. Aussi, une baisse significative des AGS hépatiques dans les deux groupes HOV et HA enrichies en lycopène de tomate.

Ces résultats suggèrent que l'inclusion de lycopène dans HOV et HA peut être utilisée comme un produit naturel pour lutter contre les problèmes d'hyperlipidémie, d'hypercholestérolémie et les dommages du tissu hépatique.

Liste des abréviations et des acronymes

AAL : Acide alpha linoléique
AG : Acide gras
AGE : Acide gras essentiel
AGI : Acide gras insaturés
AGL : Acide gamma - linoléique
AGMI : Acides gras mono-insaturés
AGPI : Acides gras poly-insaturés
AGS : Acides gras saturés
AL : Acide linoléique
ALAT : Alanine Amino-Transférase
AO : Argan Oil
ASAT : Aspartate Amino-Transférase
BCMO : béta-carotene 15,15'-monooxygénase
CETP : Protéine de transfert des esters de cholestérol
CG/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
CM : Chylomicron
COI : Conseil oléicole internationale
CPG : Chromatographie Phase Gazeuse
CSF : Cyanid sensitive factor
CT : Cholestérol Total
DHA : Acide Docosahexaénoïque
DO : Densité Optique
EPA : Acide eicosapentaénoïque
ERO : espèces réactives de l'oxygène
HA : Régime à base de l'Huile d'argan
HA+Lyc : Régime à base de l'huile d'argan enrichie en lyopène
HDL : Lipoprotéine de haute densité
HF : Hypercholestérolémie familiale
IDL : Lipoprotéine de densité intermédiaire
LCAT : Lécithine cholestérol acy-transférase
LDL : Lipoprotéine de faible densité
LE : Lipase endothéliale
LH : Lipase Hépatique
Lp(a) : Lipoprotéine (a)
LPL : Lipoprotéine lipase
LT : Leucotriène
MCV : Maladies cardio-vasculaires
PG : Prostaglandines
PGE : Prostaglandines E
PAL : Phosphatase Alcaline
PL : Phospholipides
VLDL : Lipoprotéine de très faible densité
VOO : Régime à base de l'Huile d'olive vierge
VOO+Lyc : Régime à base de l'huile d'olive vierge enrichie en lycopène
T : Témoin
sPLA₂ : Phospholipase A2 sécrétée
SPM : Syndrome prémenstruel
TG : Triglycérides

ω-3 : Oméga - 3

ω -6 : Oméga - 6

ω -9 : Oméga – 9

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1 : Teneur de fruits et légumes en lycopène	08
Tableau 2 : Teneur en lycopène de produits issus de la transformation des tomates.....	08
Tableau 3 : Quantité de lycopène en fonction des tissus	09
Tableau 4 : Différents types d'apolipoprotéines et leurs fonctions physiologiques	15
Tableau 5 : Composition chimique des lipoprotéines plasmatiques chez des sujets normolipidémiques	20
Tableau 6 : Caractéristiques physiques des lipoprotéines plasmatiques chez des sujets Normolipidémiques	21
Tableau 7 : Anisotropie de fluorescence des HDL déterminée par la fluorescence de polarisation	23
Tableau 8 : Caractéristiques physicochimiques et organoleptiques de l'huile d'argan extraite de manière traditionnelle ou industrielle et de l'huile d'olive.....	38
Tableau 9 : Composition en acides gras de l'huile d'argan	40
Tableau 10 : Composition en acides gras de l'huile d'argan et de différentes huiles végétales	41
Tableau 11 : Composition chimique en tocophérols, stérols et composés phénoliques de l'huile d'argan et de l'huile d'olive.....	42
Tableau 12 : Principaux triglycérides de l'huile d'olive	55
Tableau 13 : Composition en acides gras de l'huile d'olive	55
Tableau 14 : Composition du régime alimentaire des rats (g/100 g d'aliments).	64
Tableau 15 : Analyse de la composition en acides gras des huiles utilisées.....	65
Tableau 16 : Composition composés mineurs de l'huile d'argan (HA) et de l'huile d'olive vierge (HOV).	79
Tableau 17 : Gain de poids des différents groupes de rats supplémentés par les différents régimes alimentaires	82
Tableau 18 : Evolution des poids hépatiques et l'IHS en fonction des différents régimes.....	84
Tableau 19 : Composition en acides gras (% AG totaux) des homogénats hépatiques de rats soumis à différents régimes alimentaires	99

Listes des figures

	Page
Figure 1 : Unité isoprénique.....	05
Figure 2 : La structure du lycopène	07
Figure 3 : Schéma de la possible voie métabolique du lycopène.....	10
Figure 4 . Structure d'une lipoprotéine	17
Figure 5 . La voie des lipides exogènes.....	25
Figure 6 . La voie des lipides endogènes.....	26
Figure 7 . Transport inverse du cholestérol.....	27
Figure 8 : Arganier 'Argania spinosa' (photo prise dans la ferme de l'ENSA)	32
Figure 9 : fruit de l'arganier 'Argania spinosa'	32
Figure 10 : Structure des saponines du tourteau de l'arganier	36
Figure 11 : Structure des tocophérols (a), stérols (b) et composés phénoliques de l'huile d'argan.....	45
Figure 12 : Structure d'un acide gras mono-insaturé : Acide oléique	56
Figure 13 : Structure d'un acide gras mono-insaturé : Acide linoléique	56
Figure 14 : Structure d'un acide gras mono-insaturé : Acide linoléique	56
Figure 15 : Concentration en composés mineurs des huiles expérimentées	78
Figure 16 : Evolution du poids corporel des rats supplémentés par les différents régimes	81
Figure 17 : Gain de poids final après 9 semaines de traitement par Les différents régimes	83
Figure 18 : L'Indice Hépatosomatique des différents groupes	84
Figure 19 : Effet de la supplémentation en lycopène sur le niveau du cholestérol total	86
Figure 20 : Effet de la supplémentation en lycopène sur la concentration des LDL-C sériques	88
Figure 21 : Effet de la supplémentation en lycopène sur les HDL-C sériques	89

Figure 22 : Effet de la supplémentation en lycopène sur la concentration en TG sériques.....	90
Figure 23 : Effet de la supplémentation en lycopène sur la concentration en phospholipides sériques des rats	93
Figure 24 : Effet de la supplémentation en lycopène sur l'activité enzymatique de l'ALAT sérique chez les rats.....	94
Figure 25 : Effet de la supplémentation en lycopène sur l'activité enzymatique de l'ASAT sérique chez les rats.....	95
Figure 26 : Effet de la supplémentation en lycopène sur l'activité enzymatique de la PAL sérique chez les rats.....	96
Figure 27 : Profil des Acides Gras des homogénats du foie de rats	97

Introduction

Les caroténoïdes représentent un ensemble de pigments naturels très répandus dans la nature : ils se trouvent dans les végétaux, les algues, les bactéries et les champignons. Les antioxydants les plus utilisés dans la supplémentation sont le β -carotène (provitamines A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), les polyphénols et le lycopène. Ceux-ci incluent les flavonoïdes (très répandus parmi les végétaux), les tanins (dans le cacao, le café, le thé, le raisin, etc.), les anthocyanes (notamment dans les fruits rouges) et les acides phénoliques (dans les céréales, les fruits et les légumes). Actuellement, le développement des aliments enrichis en antioxydants a révolutionné le domaine de la nutrition suite à l'effet synergique des composants phytochimiques présentant dans les denrées alimentaires, procurant ainsi des effets bénéfiques plus important que la supplémentation par un antioxydant isolé spécifique (Milde et al., 2007). En fait les directives diététiques actuelles recommandent la consommation de fruits et légumes qui constituent une source naturelle de composants phytochimiques (Mozaffarian and Ludwig., 2011).

Les progrès scientifiques soutiennent l'idée qu'il y a environ 10,000 composants phytochimiques avec des activités biologiques potentielles. Les caroténoïdes ont reçu une attention considérable en raison de leurs propriétés anti-oxydantes (Stahl and Sies., 2003). Quantitativement les plus importants caroténoïdes dans le régime alimentaire humain sont β -carotène, lycopène, lutein, β -cryptoxanthin et astaxanthin (Riccioni., 2009).

Le lycopène est le caroténoïde le plus répandu dans le régime Méditerranéen, étant abondant dans les fruits rouges comme la tomate et ses dérivés et d'autres fruits, y compris la pastèque, la papaye, la goyave, le pamplemousse et l'abricot (Maiani et al., 2009).

Le régime méditerranéen apporte probablement au régime alimentaire la plus grande quantité d'antioxydants pour sa grande diversité en fruits et légumes, aussi bien fraîches que transformés.

Le lycopène est un pigment considéré comme un antioxydant qui a une haute activité biologique dans l'organisme, parce qu'est capable d'agir et d'éliminer les radicaux libres qui génèrent le stress oxydatif en causant à long terme plusieurs maladies. Le lycopène est un pigment de haute activité antioxydante des caroténoïdes, agissant en synergie pour piéger les radicaux libres circulant dans le corps avant qu'ils n'exercent leurs effets dévastateurs (Omoni and Aluko., 2005). De nombreuses études épidémiologiques suggèrent que le lycopène pourrait fournir une protection importante contre les maladies cardiovasculaires et le cancer de la prostate (Canene-Adams et al., 2005 ; Voutilainen et al., 2006).

De plus, le lycopène est proposé pour prévenir la carcinogenèse et l'atherogenese en protégeant les biomolécules critiques incluant des lipides, lipoprotéines à basse densité (LDL), des protéines et l'ADN (Agarwal and Rao., 1998 ; Pool-Zobel et al., 1997).

Il est important de noter que l'absorption de ce caroténoïde alimentaire dépend de plusieurs facteurs comme le type de graisse alimentaire. Dans ce sens, Lee, Thurnham et Chopra (2000) a rapporté que la consommation de produits à base de tomate avec l'huile d'olive augmente significativement la capacité antioxydante du plasma, tandis qu'aucun effet n'a été observé quand l'huile de tournesol a été utilisée. De même, la consommation de produits alimentaires riches en lycopène préparés avec les acides gras monoinsaturés a été suggérée d'ajouter des effets bénéfiques contre l'insuffisance coronarienne (Ahuja et al., 2003). De façon importante, les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés (AGMI et AGPI, respectivement), quand consommé à la place des acides gras saturés, sont capables de réduire le cholestérol plasmatique (Richard et al., 2013).

L'huile d'olive vierge (HOV), la source principale en lipides alimentaires dans le régime méditerranéen, contient des teneurs importantes en AGMI, composés polyphénoliques, le squalène et α -tocophérol qui sont des molécules antioxydantes qui inhibent le stress oxydatif (Owen et al., 2000).

De nombreuses études sur des volontaires humains ont démontré que l'huile d'olive comparée à l'huile de graine, a la capacité de prévenir la peroxydation des lipides en raison de sa teneur élevée en AGMI (Mata et al., 1997). En fait, les aliments enrichis d'huile d'olive ont montré leurs efficacités dans la réduction du cholestérol total (TC) et le LDL-CHOLESTÉROL (LDL-C) que les traitements diététiques conventionnels qui ne contiennent pas de teneur importante en AGMI (Stark and Madar., 2002). L'huile d'argan (HA) est caractérisée par sa richesse en composés bioactifs, notamment, les acides gras polyinsaturés et monoinsaturés, les polyphénols, les tocophérols, les stérols et le β -carotène, qui sont connus comme de puissants antioxydants (Cabrera-Vique et al., 2012). Vu sa composition chimique, l'huile d'argan brute peut être efficace dans la réduction du cholestérol plasmatique et de niveau des LDL-C dans une population nourrie d'un régime hypercholestérolémique (Berrougui et al., 2003).

De la même façon HOV, HA contiennent une variété de molécules antioxydantes comme les phytostérols, les polyphénols et les tocophérols, qui peuvent aussi avoir des effets bénéfiques contre les troubles inflammatoires (Drissi et al., 2004).

Finalement, Benzaria et al (2006) a montré que les effets d'HA sur les cellules immunitaires sont très semblables à ceux d'HOV, suggérant que l'HA peut être utilisée comme un supplément diététique équilibrée sans effets indésirables marqués sur la fonction des cellules immunitaires.

Le présent travail a pour objectif d'étudier les effets de l'ingestion des régimes alimentaires à base d'HOV et HA en combinaison avec le lycopène de tomate sur quelques paramètres biochimiques sériques à savoir CT , HDL-C, LDL-C, TG et Phospholipides; ainsi que les effets de ces différents régimes sur quelques marqueurs hépatiques à savoir l'ALAT, l'ASAT et la PAL. Aussi, l'impact de ces régimes sur le gain de poids et l'indice hépatosomatique des rats males albinos de souche wistar.

Chapitre I
Les caroténoïdes

1. Les caroténoïdes

Très présents dans notre alimentation, les caroténoïdes sont des micronutriments produits principalement par des végétaux mais aussi par quelques organismes photosynthétiques. Ces caroténoïdes sont des pigments naturels de couleur rouge, orange, jaune qui présentent certains effets bénéfiques sur de nombreuses pathologies dont les maladies cardiovasculaires et certains types de cancers (Rao *et al.*, 2007).

1.1. Présentation générale

Les caroténoïdes appartiennent à la famille des terpénoïdes ou isoprénoïdes. Il s'agit de substances naturelles, d'origine végétale, très abondantes, comprenant plus de 22000 composés. La structure de base de ces composés est l'unité isoprénique (figure 1), un squelette carboné constitué de 5 carbones.

On dénombre plus de 600 caroténoïdes à ce jour dans la nature. Parmi ces 600, une cinquantaine sont présents dans notre alimentation, et seulement 6 sont retrouvés majoritairement dans le plasma humain : le lycopène, le β -carotène, l' α -carotène, la lutéine, la γ -cryptoxanthine et la zéaxanthine (Tapiero *et al.*, 2004).

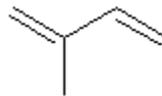


Figure 1: Unité isoprénique.

1.2. Les effets anti-oxydants

Une des propriétés remarquable des caroténoïdes est leur pouvoir anti-oxydant. De nombreuses activités cellulaires (fonctionnement mitochondrial, activité des cytochromes P450, peroxydation lipidique...) génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ERO) : anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) qui conduit lui-même à la formation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ou radical hydroxyle (OH^{\bullet}) (Valko *et al.*, 2007; Opara *et al.*, 2006 ; Seifried *et al.*, 2007). Sous l'effet de la lumière UV, l' O_2 peut également conduire à la formation d'oxygène singulet (1O_2). Ces ERO réagissent à leur tour avec les molécules organiques pour générer des radicaux alkoxy (RO^{\bullet}) et peroxy (ROO^{\bullet}). C'est en effet une conséquence du métabolisme aérobie puisque 1 à 3 % de l'oxygène consommé est directement converti en ERO. Ces composés sont impliqués dans différent processus physiologiques classiques

(réponse à des facteurs de croissance, signalisation cellulaire, réponse immunitaire, apoptose...). Toutefois lorsqu'ils sont présents à forte concentration, ces composés peuvent endommager les protéines cellulaires, les lipides membranaires et peuvent générer également des adduits avec l'ADN. Ils semblent ainsi être impliqués dans la cancérogenèse, les maladies cardiovasculaires et d'autres maladies dégénératives de types oculaire ou neurodégénératif.

Afin de lutter contre ces ERO, plusieurs systèmes antioxydants existent : des systèmes enzymatiques tels que la catalase, la glutathion peroxydase ou la superoxyde dismutase, mais également des systèmes non enzymatiques : glutathion, protéines dotées de groupements également thiols, ainsi que des vitamines (E et C) et des microconstituants anti-oxydants issus des végétaux.

Les effets anti-oxydants des microconstituants végétaux proviennent de la réactivité de groupements hydroxyles, comme pour les polyphénols, ou du système de doubles liaisons conjuguées dans le cas des caroténoïdes.

Les caroténoïdes protègent principalement contre l'oxydation générée par deux ERO : les radicaux peroxyles (ROO) et l'oxygène singulet. Le piégeage de l'espèce radicalaire est un mécanisme physique durant lequel l'énergie d'excitation de l'oxygène singulet est absorbée et répartie le long des doubles liaisons de la molécule. L'excès d'énergie est ensuite dissipé sous forme de chaleur permettant ainsi à la molécule son retour à l'état énergétique initial (Sies et al., 2004). Cependant, la demi-vie des caroténoïdes peut être assez faible en fonction des nombreux facteurs externes dont la pression partielle en oxygène, la concentration, la structure, la localisation et l'interaction avec d'autres caroténoïdes ou anti-oxydants (Young et al., 2001). De part ce fait, leur statut anti-oxydant peut rapidement passer à celui de prooxydant. C'est ce qu'ont démontré Burton et Ingold en 1984 (Burton et al., 1984). Dans cette étude, ils ont mis en évidence que le β -carotène, à très haute pression en oxygène (700 torr versus 40 à la normale) et à forte concentration (supérieure à 500 μ M), se comportait comme un pro-oxydant. Cependant, il est important de noter que ce résultat a été obtenu in vitro et dans des conditions non physiologiques.

Parmi ces caroténoïdes, deux se distinguent par leur importance quantitative dans notre alimentation, mais également de part leur impact sur notre santé qui a fait et fait l'objet de nombreuses études ou encore leur fort pouvoir antioxydant : le lycopène et le β -carotène.

1.3. Le lycopène

1.3.1. Description et source

Le lycopène appartient à la famille des caroténoïdes non pro-vitaminiques A. C'est le pigment responsable de la couleur rouge, orange de certains végétaux. Il est synthétisé par les plantes et des micro-organismes mais pas par l'homme ou les animaux. Il possède une structure non cyclique dont la formule moléculaire est $C_{40}H_{56}$ (figure 2) et de poids moléculaire de 536,85 Da. Sa structure est linéaire et comprend 11 doubles liaisons conjuguées et 2 non conjuguées.

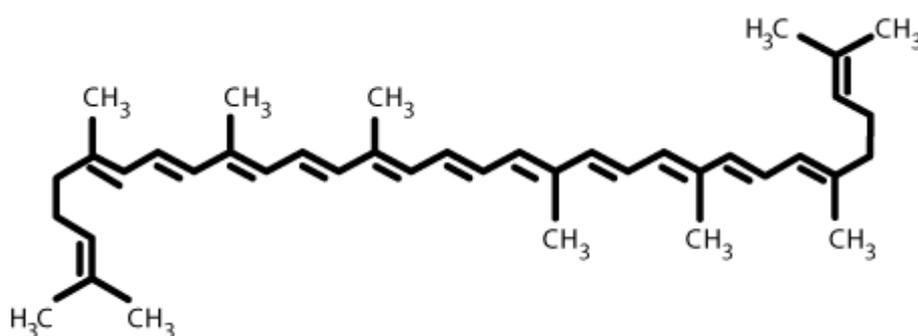


Figure 2 : La structure du lycopène

Le lycopène est un composé lipophile donc insoluble dans l'eau. Il existe plusieurs isomères dont les deux formes majoritaires sont le all-trans et le 5-cis lycopène. Le all-trans est la forme majoritaire présente dans les végétaux. Le 5-cis est quant à lui la forme majoritaire retrouvée dans le plasma et dans certains tissus cibles (Rao et al., 2006).

Le lycopène est présent dans certains fruits et légumes dont les teneurs (Krinsky et al., 2005) pour quelques exemples sont représentées sur le tableau 1 et 2.

Tableau 1 : Teneur de fruits et légumes en lycopène.

Fruits et légumes	Lycopene (µg/ g de matière fraîche)
Tomate crue	8,7-42,0
Pastèque	23,0-72,0
Papaye	20,0-53,0
Abricot	<0,1
Goyave	54,0
Pamplemousse	33,6

ou pour des produits issus de la transformation de la tomate (tableau 1).

Tableau 2 : Teneur en lycopène de produits issus de la transformation des tomates.

Aliments	Teneur en lycopene (mg/100g de matière fraîche)
Purée de tomate	16,7
Sauce tomate	15,9
Soupe de tomate	10,9
Jus de tomate	9,3
Tomate cuite	4,4

Le lycopène, une fois ingéré, va être intégré dans les micelles mixtes et absorbé dans les entérocytes par diffusion passive mais également via un processus actif. En effet, Moussa et al., (2008) ont montré que le récepteur scavenger B1 (SRB1) était impliqué dans l'absorption du lycopène par les cellules intestinales humaines mais aussi chez la souris (Moussa et al., 2008). Il est ensuite incorporé dans les chylomicrons qui vont gagner le système lymphatique pour être transportés dans le foie. Le lycopène est ensuite transporté par des lipoprotéines (VLDL) dans le plasma pour être redistribué vers les organes utilisateurs et/ou de stockage. Parmi ces organes, les testicules accumulent une grande quantité de lycopène (tableau 5). Aussi, le tissu adipeux est un organe qui accumule une grande quantité de lycopène (Chung et al., 2009).

Tableau 3 : Quantité de lycopène en fonction des tissus (Agarwal *et al.*, 2000).

<i>TISSUS</i>	Moyenne de lycopène en nmol/g
Testicules	4,34-21,36
Rate	NA
Glande surrénale	1,9-21,6
Foie	1,28-5,72
Prostate	0,8
Sein	0,78
Pancréas	0,7
Poumon	0,22-0,57
Cœur	NA
Rein	0,15-0,62
Colon	0,31
Peau	0,42
Ovaire	0,3
Estomac	0,2
Cerveau	ND

1.3.2. Le métabolisme du lycopène

Deux enzymes semblent impliquées dans la métabolisation *in vitro* et *in vivo* du lycopène, la bêta-carotène 15,15'-monooxygénase 1 (BCMO1) et la bêta-carotène 15,15'-monooxygénase 2 (BCMO2). La contribution relative de chacune et leur activité respective sur le lycopène restent cependant à préciser. Ces deux enzymes sont surtout bien connues pour cliver respectivement de façon symétrique et asymétrique le β -carotène, aboutissant à la formation d'acide rétinoïque et d'apo-caroténals. Ces effets seront détaillés dans le chapitre portant sur le β -carotène.

Il existe très peu de données à ce jour concernant BCMO1 et son activité sur le lycopène semble très réduite. Il a été montré chez *E. Coli* qu'une expression de BCMO1 (ou de BCMO2) conduisait à une perte de la coloration du lycopène, suggérant sa dégradation, mais que ce changement était beaucoup moins important qu'en présence de β -carotène. Lindqvist et Andersson en 2002 ont mis en évidence que cette enzyme catalysait le clivage du β -carotène et de la β -cryptoxanthine au niveau de la double liaison centrale 15, 15' mais que cette activité n'a pas été du tout reproduite avec le lycopène, remettant ainsi fortement en cause la contribution de BCMO1. Des études plus approfondies révèlent l'existence d'une activité catalytique sur le lycopène par BCMO2. Ainsi, Hu et al en 2006 ont montré qu'une surexpression de BCMO2 chez le furet permettait la détection de métabolites dont l'apo 10' lycopenal et du 13 cis apo 10' lycopenal après incubation avec le 5-cis lycopène mais pas avec le all-trans lycopène (Hu et al., 2006). Sur la base de ces résultats, les auteurs ont proposé une voie métabolique possible du lycopène (Figure 3). Les résultats sur la conversion du 5-cis lycopène en apo-lycopenal ont été confirmés *in vivo* chez le furet, un animal chez qui le métabolisme des caroténoïdes est proche de celui de l'Homme.

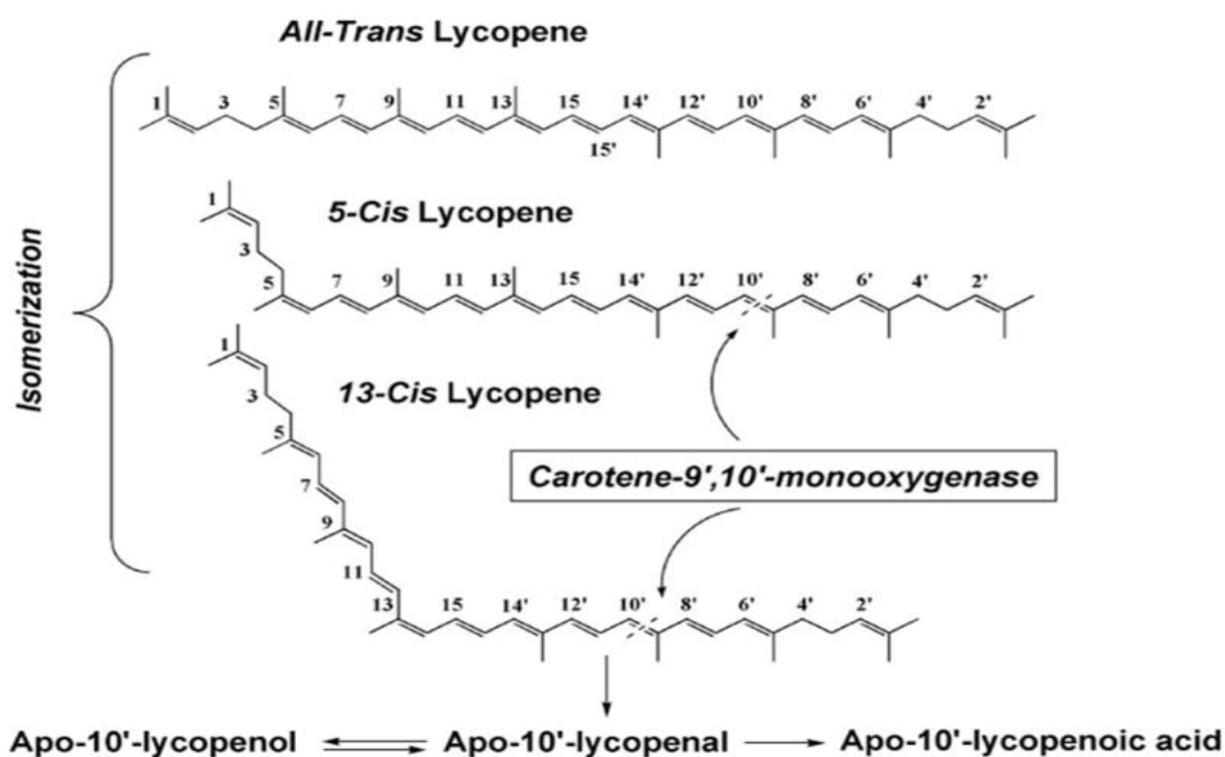


Figure 3 : Schéma de la possible voie métabolique du lycopène. (Hu *et al.*, 2006).

La présence d'autres métabolites, l'apo-8'-lycopenal et l'apo-12'-lycopénal, a été démontrée dans le foie de rat suite à un régime riche en lycopène (Gajic et al., 2006).

L'identification de ces métabolites a ensuite débouché sur des études portant sur leurs effets biologiques. Parmi celles ci, l'étude de Lian et Wang a montré que l'acide apo 10' lycopénoïque permet l'accumulation du facteur de transcription NF-E2-related factor-2 (Nrf2) dans le noyau de façon dose et temps dépendants, aboutissant à l'induction de la phase II de détoxification (Lian et al., 2008). Ces effets sur Nrf2 suggèrent des fonctions anticarcinogènes de ce métabolite. Précédemment, la même équipe en 2007 avait mis en évidence des effets inhibiteurs de ce composé sur la croissance de cellules cancéreuses du poumon in vitro mais aussi une diminution de la tumorigenèse dans un modèle de souris in vivo (Lian et al., 2007). Ces effets sont médiés par une inhibition du cycle cellulaire mais aussi d'une transactivation du récepteur aux acides rétinoïques (RAR). Enfin, un autre métabolite du lycopène, le (E,E,E)-4-methyl-8-oxo-2,4,6-nonatrienal peut induire l'apoptose de cellules HL- 60 (Zhang et al., 2003).

Ainsi, si la voie du métabolisme du lycopène n'est pas encore complètement connue, ces études ont montré qu'il existait de nombreux métabolites actifs. Ces derniers sont capables d'influencer plusieurs processus cellulaires et présentent des effets bénéfiques sur certaines pathologies.

1.3.3. Les effets du lycopène

Les effets bénéfiques du lycopène ont été rapportés vis-à-vis de plusieurs pathologies, principalement les maladies cardiovasculaires ainsi que sur plusieurs types de cancers, soit par l'intermédiaire d'études épidémiologiques, soit par l'intermédiaire d'études in vivo et/ou in vitro.

1.3.3.1. Les maladies cardiovasculaires

L'étude EURAMIC (EUROpean multicenter case-control study on Antioxidants, Myocardial infarction, and Breast Cancer), l'une des études les plus importantes en terme de nombre de personnes recrutées, a permis de mettre en évidence les effets bénéfiques du lycopène sur les maladies cardiovasculaires. Cette étude réalisée entre 1991 et 1992 sur une cohorte comprenant 686 hommes et 339 femmes d'origine européenne ou d'Israël (Virtanen et al., 2009) avait pour but d'évaluer les liens existants entre les concentrations de certains caroténoïdes (lycopène, α et β -carotène et rétinol) dans le tissu adipeux et le risque de

maladies cardiovasculaires. Les résultats démontrent que le lycopène est le seul caroténoïde dont l'effet protecteur persiste de manière indépendante, après prise en compte des autres facteurs de risque cardiovasculaire. Cette étude a également montré que le taux de lycopène diminuait avec l'âge (de 15% tout les 10 ans).

Parallèlement, des études *in vitro* ont également mis en évidence les effets bénéfiques du lycopène et ont permis de faire émerger des pistes explicatives. Ainsi, l'effet protecteur du lycopène sur l'oxydation des LDL natifs a été avancé de même qu'une diminution de la synthèse du cholestérol (Dugas et al., 1998 ; Fuhrman et al., 1997).

1.3.3.2. Les cancers :

Plusieurs études épidémiologiques ont suggéré qu'un régime riche en variété de fruits et légumes permettait une diminution des risques de cancers (Giovannucci., 1999). Plus précisément, il existe un lien entre une forte consommation de tomates (ou en produit dérivés de la tomate) et une réduction significative de la mortalité due aux cancers, notamment ceux de la prostate, du poumon, de l'estomac, du colon, du rectum (Giovannucci et al., 1995, 1999, 2002). Ces résultats ont servi de base à d'autres études cherchant à expliquer ce lien. Ainsi, des études *in vitro* ont permis de mettre en évidence plusieurs mécanismes. Kim et al ont montré en 2002 que le lycopène inhibe la prolifération de cellules de cancer de prostate humaine LNCaP en culture (Kim et al., 2002). Il a également été montré qu'à dose physiologique, le lycopène pouvait inhiber la croissance cellulaire en interférant avec la signalisation du récepteur de facteur de croissance d'un côté et le cycle cellulaire de l'autre et cela sans effet apoptotique (Heber et al., 2002). Ces résultats ont été confirmés *in vivo* : un régime à base de sauce tomate, apportant 30mg par jour pendant 3 semaines, chez des hommes présentant un adénocarcinome de la prostate localisé a conduit à une diminution des dommages à l'ADN au niveau des biopsies (Bowen et al., 2002). De nombreuses études sur des modèles animaux ont permis d'arriver aux mêmes conclusions.

D'autres mécanismes ont été démontrés dans d'autres modèles cellulaires. Ils ont permis la mise en évidence d'une voie d'action ne reposant pas sur son pouvoir anti-oxydant, mais sur sa capacité à réguler l'expression génique. Ces effets ont été étudiés sur différents modèles, principalement de cancer. Ainsi, il a été mis en évidence un renforcement des jonctions cellulaires via une augmentation de l'expression de la connexine 43 par le lycopène (Stahl et al., 2000). L'effet de ce caroténoïde sur le cycle cellulaire via certaines cyclines dont la cycline D a été confirmé sur un modèle de cancer du sein (Nahum et al., 2001).

Ce caroténoïde est également capable de diminuer l'expression des métalloprotéinase 2 et 9 (MMP-2, MMP-9), des protéines jouant un rôle dans la dissémination métastatique dans un modèle de carcinome hépatique ou encore d'augmenter l'expression du gène suppresseur de tumeur Nm23-H1 (Huang et al., 2005 ; 2007). Enfin, une autre étude, utilisant des microarrays a montré également sa capacité à réguler des gènes dans des cellules cancéreuses de sein (Chalabi et al., 2007).

1.3.3.3. Le lycopène et l'inflammation :

L'impact du lycopène sur ces pathologies a permis d'élargir le champ d'investigation. Ainsi, outre sa capacité à réguler un certain nombre de gènes, récemment, des études ont mis en évidence la capacité du lycopène à prévenir le phénomène inflammatoire.

Ces effets ont été mis en évidence dans plusieurs types cellulaires, aussi bien *in vitro* (Saedisomeolia et al., 2009) qu'*in vivo* (Joo et al., 2009 ; Bignotto et al., 2009). Il est intéressant de noter que les macrophages, qui sont des acteurs majeurs au processus inflammatoire, voient leurs capacités sécrétoires modulées par ce caroténoïde en condition de stress inflammatoire. En effet, l'augmentation de marqueurs de l'inflammation comme l'IL-6 après une incubation de LPS est diminuée par un traitement au lycopène (Feng et al., 2010). Dans cette même étude, les auteurs ont démontré que certaines voies de signalisation majeures de l'inflammation dont NF- κ B étaient impliquées dans cet effet. Une autre étude sur des cellules endothéliales stimulées par du TNF- α a montré un effet similaire sur la voie NF- κ B (Hung et al., 2008). Cette capacité anti inflammatoire a permis d'ouvrir d'autres pistes explicatives en rapport avec les effets connus du lycopène. Le lycopène est donc maintenant reconnu pour ses effets bénéfiques sur différents types cellulaires ou organes, et les mécanismes expliquant des effets commencent à être décryptés.

Chapitre II
Les Lipoprotéines

II. Les lipoprotéines

1. Définition des lipoprotéines

Au début du siècle, les chimistes ont caractérisé les lipides par leur insolubilité dans l'eau. Cependant, les lipides sanguins ne forment pas normalement d'émulsion dans le plasma et réalisent au contraire, d'excellentes "pseudo-émulsions". C'est à Macheboeuf and Rbeyrotte., (1949) que revient le mérite de trouver une explication à ce phénomène en isolant la première association lipide-protéine. Depuis, tous les travaux scientifiques ont confirmé que les lipoprotéines sont des complexes macromoléculaires solubles qui représentent la seule forme de transport des différents lipides dans le sang et dans d'autres liquides biologiques (Titov., 1999).

Les composantes protéiques de ces lipoprotéines ont été appelées apolipoprotéines (apos). Ces dernières considérées comme la partie intelligente des lipoprotéines, participent aussi bien à la structure qu'aux différents processus du métabolisme des lipoprotéines. Elles interviennent dans le transport et la distribution des lipides et des substances liposolubles (vitamines, caroténoïdes, médicaments, etc.), dans les interactions lipoprotéine-récepteur et dans la régulation des enzymes impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines. Généralement, sept apolipoprotéines ont été identifiées dont les plus importantes sont l'apo A (AI, AII, AIV, AV), l'apo B (B48 et B100), l'apo C (CI, CII, CIII) et l'apo E (EI, EII, EIII) (Tableau 4).

Tableau 4 : Différents types d'apolipoprotéines et leurs fonctions physiologiques.

Apolipoprotéines	Poids moléculaire (daltons)	Fonction
AI	28300	Cofacteur activateur de la LCAT, enzyme assurant l'estérification du cholestérol
AII	17500	Protéine de structure des HDL, active la lipase hépatique
AIV	46000	Inconnue, peut être impliquée dans le transfert des lipides entre les lipoprotéines
AV	46000	Impliquée dans le métabolisme des triglycérides
B48	264000	Synthèse et transport des chylomicrons et des VLDL
B100	521000	Synthèse et transport des VLDL et des LDL reconnue par des récepteurs cellulaires des LDL
CI	6500	Activateur de la LCAT
CII	8900	Activateur de la lipoprotéine lipase
CIII	9000	Inhibiteur de la lipoprotéine lipase

D	22000	Rôle dans le métabolisme des esters du cholestérol dans le transfert des lipides entre les LP
E	34000	Reconnue par le récepteur cellulaire des LDL et dans la fixation des particules résiduelles formées lors du métabolisme des chylomicrons et des VLDL sur les récepteurs cellulaires hépatiques
Apo (a)	300 à 8000.10 ³	Facteur de risque indépendant de l'athérosclérose

2. Structure des lipoprotéines

Les lipoprotéines plasmatiques ont généralement une structure sphérique (Figure 4). Les divers composants lipoprotéiques sont distribués spatialement entre une région périphérique, la surface et une région centrale, le noyau (Titov., 1999).

On observe à la surface de ces lipoprotéines trois types de molécules qui se côtoient:

- les apolipoprotéines, peptides dont certaines parties sont très hydrosolubles ;
- le cholestérol non estérifié qui est faiblement hydrophile par sa fonction alcool secondaire libre ;
- les phospholipides dont le rôle est capitale aussi bien sur le plan structurel que métabolique. Les phospholipides s'orientent dans l'édifice macromoléculaire de manière à présenter leur groupement polaire vers l'extérieur de la lipoprotéine et leur chaîne grasse vers l'intérieur.

Par contre, au centre de la particule lipoprotéique se trouvent les deux substances nettement apolaires, les triglycérides et le cholestérol estérifié.

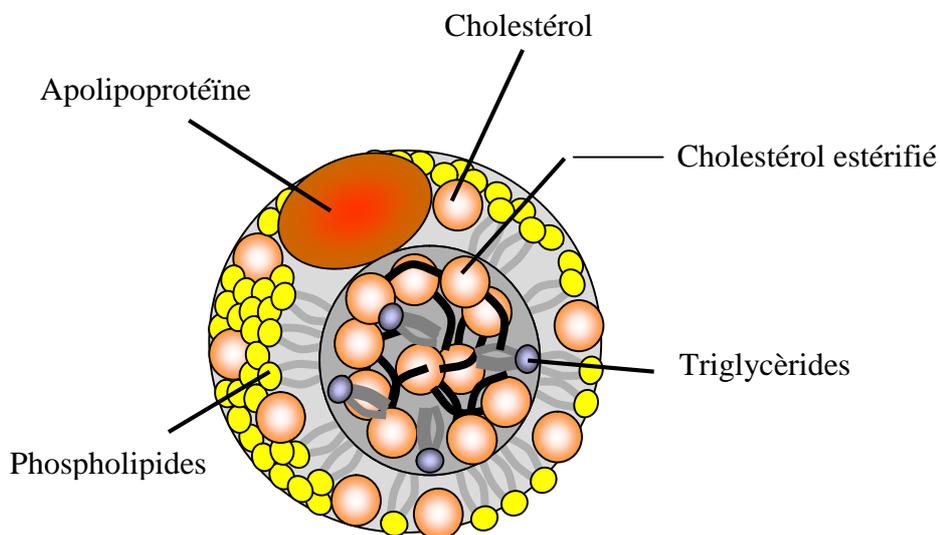


Figure 4 . Structure d'une lipoprotéine (Hunninghake., 1994)

3. Classification des lipoprotéines

Les lipoprotéines peuvent donc être divisées selon leurs propriétés physiques (taille et densité), mais aussi selon leur composition en lipides et protéines et selon leur fonction.

3.1. Chylomicrons (CM)

Les CM sont responsables du transport des lipides alimentaires des intestins aux tissus. Ils ont un diamètre variable de 800 à 5000 Å, une densité de 0.93 g/ml et ils sont composés d'environ 86% de TG, 3% d'EC, 2% de CL, 7% de PL et 2% de protéines. Une particule de CM contient normalement de l'apo A-I, A-II, A-IV, B-48, C-I, C-II, C-III et E. L'apo B-48 est nécessaire à l'assemblage du CM (Redgrave., 1999 ; Pownall and Gotto., 1999).

3.2. Lipoprotéines de très faible densité (VLDL)

Les VLDL sont fabriquées et sécrétées par le foie. Elles participent à la voie endogène des lipoprotéines, soit du foie vers les tissus périphériques. Ces particules, d'un diamètre variant de 300 à 700 Å et d'une densité de 0.95 à 1.010 g/ml, sont composées d'environ 55% de TG, 12% d'EC, 7% de CL, 18% de PL et 8% de protéines. La fraction protéique est composée d'apo B-100, E, C-I, C-II et C-III. L'apo B-100 est requise à l'assemblage et à l'intégrité structurelle du VLDL, alors que les autres apo peuvent subir des échanges avec d'autres lipoprotéines. La population de particules VLDL est hétérogène quant à la composition et à la fonction : la proportion des apo peut varier d'une particule à l'autre. La composition elle-même varie à partir de la production du VLDL vers sa conversion en IDL au fur et à mesure que les lipases viennent hydrolyser les TG pour utilisation par les cellules (Pownall and Gotto., 1999 ; Guinsterg et al., 1999 ; Berneis and Krauss., 2002).

3.3. Lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL)

Les IDL sont issues de l'hydrolyse des VLDL par les lipases. En raison de la taille réduite des IDL par rapport aux VLDL, les apo C perdent leur affinité avec la particule et sont alors échangées aux VLDL, aux HDL et aux CM. Les IDL sont de taille et de densité intermédiaires aux VLDL et aux LDL, soit de 272 à 300 Å et de 1.008 à 1.019 g/ml. Elles contiennent environ 23% de TG, 29% d'EC, 9% de CL, 19% de PL et 19% de protéines. Une molécule d'apo B-100 est présente à la surface de chaque IDL, de même que plusieurs molécules d'apo E (Pownall.,1999 ; Berneis and Krauss., 2002).

3.4. Lipoprotéines de faible densité (LDL)

Les LDL sont issues des IDL et constituent la dernière classe de lipoprotéines de la cascade des lipoprotéines contenant l'apo B-100. Par l'action des lipases, la particule VLDL originale, dans sa course vers la classe LDL, a perdu la majeure partie de ses TG et s'est ainsi retrouvée enrichie en EC. La taille des LDL est d'environ 220 à 272 Å et leur densité varie entre 1.019 et 1.060 g/ml. Elles sont composées d'environ 6% de TG, 42% d'EC, 8% de CL, 22% de PL et 22% de protéines. Une seule copie de l'apo B-100 est présente dans une LDL et elle est nécessaire au maintien de l'intégrité structurale de la particule. Les LDL sont hétérogènes dans la distribution de leur taille, de leur densité et de certaines de leurs propriétés. Même si toutes les LDL sont athérogènes, les LDL petites et denses sont considérées comme étant la sous-population la plus athérogène. Les sous-populations de LDL peuvent être classées soit en phénotype A (décalage vers les grosses LDL) ou en phénotype B (décalage vers les petites LDL).

Une autre classification permet de classer les sous-populations selon leur taille, de LDL1 à LDL7 (Pownall and Gotto., 1999 ; Guinsberg et al., 1999 ; Berneis and Krauss., 2002).

3.5. Lipoprotéines de haute densité (HDL)

Les particules HDL en circulation peuvent être divisées en trois catégories selon leur densité : les HDL naissantes, les HDL2 et les HDL3. Les HDL naissantes ont une forme discoïde stabilisée par les apo. Elles sont sécrétées par le foie et l'intestin et sont dérivées des résidus d'hydrolyse des lipoprotéines riches en TG (CM et VLDL).

Leur principal constituant lipidique sont les PL et elles présentent principalement à leur surface l'apo A-I, C-II, C-III et E. Lors de la maturation des HDL, l'apo C-II, C-III et E sont relâchées vers les lipoprotéines riches en TG et les HDL gagnent l'apo A-II et A-IV, ce qui leur permet d'adopter une forme sphérique. Les HDL3 ont une taille de 70 à 90 Å, une densité de 1.125 à 1.210 g/ml et une composition d'environ 3% de TG, 13% d'EC, 4% de CL, 25% de PL et 55% de protéines. Les HDL2, quant à elles, ont une taille de 90 à 100 Å, une densité de 1.063 à 1.125 g/ml et présentent une composition d'environ 5% de TG, 17% d'EC, 5% de CL, 55% de PL et 40% de protéines (Pownall and Gotto., 1999 ; Eisenberg., 1999).

3.6. Lipoprotéine(a) (Lp(a))

La Lp(a) est une lipoprotéine riche en EC qui est associée au développement de MCV et maladies cérébrovasculaires. En fait, il s'agit d'une particule LDL modifiée : une molécule d'apo(a) est fixée par un lien disulfure sur la molécule d'apo B-100. À cause de cette apo supplémentaire, le poids moléculaire et la densité des ces lipoprotéines sont augmentés. L'apo(a) serait synthétisée par le foie indépendamment de la synthèse de l'apo B-100 et serait relâchée en circulation, où elle se grefferait à une LDL. L'apo(a) se lierait de façon non-covalente à l'apo B-100 des LDL, puis il y aurait formation spontanée du lien disulfure. Ce lien ne peut être défait que par une puissante réduction qu'on ne peut retrouver dans des conditions physiologiques (Pownall and Gotto., 1999 ; Gaw and Hobbs., 1999).

4. Caractéristiques des lipoprotéines

Les lipoprotéines présentent diverses caractéristiques chimiques et physiques.

4.1. Caractéristiques chimiques

Dans les différentes classes de lipoprotéines isolées, il est possible de déterminer le contenu en cholestérol total, libre et estérifié, en triglycérides, en phospholipides et en protéines (Tableau 5).

Tableau 5 : Composition chimique des lipoprotéines plasmatiques chez des sujets normolipidémiques (Hunninghake., 1994).

Lipoprotéine	Protéines	Phospho-lipides	Cholestérol libre	Cholestérol estérifié	Triglycérides	Principales apolipoprotéines
Chylomicrons	2	5	1	2	90	B48, C, E
VLDL	10	16	7	13	54	B100, C, E
LDL	23	21	11	41	4	B100
HDL	50	23	5	17	5	AI, AII

Résultats exprimés en % du poids total des lipoprotéines.

4.2. Caractéristiques physiques

Les lipoprotéines peuvent être considérées en fonction de leurs propriétés physiques telles que la mobilité électrophorétique, la fluidité, la densité et la taille (Tableau 6).

Tableau 6 : Caractéristiques physiques des lipoprotéines plasmatiques chez des sujets normolipidémiques (Hunninghake., 1994 ; Sola et al., 1993).

Lipoprotéine	Taille (nm)	Densité (g/ml)	Mobilité électrophorétique	MM (MDa)	r (24°C)
Chylomicrons	750-1000	< 0,94	Point de dépôt	>150	-
VLDL	30-80	0,94-1,006	Pré-bêta	5-130	0,131
LDL	18-25	1,006-1,063	Bêta	2,50	0,259
HDL	7-12	1,063-1,25	Alpha	0,15-0,36	0,239

MM : masse moléculaire ; r : anisotropie de fluorescence.

4.2.1. Fluidité des lipoprotéines

Les systèmes biologiques ont une organisation spatiale moléculaire qui repose en majeure partie sur la nature amphipathique de leurs constituants. En réalité, chaque entité moléculaire va être sous la dépendance de différents facteurs dynamiques, liés à la structure des constituants ou à leur comportement vis à vis de la température.

Si on considère l'enveloppe des lipoprotéines comme une bicouche membranaire, le principal mouvement est la diffusion latérale associée à un mouvement de rotation axiale des phospholipides. Ce processus de diffusion maintient la géométrie de la surface de la structure. Globalement l'ensemble de tous les mouvements complexes existant au sein d'une structure lipidique détermine la dynamique lipidique et définit le concept de fluidité (Shinitzky and Barenholz ., 1978).

La fluidité des lipoprotéines est déterminée par mesure de l'anisotropie (r) ou de la polarisation (p) de fluorescence en utilisant la méthode de la polarisation de fluorescence. La fluidité est inversement proportionnelle à r et à p (Shinitzky and Barenholz ., 1978).

La fluidité lipidique est régulée par plusieurs modulateurs. En effet, au niveau moléculaire, la flexion ou l'isomérisation trans ou cis des AG joue un rôle essentiel dans la fluidité globale des structures lipidiques. L'amplitude de ces flexions est sous la dépendance de la nature des AG (longueur et degré d'insaturation) et de thermotropisme des phospholipides qui les contiennent (Stubbs et al., 1981 ; Shinitzky., 1984). Aussi, le cholestérol et les protéines agissent comme un rigidifiant des structures lipidiques (Shinitzky and Inbar., 1976). Ils diminuent la fluidité et augmentent le degré d'ordre moléculaire imposé aux phospholipides présents dans leur voisinage.

Plusieurs travaux, ont montré qu'il y a une relation positive entre fluidité et capacité à éliminer le cholestérol. Ainsi, cette caractéristique physique peut induire des changements des effets des HDL sur l'efflux de cholestérol, le contenu intracellulaire en cholestérol et la dégradation des LDL. Les HDL les plus fluides sont les HDL provoquant l'efflux de cholestérol le plus élevé (Sola *et al.*, 1993). Ainsi, la fluidité est un déterminant important de la capacité des HDL à accepter le cholestérol des cellules. Une étude récente de Girona et al., (2003) a montré que l'augmentation du processus d'oxydation des HDL provoque une perte de la fluidité membranaire des macrophages qui pourrait contribuer à une explication de la réduction de l'efflux de cholestérol de ces cellules.

Dans la littérature, il a été rapporté que la modification des lipides alimentaires peut influencer la composition en AG des phospholipides des HDL en variant ainsi leurs propriétés physiques, particulièrement la fluidité et la taille et donc l'efflux de cholestérol (Esteva et al., 1986 ; Sola et al., 1990). Les HDL obtenues après un régime riche en AGMI, induisent un important efflux de cholestérol libre (Sola et al., 1993).

Sola et al., (1990) ont montré qu'avec un régime riche en AGMI, les HDL présentent les valeurs les plus faibles d'anisotropie de fluorescence (en présence de la sonde DPH, à 37°C), c'est-à-dire les plus fluides. Cependant, les régimes plus riches en AGPI entraînent des effets contradictoires sur la fluidité. Ainsi, l'anisotropie de fluorescence des HDL isolées après le régime le plus riche en AGPI n-6 (huile de maïs) n'est pas significativement différente de celle des HDL obtenues après le régime avec l'huile d'olive, alors que l'anisotropie de fluorescence des HDL après le régime le plus riche en AGPI n-3 (huile de soja) est aussi élevée que celle des HDL obtenues après le régime riche en AGS (produits laitiers) (Tableau 7). Egalement, Sola et al., (1993) ont montré que l'anisotropie de fluorescence des HDL est corrélée négativement, à la fois au pourcentage en acide oléique des

phospholipides totaux, et au pourcentage en acide oléique de la phosphatidylcholine des HDL. Ainsi, l'acide oléique du régime alimentaire joue un rôle déterminant dans la fluidité des HDL grâce à la présence dans leur structure d'une seule double liaison.

Tableau 7 : Anisotropie de fluorescence des HDL déterminée par la fluorescence de polarisation (Sola et al., 1990).

	Anisotropie de fluorescence (r)	
	24°C	37°C
Huile d'olive	0,232 ± 0,002	0,183 ± 0,002
Huile de soja	0,248 ± 0,014 ^a	0,198 ± 0,002 ^a
Huile de maïs	0,239 ± 0,023	0,188 ± 0,002
Produits laitiers	0,246 ± 0,017 ^a	0,202 ± 0,002 ^{a,b}

a : différence significative / huile d'olive ($p < 0,05$) ; b : différence significative / huile de maïs ($p < 0,05$).

Dans le même concept, Scislowski et al., (2004) ont montré récemment chez des bœufs nourris par un régime riche en huile de tournesol pendant soixante-dix jours, une modification de la composition chimique des lipoprotéines plasmatiques mais sans changer leur fluidité.

Jacotot., (1991) a étudié la fluidité des HDL en soumettant 60 volontaires à 4 régimes alimentaires différents (beurre, huiles d'olive, de soja et de maïs). L'enquête a été réalisée à travers la mesure de la polarisation de la fluorescence et de l'efflux du cholestérol des fibroblastes humaines en culture et a démontré que les HDL obtenues après le régime avec l'huile d'olive ont été les plus fluides en raison d'un accroissement d'acide oléique dans leurs phospholipides, avec simultanément, une décroissance de la teneur en cholestérol libre. Cette donnée permet d'avancer l'hypothèse que la fluidité élevée des HDL favorise l'efflux du cholestérol libre des cellules, en améliorant ainsi son transport reverse.

5. Le métabolisme des lipoprotéines :

Le métabolisme des lipoprotéines est complexe et fait intervenir de nombreux récepteurs et enzymes. Il peut être divisé en trois parties : la voie exogène (à partir de l'intestin vers les autres tissus), la voie endogène (du foie aux autres tissus) et le transport inverse du cholestérol (des tissus au foie).

5.1. La voie des lipides exogènes

La Figure 5 schématise la voie des lipides exogènes. Sa fonction est d'amener les lipides alimentaires (de provenance exogène) aux tissus pour la production d'énergie, le stockage ou la synthèse de molécules. Les lipides alimentaires sont hydrolysés dans le petit intestin et sont absorbés par les cellules épithéliales intestinales. Les lipides y seront réestérifiés et seront assemblés à l'aide de l'apo B-48 pour former des CM. L'apo B-48 est nécessaire à la formation des CM et elle est obtenue des premiers 48% de l'apo B-100 par épissage de l'ARN messager. Les CM sont sécrétés dans la lymphe et se retrouvent dans la circulation sanguine.

Au niveau des muscles et du tissu adipeux, les TG contenus dans les CM sont hydrolysés en acides gras libres par la lipoprotéine lipase (LPL) pour stockage ou production d'énergie. L'apo C-II contenue dans les CM active la LPL, alors que l'apo C-III en diminue l'activité. C'est donc le ratio entre l'apo C-II et l'apo C-III qui déterminera la rapidité à laquelle le CM sera transformé en résidu de CM. Puisque seuls les TG ont été hydrolysés, le résidu sera enrichi en EC et en apo E.

Il est à noter que l'apo A-I, A-IV, C-II, C-III et E peuvent subir des échanges avec les autres classes de lipoprotéines et, si elles sont relâchées en circulation, elles peuvent servir de constituants de base pour la formation des HDL naissantes. Les résidus de CM sont captés au foie via le R-LDL et la protéine apparentée au R-LDL (LRP). Habituellement, il ne reste que de très bas niveaux de CM en circulation après environ 12 heures suivant un repas (Redgrave., 1999 ; Packard and Shepherd., 1999 ; Gagné and Gaudet., 1997).

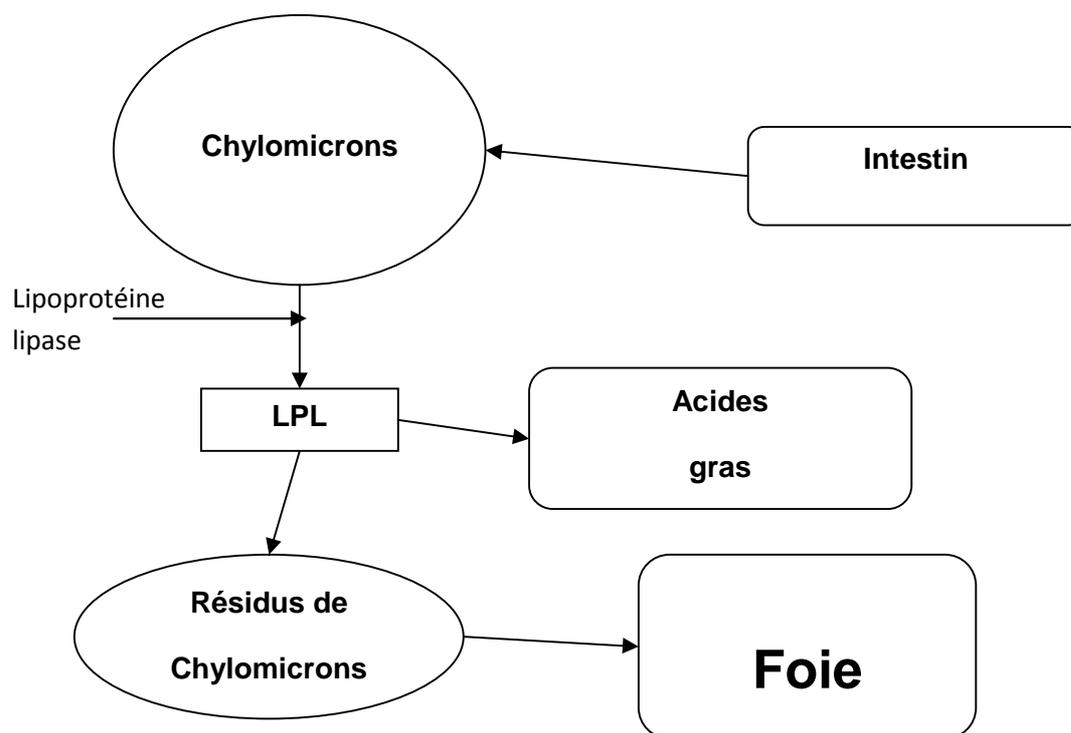


Figure 5. La voie des lipides exogènes (Gagné and Gaudet., 1997).

5.2. La voie des lipides endogènes

La figure 6 schématise le transport des lipides endogènes, du foie aux tissus périphériques. Quelques heures suivant un repas, lorsque la quantité de CM en circulation est faible, les besoins en TG des tissus périphériques sont assurés par les lipides synthétisés par le foie ou transitant par celui-ci, qui sont alors acheminés par les VLDL.

De la même manière que les CM, les VLDL seront hydrolysées par la LPL dans les capillaires et l'activité LPL sera modulée par le ratio apo C-II/apo C-III. Les acides gras libérés par ces lipases serviront alors de source d'énergie. Les résidus des VLDL, les IDL, subiront l'hydrolyse de leurs TG par l'action de la lipase hépatique (LH), menant ainsi à la particule LDL fortement enrichie en EC. La LH peut aussi hydrolyser les TG restant dans la particule LDL.

La lipase endothéliale (LE) est aussi capable d'hydrolyser les TG contenus dans les lipoprotéines contenant l'apo B-100, mais cet aspect de cette lipase n'a été que récemment décrit (Broedl et al., 2004). Aussi, en cours de route, les apo des VLDL sont perdues, soit par

échange ou soit par libération dans le plasma, et il ne reste alors qu'une seule molécule d'apo B-100, nécessaire au maintien de l'intégrité du LDL. La lécithine:cholestérol acyltransférase (LCAT) peut agir sur les LDL pour estérifier le CL qu'elles contiennent.

La CETP peut échanger des EC contre des TG entre différentes classes de lipoprotéines : des EC des HDL contre des TG des LDL, VLDL et IDL; et des EC des LDL contre des TG des IDL et des VLDL. Les LDL seront retirés de la circulation par le R-LDL qui reconnaît l'apo B-100. Leur demi-vie moyenne est d'environ 2.7 jours. Ce temps peut être augmenté dans le cas de pathologies diminuant la clairance des LDL, comme l'HF (Goldstein and al., 2000 ; Redgrave., 1999 ; Packard and Shepher., 1999 ; Gagné and Gaudet., 1997).

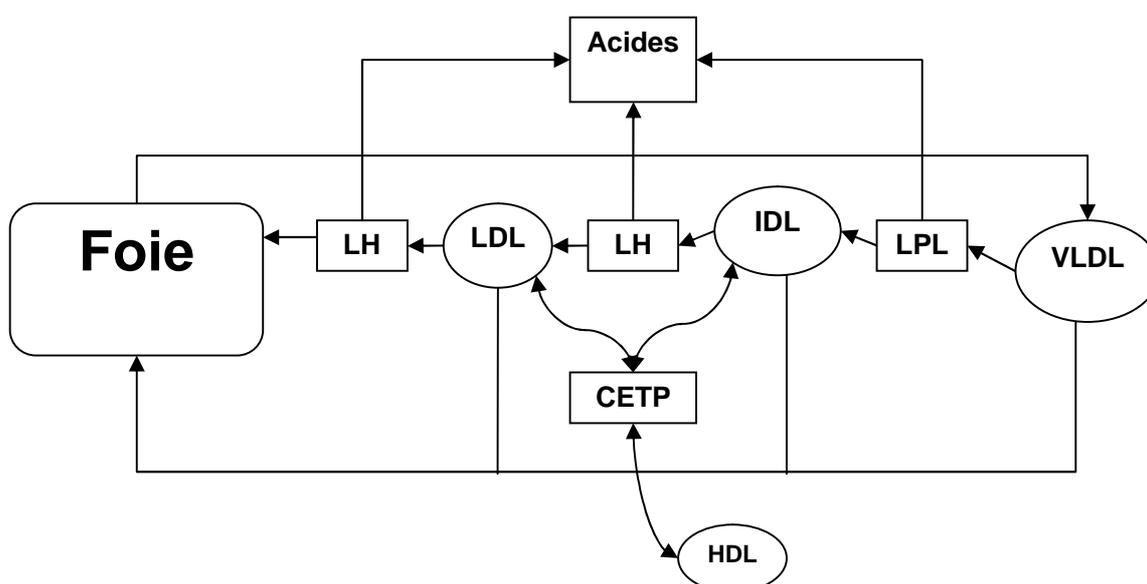


Figure 6. La voie des lipides endogènes. (Gagné and Gaudet., 1997).

5.3. Le transport inverse du cholestérol

La Figure 7 présente un schéma du transport inverse du cholestérol. Les apo composant, la partie protéique du HDL sont synthétisées par le foie et l'intestin et proviennent également de l'hydrolyse des CM et des VLDL par les lipases, qui relâchent alors des constituants en circulation. Les PL composants les HDL proviennent principalement des autres lipoprotéines lors de leur hydrolyse. La HDL reçoit du CL et des EC des autres lipoprotéines lors de leur hydrolyse, mais aussi via le récepteur SR-B1/Cla-1 (présent dans les macrophages, le foie et les tissus stéroïdogéniques) et via le système ABCA-1 (présent dans

les macrophages, le foie, les reins, l'intestin et les glandes surrénales). Le CL est alors estérifié par la LCAT. Au fur et à mesure que le HDL reçoit du cholestérol, sa taille augmente, passant de la classe HDL₃ à la classe HDL₂.

Les EC peuvent par la suite être échangés contre des TG entre les HDL et les lipoprotéines contenant l'apo B-100 par l'action de la CETP. Les EC ainsi transférés aux LDL et aux VLDL retourneront alors au foie via le R-LDL. Le HDL sera capté par un récepteur SR-B1/Cla-1 du foie ou d'un tissu stéroïdogénique auquel il donnera son cholestérol. Il est important de noter que la HDL n'est pas internalisée par SR-B1/Cla-1; après avoir livré ses EC, la HDL se retrouve à nouveau en circulation et redevient disponible pour recevoir des EC. La LH est capable d'hydrolyser les TG contenus dans la HDL. Dans le foie, le cholestérol sera transformé en sels biliaires ou sera directement excrété dans la bile, alors que dans les tissus stéroïdogéniques, le cholestérol sera transformé en hormones stéroïdiennes (Pownall and Gotto., 1999 ; Eisenberg., 1999 ; Tall et al., 2002).

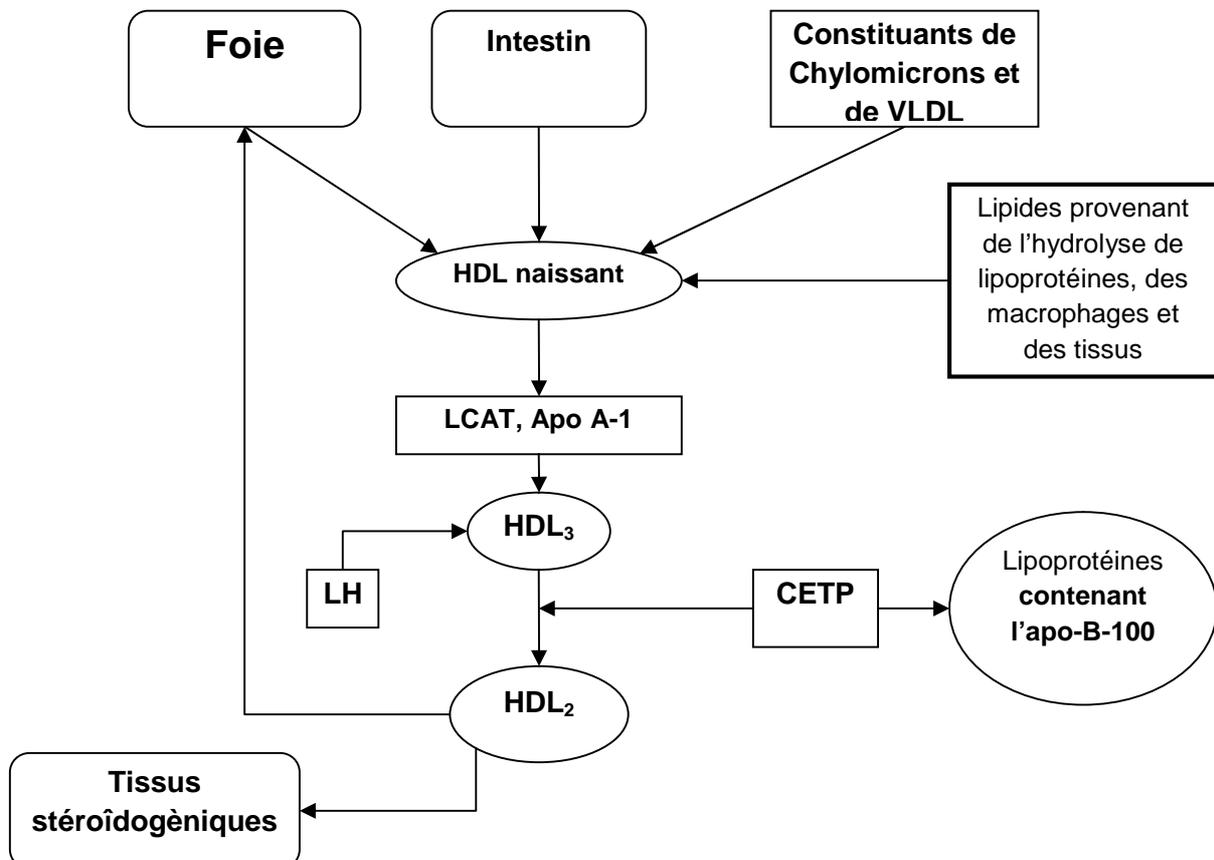


Figure 7. Transport inverse du cholestérol. (Gagné and Gaudet., 1997).

5.4. La protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP)

La CETP est une glycoprotéine hydrophobe et de masse d'environ 74kDa (Albers et al., 1984 ; Hesler et al., 1987). Comparativement aux autres protéines plasmatiques et aux apo, cette protéine contient une proportion très élevée d'acides aminés hydrophobes, soit environ 44% (Hesler et al., 1987). La CETP est responsable de tous les transferts de lipides neutres dans le plasma (EC, TG et esters de rétinol) et d'une partie des transferts de PL (Hesler et al., 1987).

Dans le plasma, la CETP permet essentiellement le transfert d'EC des HDL vers les lipoprotéines contenant l'apo B-100 (VLDL, IDL et LDL) en échange de TG et, moindrement, d'EC des LDL vers les lipoprotéines riches en TG (TRL) en échange de TG (Carr et al., 2002). Il est intéressant de noter que cet échange est approximativement équimolaire (Yen et al., 1989).

Aussi, plusieurs études ont montré une association entre la CETP et le remodelage des particules LDL (Lagrost et al., 1990 ; Ambrosch et al., 1998 ; Chung et al., 1998 ; Talmud et al., 2000). L'ARNm de la CETP est exprimé principalement au niveau du foie, de la rate et du tissu adipeux et il est exprimé à un moindre niveau dans le petit intestin, les reins, les glandes surrénales et le cœur. Chez la plupart des espèces de mammifère, le tissu adipeux est la principale source de CETP, suivi du foie (Jiang et al., 1991).

5.5. Mécanisme de formation des particules LDL petites et denses

La formation des particules LDL petites et denses fait partie intégrante des autres voies ci-dessus décrites. Ce mécanisme revêt toute son importance dans le fait que les LDL petites et denses sont les particules LDL les plus athérogènes. Comme mentionné ci-dessus, la CETP permet l'échange d'EC des LDL et des HDL vers les VLDL, en échange de TG, ce qui rend alors les particules LDL plus riches en TG. Plus les VLDL seront riches en TG, plus il y aura de TG pouvant être transférés aux LDL.

Aussi, la particule LDL enrichie en TG est alors un meilleur substrat pour la LH et pour la LE que les particules LDL moins riches en TG. La LH et la LE remodelent alors la particule LDL en hydrolysant ses TG et en la rendant alors encore plus petite et plus dense (Carr et al., 2002 ; Broedl et al., 2004).

La phospholipase A2 (sPLA₂) est une autre enzyme qui contribue à l'hydrolyse des lipides des LDL et contribue ainsi à la formation des LDL petites et denses. Des taux élevés de sPLA₂ ont été associés à la présence de LDL petites et denses et au risque de MCV. Il a été postulé que toute enzyme venant augmenter le ratio TG/EC ou appauvrir les particules LDL en lipides contribuait à la formation des LDL petites et denses (Hurt-camejo et al., 2000 ; Carr et al., 2002).

Chapitre III

L'Arganier "Argania spinosa"

III- L'Arganier "Argania spinosa"

1. Historique

Les premières connaissances sur l'arganier sont dues aux géographes et savants arabes qui étudièrent particulièrement la région du Maghreb, tels Al- Bekri et Chérif Al-Idrissi. En 1515, Elhassan Ben Mohammed Elwazzani (Jean-Léon l'africain) dans son livre "*Description de l'Afrique*", a parlé de l'huile d'argan comme ayant une mauvaise odeur et servant pour l'alimentation et l'éclairage. En 1838, Linné a baptisé l'arganier sous le nom de "*Sidéroxylon spinosum*" (bois de fer) et le classa dans le genre *Sideroxylus*. En 1878, Hooker a donné des informations sur le mode d'obtention de cette huile. En 1906, Gentil a délimité l'aire géographique de l'arganier (Boukhabza and Pichon-Prum., 1988).

Cet arbre spécifiquement des zones arides et semi-arides, est présent en Algérie .Il a connu un début d'acclimatation en Hollande au 17ème siècle, en Angleterre au 18ème siècle, en France au 19ème siècle et en Amérique au début du 20ème siècle et actuellement la Tunisie, la Libye et Israël.

2. Caractères botaniques de l'arganier

Le genre "argania" est un arbre sauvage de la famille des Sapotacées, il ne comprend qu'une seule espèce, *Argania spinosa* dite aussi "*Argania sidéroxylon*".

2.1. Taxonomie de l'arganier

Embranchement	:	Phanérogames
Classe	:	Dicotylédones
Famille	:	Sapotacées
Ordre	:	Ebénales
Genre	:	<i>Argania</i>
Espèce	:	<i>Argania spinosa</i>

2.2. Description botanique de l'arganier

L'arganier est un arbuste épineux (Figure 8), de grande taille, pouvant dépasser 10 mètres de hauteur. Son aspect rappelle celui de l'olivier, avec une couronne très grande et une écorce en peau de serpent. Son système racinaire est puissant et peut être même traçant dans les substrats rocheux, d'où son appellation arbre de fer. Le tronc plus court de 2 à 3 mètres est noueux, souvent formé de plusieurs tiges entrelacées. Le bois est très dur, compact de densité 0,9 à 1 g/ml et sa charge de rupture est de 1250 à 1500 kg/cm². La ramification commence à environ un mètre du sol ; il porte des petites feuilles lancéolées, de couleur verte, plus pâles sur la face inférieure. Elles sont sub-persistentes, en période de forte sécheresse, l'arbre perd complètement son feuillage, cet état peut durer quelques années, les feuilles réapparaissent peu après le retour des pluies.

La floraison a lieu au mois de Mai. Les fleurs sont hermaphrodites, pentamères et groupées en glomérules auxiliaires avec des sépales pubescents, arrondis, succèdent à deux bractées. Elles ont une couleur jaune verdâtre.

Les fruits (Figure 9) sont des drupes ovoïdes vertes striées de rouge, de la taille d'une grosse olive. Leur mésocarpe contient un suc laiteux qui s'épaissit au contact de l'air. Ils ont le plus souvent un seul noyau, plus rarement deux, voire trois, à coque épaisse, dure, très lisse et de couleur brune pâle. Les noyaux renferment une seule amande, dont l'albumen charnu, est oléagineux (Figure 9). Le fruit entier se compose de 43% de péricarpe, 52,5% de coque et 4,4% d'amande. Il met une année à mûrir.

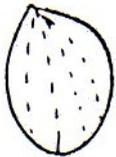
3. Aire et écologie de l'arganier

3.1. Aire et espace géographique

L'arganier est un arbre robuste admirablement adapté aux conditions rigoureuses de son habitat. Il colonise différents types de sols tant superficiels, squelettiques à forte pente, que moyennement profonds à profonds dans les cuvettes et vallées. Ainsi, il se développe à des altitudes allant du niveau de la mer à 1500 m sur les versants sud, et de 700 m sur les versants nord des montagnes. Il est indifférent à la nature physico-chimique du substrat et pousse dans les sols les plus secs et les plus défavorisés en eau. Cependant, il a besoin d'un certain degré hygrométrique de l'air et c'est pour cette raison qu'on ne le trouve pas plus de 150 Km de la mer. Il ne pousse pas sur les sols sablonneux.



Figure 8 : Arganier "*Argania spinosa*" (photo prise le 03-04-2008 dans la ferme de l'ENSA)



Fruit



Noyau



Amande

Figure 9. Fruit de l'arganier "*Argania spinosa*"

3.2. Facteurs climatiques

Le facteur climatique constitue l'élément déterminant dans l'écologie de l'arganier. Cela est constaté au niveau de trois paramètres climatiques :

- pluviométrie : l'arganier n'a besoin que d'un minimum d'eau pour survivre grâce à son système racinaire très développé qui lui permet d'utiliser l'eau des couches profondes du sol. Ainsi, l'idéal pour l'arganier est une précipitation de 500 mm par an. Cependant, 120 mm par an semble suffisante pour son développement dans certaines régions.
- température : l'arganier peut supporter des températures très élevées et très prolongées dépassant 50°C et des températures minimales extrêmement inférieures jusqu'à -20°C.
- humidité : la présence de l'arganier exige un climat relativement humide.

4. Rôles de l'arganier

L'arganier est un arbre à tout faire, il a plusieurs rôles, à savoir économique, environnemental et social. L'arganier joue un rôle irremplaçable dans l'équilibre écologique. Grâce à son système racinaire puissant, il contribue directement au maintien du sol, le protège contre l'influence saharienne et permet de lutter contre l'érosion et la désertification. De plus, grâce à son effet ombrage et améliorateur du sol, il peut permettre une production agricole non négligeable dans les conditions climatiques actuelles. Enfin, de nombreux organismes vivants (faune, flore et microflore) sont directement liés à sa présence. La disparition de l'arganier entraînerait la disparition de plusieurs espèces, provoquant une diminution de la biodiversité dans la région. L'arganier fournit des produits à multiples vocations (bois, feuillage, tourteaux, huile, pulpe).

5. Produits de l'arganier

5.1. Le bois

Il est extrêmement dur et utilisé pour le feu (charbon d'excellente qualité à sa consommation très lente) et la menuiserie (essentiellement les instruments agricoles). Son étude phytochimique a révélé la présence de nouvelles saponines triterpéniques (Oulad et al., 1996).

5.2. La pulpe

La pulpe du fruit de l'arganier est utilisée comme aliment pour les caprins. Elle est riche en glucides et en protides. L'extrait de la pulpe est constitué de glycérides, d'un latex (caoutchouc et gutta percha) (Zarrouk et al., 1987) et d'une fraction insaponifiable. La composition chimique de cette dernière a montré les mêmes stérols que l'huile d'argan et une composition en alcools triterpéniques différente. L'erythrodiol est le triterpène majoritaire (Charrouf et al., 1990). Les autres alcools identifiés dans l'insaponifiable de la pulpe sont : l' α -amyrine, la β -amyrine et le lupéol (Charrouf et al., 1991a). Ces alcools pourraient subir des transformations par voie chimique ou par bioconversion pour conduire à des produits à forte valeur ajoutée.

5.3. Les feuilles

Les feuilles servent de pâturage suspendu pour le bétail et protègent le sol contre l'insolation (rôle d'ombrage). Elles sont aussi utilisées pour leur propriété anti-inflammatoire en médecine traditionnelle. La filière triterpénique est composée des mêmes métabolites secondaires que ceux de la pulpe (Chahboun., 1993). L'étude de la fraction flavonoïque a montré la présence de la quercétine, la myricétine et leurs hétérosides. Ces deux flavonols présentent des propriétés antifongiques et antibactériennes remarquables à côté de leur pouvoir antioxydant (Aument et al., 1988).

5.4. Le tourteau

Le résidu de l'extraction ou tourteau est utilisé actuellement comme aliment pour les bovins soumis à l'engraissement. Il est riche en glucides et en protéines et renferme un important groupe pharmacodynamique constitué de saponines (Cotton., 1988). Les saponines de l'arganier sont des hétérosides bidesmosidiques. Sept saponines ont été isolées et identifiées dont cinq sont de nouvelles substances naturelles (Charrouf et al., 1992) (Figure 9). Les saponines ont un large spectre d'activité biologique. Certaines activités ont été déjà utilisées en thérapeutique comme, veinotoniques, analgésiques, anti-inflammatoires, stimulants diurétiques, antitumoraux, antifongiques et antibactériennes (Alaoui et al., 1998 ; Charrouf., 1991b).

5.5. Le fruit

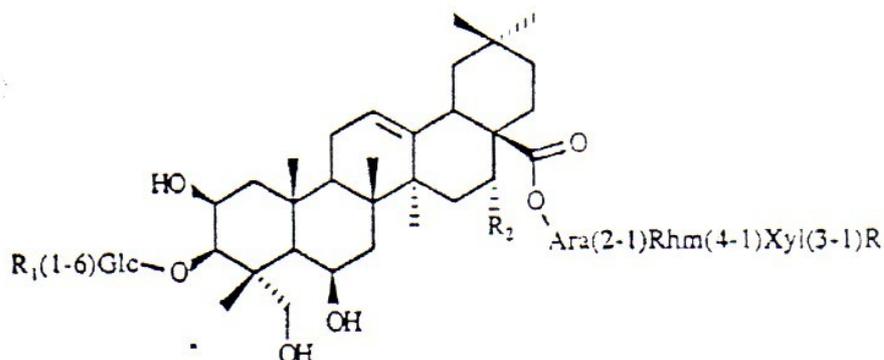
La richesse principale de l'arganier reste avant tout son fruit qui va procurer l'amande qui à son tour renferme 50 à 55% de l'huile comestible.

Chapitre IV
Huile d'Argan

IV. Huile d'Argan

1. Récolte des fruits

L'arganier fructifie dès l'âge de cinq ans. Les fruits paraissent vers la fin du mois de Juillet ou au début du mois d'Août. Ils continuent à croître lentement jusqu'à la période des pluies en Septembre. A partir de cette période, ils augmentent de volume et à la fin du mois de Mars de l'année suivante, ils sont bons pour la cueillette. La pulpe et l'amande sont les deux composants les plus intéressants de l'arganier. Après la récolte, les fruits sont exposés au soleil en couche mince afin de sécher la pulpe.



Nom	R ₁	R ₂	R ₃	Notes:
arganine A	Glc	OH	Rhm	Glc: β-D-glucopyranose Rhm: α-L-rhamnopyranose Ara: α-L-arabinopyranose Xyl: β-D-xylopyranose Api: β-D-apiofuranose
arganine B	Glc	OH	Api	
arganine C	H	OH	Rhm	
arganine D	Glc	H	Rhm	
arganine E	Glc	H	Api	
arganine F	H	H	Api	
mi-saponin A	H	H	Rhm	

Figure 10. Structure des saponines du tourteau de l'arganier (Charrouf et al., 1992).

2. Procédés d'extraction de l'huile

L'huile d'argan est obtenue à partir du fruit de l'arganier par deux modes d'extraction.

2.1. Extraction traditionnelle

C'est un processus purement artisanal. Les fruits sont absorbés par le bétail, après digestion du péricarpe, les noyaux excrétés sont récupérés, mais actuellement, les baies sont cueillies à la perche, séchées en suite au soleil, la pulpe est destinée à l'alimentation du bétail. Le noyau est cassé à la main à l'aide d'une pierre pour retenir l'amande qui est torréfiée dans des plats en terre à feu doux en les remuant jusqu'à qu'elle prenne une couleur brune, puis broyée dans un mortier ou dans un moulin à bras traditionnel. La pâte obtenue est malaxée et pressée manuellement avec apport d'eau chaude pour obtenir l'huile d'argan, de couleur brunâtre et au goût de noisette.

Cette huile se conserve dans des flacons secs et étanches et fait l'exception, avec l'huile d'olive, d'être consommée à l'état cru sans raffinage. Ce procédé d'extraction est lent avec un rendement faible. On estime que 100 kg de fruits mûrs donnent 55 kg de fruits séchés au soleil, dont on retire 25 kg de noyaux produisant 4 kg d'amandes. Ces dernières fournissent 2 kg de l'huile. Ce travail nécessite de longues heures de préparation (20 à 22 heures) (Zarrouck.,1987).

2.2. Extraction industrielle

Cette extraction pallie aux inconvénients (rendement, durée de travail, etc.) attribués à l'extraction traditionnelle. Les amandes de fruit d'arganier sont séparées du péricarpe puis réduites en poudre dans un broyeur à meule ou à cylindre. Cette poudre est soumise à une extraction avec un solvant apolaire de type hydrocarbure halogéné, dans un appareil d'extraction en acier inoxydable de préférence afin de ne pas apporter d'impuretés métalliques risquant de catalyser l'oxydation. Après séparation, la micelle est additionnée d'un antioxydant lipophile et le solvant est évaporé. On obtient ainsi, un extrait lipidique jaune paille, d'odeur agréable, avec ses principes actifs et surtout avec une très bonne stabilité (Boukhabza and Pichon-Prum., 1988).

3. Etude analytique de l'huile d'argan

3.1. Caractéristiques générales

A part la coloration jaune et l'odeur caractéristique de l'huile d'argan, les autres caractéristiques physicochimiques et organoleptiques de cette huile, comparativement à celles de l'huile d'olive figurent dans le tableau 8. Les différences observées entre les caractéristiques de l'huile d'argan sont minimales et dues probablement aux procédés d'extraction, l'origine de l'amande et le mode de conservation de l'huile.

Tableau 8 : Caractéristiques physicochimiques de l'huile d'argan extraite de manière traditionnelle ou industrielle et de l'huile d'olive.

	A	B	C	D	E
Masse volumique (g/ml)	0,917	0,906	0,917	0,917	0,910
Indice d'iode	99-102	98,1	99	98,8	83,8
Acidité (%)	0,49-1,3	1,3	1,10	1,10	0,25
Indice peroxyde	1,5 et +	-	6,5	5,2	4
Indice de saponification	189-193	195,2	191	191,8	190
Indice de réfraction	1,4711	1,4685	1,4690	1,4707	1,4696
Point de solidification	-8,5°C	-	-	-	-
Point de fusion de l'huile congelée	-11°C	-	-	-	-

- A : Analyse de HA (industrielle) (les Laboratoires SGS-Crépin à Rouen-France., 2000)

- B : Analyse de HA (industrielle) (Charrouf., 1984)

- C : Analyse de HA (industrielle) (Rahmani., 1989)

- D : Analyse de HA (artisanale) (Zarrouck., 1987)

- E : Analyse de l'huile d'olive (Zarrouck., 1987).

3.2. Composition chimique

Comme d'autres huiles végétales, l'huile d'argan est constituée de deux fractions, une fraction saponifiable (ou glycéridique) et une fraction insaponifiable.

3.2.1. Fraction glycéridique

Nombreuses études se sont intéressées à la quantification des différents acides gras présents dans l'huile d'argan obtenue par différentes manières d'extraction (Tableau 9). La saponification est réalisée avec du méthanol en présence de trifluorure de bore ou avec du diazométhane. Les AG et leurs esters méthyliques sont séparés, identifiés et dosés par chromatographie en phase gazeuse.

Les variations trouvées selon les auteurs sont faibles et pourraient être dues à l'origine des amandes, la maturation des fruits, les méthodes d'extraction et de conservation de l'échantillon et les conditions d'analyses chromatographiques. Comme on peut le constater, il y a une prédominance des AGI (environ 45% d'acide oléique et 33% d'acide linoléique) et une modeste quantité des AGS (acides stéarique et palmitique).

Tableau 9 : Composition en acides gras de l'huile d'argan (HA).

Teneur en % des différents acides gras			
AG	A	B	C
Miristique C14:0	0-0,2	0,12-0,18	0,16
Palmitique C16:0	-	14,41-15,59	14,3
Stéarique C18:0	5,6	4,48-5,91	5,94
Oléique C18:1	45,2-46,9	43,29-48,76	42,77
Linoléique C18:2	31,6-34,6	30-34,1	36,86
Linoléinique C18:3	0-0,1	0,1-0,26	0,15
Arachidonique C20:4	0-0,40	-	0,39
Eicosaénoïque C20:1	0-0,10	0-0,1	0,15

- A : Analyse de HA (industrielle) (Charrouf., 1984)

- B : Analyse de HA (artisanale) (Zarrouck., 1987)

- C : Analyse de HA (industrielle) (Charrouf *et al.*, 1997).

Comparativement aux huiles d'olive et d'arachide, l'huile d'argan est plus riche en acide palmitique et linoléique et contient moins d'acide oléique (Tableau 10). Par contre, elle est sensiblement à égalité avec les huiles de soja et de maïs concernant l'acide palmitique, moins riche en acide linoléique et plus riche en acide oléique (Zarrouck., 1987).

Tableau 10 : Composition en acides gras de l'huile d'argan et de différentes huiles végétales (Zarrouck., 1987).

Teneur en % des différents acides gras					
Acides gras	Argan	Olive	Arachide	Soja	Maïs
Myristique C14:0	0,1	0,1	-	20,1	0,3
Palmitique C16:0	14,3	10,8	9,5	10,8	12,8
Palmitoléique C16:1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,6
Stéarique C18:0	5,7	3,5	1,7	3,5	3
Oléique C18:1	45,6	73,4	63,7	21,7	27,2
Linoléique C18:2	34,4	11,1	18,5	56,9	52,9
Linoléinique C18:3	< 0,1	0,3	-	6,4	1,8
Arachidonique C20:0	< 0,3	0,2	1,5	0,3	0,8
Eicosaénoïque C20:1	0,2	0,2	1,3	0,2	0,6

3.2.2. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable de cette huile représente à peu près 1% de la matière grasse, mais qui reste comme quantité suffisante pour attribuer à cette huile des vertus thérapeutiques importantes (Wolf., 1982). L'étude analytique et quantitative de cette fraction a révélé la présence de divers composés. Leur séparation se fait généralement par fractionnement sur colonne de silice et d'aluminium ou par chromatographie sur plaque de silice, puis purification par chromatographie sur couche mince ou par chromatographie liquide de haute performance (HPLC) (Mondet and Laurent., 1978 ; Khallouki et al., 2003).

3.2.2.1. Tocophérols

Soixante quinze pour cent des tocophérols sont des γ -tocophérols (Figure 11a et Tableau 11) (Khallouki et al., 2003). Les autres tocophérols de l'huile d'argan sont : δ -tocophérol (19,18%) et α -tocophérol (5,5%) (Khallouki et al., 2003). Ces tocophérols ont des

actions antioxydantes qui vont permettre une bonne conservation de l'huile d'argan et une protection contre les MCV.

Tableau 11 : Composition chimique en tocophérols, stérols, et composés phénoliques de l'huile d'argan (HA) et de l'huile d'olive (HO) (khalouki et al., 2003).

	HA alimentaire	HA esthétique	HO
Tocophérols (mg/kg HA)			
γ -tocophérols	480 \pm 7	465 \pm 21	26 \pm 1
α -tocophérol	35 \pm 1	44 \pm 3	190 \pm 1
δ -tocophérol	122 \pm 10	120 \pm 5	42 \pm 2
Total	636 \pm 18	629 \pm 28	257 \pm 3
Stérols (mg/100 g HA)			
Schotténol	142 \pm 11	137 \pm 7	nd
Spinastérol	115 \pm 7	100 \pm 1	nd
δ^{8-22} stigmastadiène-3 β -ol	9 \pm 1	11	nd
β -sitostérol	nd	nd	156 \pm 3
Campestérol	nd	nd	12 \pm 1
Stigmastérol	nd	nd	nd
Autres	29 \pm 1	24 \pm 2	151 \pm 10
Total	295 \pm 20	272 \pm 10	319 \pm 14
Composés phénoliques (μg/kg HA)			
Acide vanillique	67 \pm 3	6 \pm 1	359 \pm 7
Acide syringique	37 \pm 5	0	0
Acide férulique	3147 \pm 20	3211 \pm 5	51 \pm 2
Tyrosol	12 \pm 1	3	19573 \pm 37
Autres	0	0	773000 \pm 53
Total	3263 \pm 29	3220 \pm 6	792983 \pm 99

nd : non déterminé

3.2.2.2. Stérols

Les stérols présents dans l'huile d'argan sont uniques au regard de leur combinaison. Il n'existe, à notre connaissance, aucune autre huile végétale possédant une composition comparable (Figure 11b et Tableau 11).

L'huile d'argan contient les D-7-stigmasterols (schotténol et l' α -spinastérol), extrêmement intéressants et très rares parmi les stérols végétaux. Le schotténol est le stérol principal rencontré dans le *Lococephereus schottii*, dont l'extrait est utilisé au Mexique comme principe actif anticancéreux. Il a été isolé sous forme de glucosides à partir des plantes *Baccharis cordifolia* et *Ipomopsis aggregata*. On lui attribue des vertus anti-tumorales (Arisawa et al., 1985). Selon certains auteurs (Boukhabza and Pichon-Prum., 1988), le schotténol serait responsable de cette activité d'une plante médicinale (*Agyratum conyzoides*) dont le suc est utilisé en Inde pour soigner certaines maladies dermiques (problèmes de peau, blessures et brûlures).

Chez l'animal, des travaux de recherche ont montré clairement que le spinastérol réduit le cholestérol plasmatique et hépatique chez la souris (Uchida et al., 1983) et qu'il a un effet antitumoral potentiel (Villasenor and Domingo., 2000).

Généralement, l'administration des stérols végétaux, par voie orale ou parentérale, entraîne une diminution des concentrations plasmatiques du CT et c-LDL (Law., 2000 ; Plat and Mensink., 2001). Il est probable que l'essentiel de cette baisse est dû à la grande similitude des propriétés physico-chimiques des stérols avec celles du cholestérol. Ainsi, les stérols végétaux inhibent l'absorption intestinale du cholestérol par l'empêchement de son estérification en restant ainsi libre et moins soluble et donc moins absorbable. Il est également possible que les stérols interviennent dans la transformation du cholestérol en acide biliaire par stimulation du cholestérol-7- α -hydroxylase.

3.2.2.3. Composés phénoliques

Khallouki et al., (2003), ont déterminé la composition phénolique de l'huile d'argan (Figure 11 c et Tableau 10). En raison de leur nature chimique, ces composés peuvent agir comme antioxydants et aider à renforcer les défenses naturelles de l'organisme contre une série de maladies liées au stress oxydatif comme, les MCV, les cancers et les processus inflammatoires.

3.2.2.4. Alcools triterpéniques

On rencontre cinq principaux alcools triterpéniques dans la fraction insaponifiable de l'huile d'argan, le turicallol (27,9%), la β -amyrine (27,3%), le butyrospermol (18,1%), le lupéol (7,1%), le méthylène-cycloartenol (4,5%), le citrostadiénol (3,9%) et cycloeucalénol (<5%) (Charrouf and Guillaume., 1999). Ces substances ont des propriétés thérapeutiques utilisées dans la protection dermatologique, la désinfection, la cicatrisation et la lutte contre l'inflammation. Ils ont aussi des actions antitumorale, antihyperglycémique et hypotenseur parmi autres effets physiologiques.

3.2.2.5. Caroténoïdes

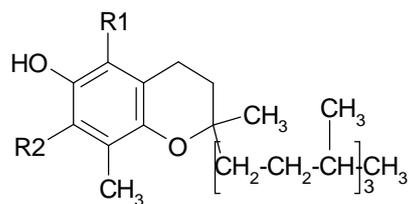
Ce sont les pigments colorants de l'huile d'argan. Ce groupe comprend le β -carotène (50%) qui est un précurseur de la vitamine A. La recherche de la provitamine A sous forme de trans β -carotène dans l'huile d'argan s'est avérée négative (Collier and Lemaire., 1974). La carence en cette vitamine se manifeste par un retard de croissance, une kératinisation des cellules épithéliales et par une diminution de la vision crépusculaire. Ils comprennent aussi, les xanthophylles (6,5% de l'insaponifiable) (Charrouf M., 1984). Les caroténoïdes ont des propriétés antioxydantes importantes.

3.2.2.6. Squalène

L'huile d'argan contient 303 à 321 mg/100 g de squalène (Khallouki et al., 2003). Nombreuses études ont montré l'effet du squalène appliqué localement ou administré par voie systémique sur des cancers de la peau, du côlon et du poumon, chimiquement induite chez la souris. Dans leur ensemble, les résultats montrent clairement que le squalène alimentaire exerce d'incontestables effets anticarcinogènes (Yamaguchi et al., 1985 ; Rao et al., 1998 ; Smith et al., 1998). Kohno et al., (1995) ont observé que le squalène est un très puissant piège aux radicaux d'oxygène réactifs à la surface de la peau humaine. Dans des modèles animaux, le squalène paraît également jouer un rôle important dans la santé de l'œil, et en particulier sur les bâtonnets rétiens (Fliesler and Keller., 1997).

Par ailleurs, plusieurs équipes ont montré que la capacité d'excrétion de toxines comme la strychnine ou l'hexachlorobenzène s'accroît chez les animaux auxquels on apporte du squalène, mais certains de ces effets ne se manifestent qu'à très hautes doses (Richter and Schafer., 1982 ; Kamimura et al., 1992).

a- Tocophérols

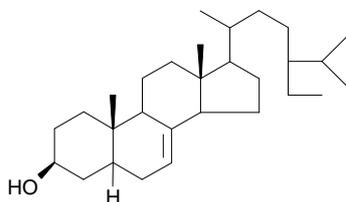


Alpha-tocophérols = $\rightarrow R_1+R_2=CH_3$

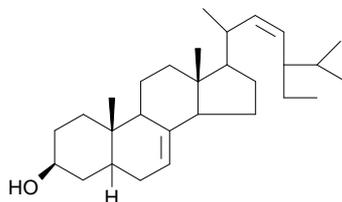
Gamma-tocophérols = $\rightarrow R_1 = H_1 R_2 = CH_3$

Delta-tocophérols = $\rightarrow R_1+R_2=H_3$

b- Stérols

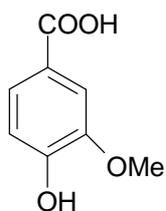


Schotténol

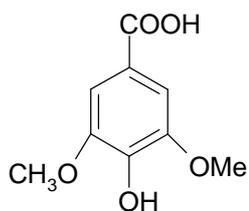


spinastérol

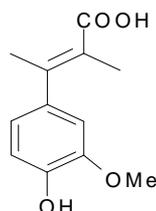
c- Composés phénoliques



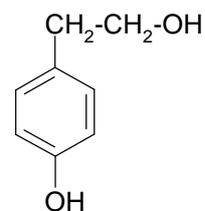
Acide vanillique



Acide syringique



Acide ferulique



Tyrosol

Figure 11 . Structure des tocophérols (a), stérols (b) et composés phénoliques (c) de l'huile d'argan (Khallouki et al., 2003).

4. Principales utilisations

L'huile d'argan possède plusieurs propriétés très intéressantes ce qui lui permet d'être à usage multiple.

4.1. Utilisation diététique

L'huile d'argan constitue un complément lipidique très recherché en médecine traditionnelle. Seize grammes (deux cuillères à soupe) assurent la totalité des besoins journaliers en acide linoléique. Ses qualités en font une huile très recherchée, vendue nettement plus chère que l'huile d'olive en raison notamment de sa rareté. C'est un aliment essentiel à côté du miel et d'amandes grillées pour certaines préparations alimentaires artisanales.

4.2. Utilisation en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle, HA s'est forgée au fil des siècles la réputation d'un remède naturel précieux. Elle est indiquée pour ses propriétés aphrodisiaques, elle permet de lutter contre le vieillissement physiologique, elle est utilisée dans la prévention des vergetures chez la femme enceinte et elle est préconisée dans le traitement de différentes maladies (acné juvénile, varicelle, douleurs articulaires, etc.). Par ses propriétés hypotensive, antioxydante et hypocholestérolémiante, cette huile serait indiquée pour la prévention de l'athérosclérose.

4.3. Utilisation en cosmétique

L'utilisation traditionnelle de l'huile d'argan pour la nourriture du cuir chevelu, la fortification des ongles cassants, le dessèchement cutané et le vieillissement physiologique de la peau ont motivé certains laboratoires à l'incorporer dans les produits cosmétiques. Mais les caractéristiques physicochimiques et organoleptiques de l'huile artisanale (produit coloré, odeur forte, conservation délicate) empêchaient son utilisation en cosmétologie jusqu'à ce que le procédé industriel soit mis au point. Ainsi, depuis quelques temps, l'huile d'argan est devenue fortement recherchée par l'industrie de la cosmétique et figure dans la composition de certaines crèmes et savons. Elle est utilisée par Pierre Fabre (gamma argane), Yves Rocher (gamme Acaciane), la société Colgate Palmolive (savon dermatologique Antinéa).

Chapitre V
Huile d'Olive

V. L'Huile d'olive

1. Définition

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europea*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autres nature (COI., 2012)

2. La technologie oléicole

2.1. La récolte des olives

2.1.1. Techniques de récolte traditionnelle

Il existe plusieurs modes de récolte (Loussert and Brousse., 1978) qui sont :

- **Ramassage des olives**

Ce mode de récolte se contente de ramasser les olives tombées au sol; Les olives arrivées à maturité, tombent d'elles mêmes aidées par l'action mécanique du vent.

- **Cueillette des olives**

S'effectue à la main, les fruits sont déposés dans un panier, elle nécessite une main d'œuvre très importante.

- **Gaulage des olives**

C'est un procédé qui est employé sur les variétés dont les fruits sont récoltés murs (noirs) destinés à l'extraction d'huile. Cette technique fait appel à l'usage d'une gaule que le récolteur utilise pour faire tomber les fruits. L'inconvénient majeur est que le gaulage provoque la destruction d'un grand nombre de rameaux et de feuilles.

- **Peignages des branches fructifères**

Cette méthode utilise des râtaux qui permettent de faire tomber les fruits . Ce mode de récolte provoque d'importants dégâts aux brindilles.

- **Secouage des branches**

Cette technique est basée sur l'état de maturation des olives qui se détachent sous l'action d'une force extérieure.

2.1.2. Techniques de récolte mécanique

Les organismes oléicoles français se sont attaqués de longue date au problème de la mécanisation des opérations de récolte des olives, cette recherche est fondamentalement un enjeu économique pour la filière ; les premiers prototypes adaptés sur l'olivier furent des secoueurs, ces derniers se caractérisent par une faible fréquence des secousses et leur forte amplitude, ils ont rapidement cédé la place aux vibreurs (Argenson et al.,1999)

- **Transport**

Pour éviter de détériorer les olives, il est conseillé d'assurer leur transport dans les meilleures conditions possibles. Actuellement, certaines exploitations utilisent des caisses en matières plastiques qui ont l'avantage de faciliter le travail de stockage.

- **Réception**

L'aire de réception des huileries doit être prête pour assurer le déchargement, l'huilerie pouvant traiter la récolte d'un même verger ou de provenance diverses. L'hétérogénéité des fruits donnera des résultats différents donc chaque lot sera Individualisé; une autre aire de réception sera réservée aux olives ayant des caractéristiques variables nécessitant par exemple une période d'emmagasinage plus longue (48-72 heures) pour leur maturation (Bianchi.,1999).

- **Contrôle**

Dès la réception, les olives doivent être soumises à un contrôle quelque soit leur origine qui permet de valoriser les apports d'olives de qualité et d'inciter les différents oléiculteurs à soigner leur livraison; les déterminations analytiques élémentaires les plus utiles sont l'humidité, la teneur en huile, l'acidité des huiles, la teneur en phénols, l'indice de peroxyde et la stabilité (Boussenadji., 1995).

- **Conservation**

Le décalage qui existe entre les apports d'olives et leur broyage nécessite un stockage plus ou moins long ne dépassant pas 5 jours, de nombreux problèmes qui se situent au niveau du stockage pourraient être en partie évités si les opérations de récolte, de réception et de contrôle étaient soigneusement planifiées et ordonnées (Argenson et al., 1999).

- **Triage**

Quelque soit le système de récolte utilisé traditionnel (gaulage) ou moderne (vibreurs), il existe toujours un pourcentage plus ou moins important d'impuretés (feuilles, terre, cailloux); il est donc nécessaire d'éliminer ces impuretés à l'aide des machines ou simplement à la main.

- **Effeillage et lavage**

Ce sont les opérations préliminaires auxquelles doivent être soumises les olives avant extraction; elles sont effectuées à l'aide d'appareils automatiques munis d'un système d'aspiration des feuilles et d'un bassin à circulation forcée d'eau, pour laver les olives, elles ont pour but de débarrasser les fruits de toutes leurs impuretés qu'elles soient d'origine végétale, comme les feuilles et les brindilles, ou minérale, comme la poussière, la terre, les pierres et autres matières solides (Di- Giovacchino., 1996).

2.2. - **Préparation de la pâte :**

Elle s'effectue en deux opérations:

2.2.1. **Broyage**

Le but de cette opération est la rupture des cellules de la pulpe afin de provoquer la sortie de l'huile des vacuoles, avec la formation des gouttes aux dimensions plus grandes pour permettre la séparation des autres phases, le broyage est réalisé à l'aide de deux types de machines: broyeur à meules et le broyeur métallique (à disques, à cylindre, à marteaux). (Di-Giovacchino., 1996).

2.2.2. **Malaxage**

Le malaxage a pour but d'homogénéiser la pâte d'olive, mais il va également et surtout permettre la coalescence des gouttelettes d'huile. Le malaxage est une étape très contrôlée car les mouliniers ont la possibilité de chauffer la pâte d'olive afin de faciliter la

coalescence et donc 'augmenter les rendements, mais la pâte d'olive ne doit en aucun cas dépasser les 27°C pour que l'huile d'olive puisse porter la mention « extraction à froid ». Les bacs de malaxage sont le plus souvent fermés, de façon à retenir les arômes de la pâte et à limiter son oxydation.

2.3. Extraction de l'huile

2.3.1. Séparation solide / liquide

Une fois la pâte d'olive homogénéisée et la coalescence effectuée, l'étape suivante consiste en la séparation de la phase solide et de la phase liquide. Deux systèmes de séparation de phases sont utilisés : un système de presse et un système de centrifugation horizontale

2.3.1.1. Système de presse

La presse est utilisée depuis les débuts de la fabrication de l'huile d'olive. A l'origine, la pâte d'olive était placée dans des doubles disques de fibre de coco tressée, reliés par le bord extérieur et percés au centre, appelés « scourtins ». Le moulinier chargeait la pâte dans ces derniers, puis empilait les disques avant de les presser à la force des bras.

Le principe reste le même aujourd'hui, mais les fibres de coco ont été remplacées par des fibres de nylon et les disques ne sont plus reliés entre eux par le bord extérieur. Cela permet un meilleur nettoyage des disques et ainsi une limitation des phénomènes de moisissure et de forte oxydation observés dans les scourtins traditionnels. Le système de presse manuelle a également été remplacé par un système hydraulique plus puissant et automatisé

2.3.1.2. Système de centrifugation horizontale

Les progrès technologiques ont permis le développement de systèmes automatisés et moins fastidieux que les presses : il s'agit des centrifugeuses horizontales à 2 ou à 3 phases, aussi improprement nommées décanteurs. Les centrifugeuses horizontales à 3 phases ont été les premières à être développées

Ces centrifugeuses sont dites à trois phases car elles séparent :

- Les grignons
- L'huile avec un peu d'eau
- Les margines avec un peu d'huile

Les deux phases liquides n'étant pas bien séparées, les deux dernières phases sont regroupées et envoyées dans une centrifugeuse verticale (voir plus bas). Le principal inconvénient de ce type de système est qu'il requiert un grand ajout d'eau pour fonctionner. L'eau ajoutée va se mélanger aux margines et donc grandement augmenter le volume de coproduits à éliminer. A la sortie de la centrifugeuse, on se retrouve avec d'un côté des grignons très humides et de l'autre une émulsion huile/eau

D'autres systèmes moins couramment utilisés ont également été développés, c'est notamment le cas de la méthode Sinolea . Après broyage des olives, les peignes métalliques du dispositif Sinolea vont alternativement plonger dans la pâte d'olive, se soulever puis l'huile qui se sera déposée sur le peigne va être raclée. Ce système est basé sur un phénomène physique simple : l'eau et l'huile ont des tensions superficielles très différentes, ce qui fait que l'huile adhère plus facilement que l'eau sur une surface métallique. Lorsque le peigne du Sinolea plonge dans la cuve de pâte, les gouttelettes d'huile vont adhérer à la surface métallique, il suffira donc ensuite de retirer ce peigne de la pâte d'olive et de le racler pour en déloger l'huile d'olive pure. A chaque cycle seules quelques gouttes d'huile vont être retirées ce qui fait du Sinolea un procédé relativement long. L'autre principal défaut de cette technique est le faible rendement de la méthode. Afin de pallier ce défaut, les systèmes Sinolea sont le plus souvent couplés à des systèmes traditionnels.

2.3.2. Séparation huile / eau

L'huile d'olive et l'eau ont des densités très différentes (0.913 pour l'huile d'olive, 0,9982 pour l'eau à 20°C) ce qui fait que ces deux liquides ne sont pas séparables par gravité dans des conditions standards. La méthode la plus simple pour les séparer est donc la décantation gravitationnelle. Pour cela les phases liquides sont placées dans des cuves en inox et le moulinier laisse reposer les phases, puis retire l'eau de végétation afin de ne conserver que l'huile d'olive.

Ce procédé de décantation gravitationnelle possède cependant quelques inconvénients. En effet, le temps de séparation des phases peut être relativement long (quelques heures à quelques jours), or le temps de contact entre l'eau et l'huile a une influence négative sur la qualité finale de l'huile d'olive. De plus, les systèmes de trituration métalliques augmentent l'émulsion huile/eau et cette émulsion est trop stable pour être séparée par simple décantation à échelle industrielle. Afin d'accélérer la séparation des phases, le mélange huile/eau est passé dans une centrifugeuse. La vitesse de rotation de la centrifugeuse va rompre l'émulsion et favoriser la séparation des deux phases liquides.

2.4. Raffinage

Les huiles vierges lampantes doivent être soumises à un processus de raffinage pour en corriger les paramètres non conformes aux normes internationales (Argenson et al., 1999). Les défauts à éliminer sont l'acidité trop élevée, excès de couleur et odeur ou saveur trop prononcées.

Les opérations de correction consistent en :

2.4.1. La neutralisation

Deux procédés sont utilisés pour éliminer l'excès d'acides gras:

- méthode physique par distillation fractionnée des acides gras.
- méthode chimique au moyen d'une solution de soude dont la concentration et les quantités sont soigneusement dosées. Après avoir agité et chauffé le mélange, on le laisse refroidir et reposer. La solution savonneuse ainsi formée se sépare de l'huile neutralisée par différence de densité. L'huile est soumise à un lavage qui élimine toute trace de savon (Argenson et al., 1999).

2.4.2. La décoloration

Elle se fait par passage sur une terre décolorante ou des charbons actifs (Argenson et al., 1999).

2.4.3. La désodorisation

Elle est obtenue par action de vapeur d'eau surchauffée sous vide à la température de 190-200°C; le vide est maintenu pendant toute la durée du refroidissement. Cette précaution est indispensable pour éviter que l'huile chaude ne reprenne un goût désagréable au contact de l'air. On obtient ainsi l'huile d'olive raffinée; les huiles raffinées sont commercialisées telles quelles ou plus généralement coupée en proportions variables avec de l'huile d'olive vierge comestible; le coupage obtenu constitue l'huile pure d'olive (Argenson et al., 1999).

2.5. Les conditions de stockage de l'huile d'olive

Le stockage des huiles au niveau des unités de production ou des centres de conditionnement se fait dans des cuves en ciment avec un revêtement en carrelage . Il existe de gros réservoirs en acier inoxydable, ou en vitrorésine de bonne inertie chimique (Dargon., 1971), ou en fer qui sont utilisés pour le stockage des huiles lampantes destinées au raffinage, ces réservoirs sont munis d'une colonne indiquant le niveau d'huile avec une soupape de décharge des boues et d'une robinetterie. Le stockage à une température de 10 à 15°C est considéré comme étant idéal (Psyllakis et al., 1980). Il faut éviter l'aération des lieux de stockage et utiliser des cuves constituées de matériaux inoxydables, avec des parois internes lisses, facilement lavables et imperméables à la lumière et à l'air, aux gaz et aux liquides de l'intérieur vers l'extérieur ou de l'extérieur vers l'intérieur.

3. Classification des huiles d'olive (COI., 2012)

Elle est commercialisée selon les dénominations et définitions ci-après :

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

3.1.1. Les huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état comportent:

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

- **L'huile d'olive vierge**: huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes;

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

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

3.2. L'huile d'olive raffinée: est l'huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modifications de la structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3 gramme pour 100 grammes.

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

4. Composition chimique de l'huile d'olive

L'huile d'olive est composée d'une fraction saponifiable et d'une fraction insaponifiable

4.1. Fraction saponifiable

Elle représente 99% de l'huile, composée des acides gras qui constituent les triglycérides

4.1.1. Glycérides

L'huile d'olive renferme près de 98-99 % de Triglycérides. Les mono glycérides et diglycérides représentent respectivement 0,1 à 0,25 % et 2 à 3%. (Fedeli., 1977). Les acides gras sont distribués dans le triglycéride de l'huile d'olive en position 1 et 3 au hasard. Les triglycérides prédominants sont représentés dans le tableau 4:

Tableau 12 - Principaux triglycérides de l'huile d'olive (Fedeli., 1977)

Nature	POO	SOO	POL	OOO	OOL
% des triglycérides	18,4%	5,1%	5,9%	43,5%	6,8%

4.1.2. Acides gras

Les limites de la composition en acides gras fixées par le conseil oléicole international sont représentées dans le tableau 13.

Tableau 13: Composition en acides gras de l'huile d'olive (COI., 2012).

Acide gras	Dénomination	Pourcentage
C14:0	Acide myristique	< 0,03
C16:0	Acide palmitique	7.50 - 20.00
C16:1	Acide palmitoléique	0.30 - 3.50
C17:0	Acide heptadécanoïque	≤ 0.30
C17:1	Acide heptadécénoïque	≤ 0.30
C18:0	Acide stéarique	0.50 - 5.00
C18:1	Acide oléique	55.00 - 83.00
C18:2	Acide linoléique	3.50 - 21.00
C18:3	Acide linoléinique	≤ 1.00
C20:0	Acide arachidique	≤ 0.60
C20:1	Acide gadoléique	≤ 0.40
C22:0	Acide béhénique	≤ 0.20
C24:0	Acide lingnocérique	≤ 0.20

Le plus grand pourcentage des acides gras de l'huile d'olive est constitué par les acides gras insaturés, parmi lesquels les mono insaturés, l'acide oléique représente la quantité la plus importante (Publio and Mireila., 1987).



Figure 12. Structure d'un acide gras mono insaturé: Acide oléique (C18 :1; 9)

- Le deuxième parmi les acides gras insaturés est l'acide linoléique, il se trouve à un rapport avec le α -tocophérol dans l'huile (1 / 1, 87g d'acide linoléique par mg de la vitamine E) qui lui donne une bonne valeur biologique (Psyllakis et al., 1980).

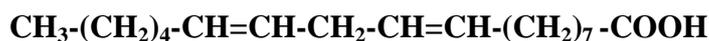


Figure 13. Structure d'un acide gras mono insaturé Acide linoléique (C18:2 ; 9,12)

- Les autres acides insaturés qu'on rencontre dans l'huile d'olive comme l'acide linoléique (C18 :3), l'acide palmitoléique se trouvent en quantité réduite (trace). (Psyllakis et al., 1980).



Figure 14. Structure d'un acide gras mono insaturé: Acide linoléique (C18:3 9, 12, 15)

- Parmi les acides gras saturés, il y a l'acide palmitique qui représente le plus grand pourcentage, suivi par l'acide stéarique et en quantités très réduites, les acides arachidique et myristique (Psyllakis et al., 1980).

4.2. Fraction insaponifiable

Comme toutes les autres huiles végétales, l'huile d'olive contient en plus des glycérides, différents composés chimiques présents en petites quantités; les composants mineurs; pour leur faible concentration dans l'huile. Les composants mineurs sont recherchés dans la fraction insaponifiable (Fedeli., 1977). L'huile d'olive renferme un mélange extrêmement complexe de composés variés: tocophérols, stérols, hydrocarbures, alcools terpéniques, phospholipides, substances aromatiques, pigments et enfin composés phénoliques (Púbilo and Mirella., 1987).

4.2.1. Tocophérols

Les tocophérols sont des composés d'un noyau hydroxychromane qui porte un groupement hydroxyle phénolique ; dans l'huile il y a des tocophérols α , β , δ , γ ; ce mélange se compose de 88.5% de α -tocophérol, 9,9% de β et γ -tocophérol et 1,6 % de δ -tocophérol

(Fedeli., 1977). Tous les tocophérols présentent l'action de la vitamine E qui s'accroît de σ - tocophérol jusqu'à α -tocophérol. Les tocophérols, hors leur action biologique (Vitamine E) présentait des actions antioxydants qui contribuent à la protection de l'huile d'olive de la rancidité causée par l'oxygène (Psyllakis et al., 1980).

4.2.2. Stérols

Les stérols sont des alcools supérieurs monovalents. Les principaux stérols identifiés dans l'huile sont: Le Beta-sitosterol «**I**», le stigmastérol «**II**» et le campesterol «**III**» (Fedeli., 1977).

4.2.3. Hydrocarbures

Il existe dans l'huile d'olive des hydrocarbures triterpeniques poly-insaturés dont le squalene ($C_{30}H_{50}$) précurseur de la biosynthèse des stérols et le principale composé de la fraction hydrocarbure (1,5mg /Kg) ; les autres hydrocarbures aromatiques polycycliques sont : phénanthrene, pyrène, fluaurantrène, 1,2 Benzentracène, crisène et peritène ,dans l'huile d'olive, leur concentrations en mg/Kg sont respectivement : 0.2, 0.27, 0.14, 0.7, 0.05 et 0.12 (Fedeli., 1977).

4.2.4. Les substances colorantes (Pigments)

Dans l'huile d'olive on rencontre principalement les chlorophylles a et b, les caratines, carotinides, les antocyanes et d'autres; l'action des chlorophylles est caractérisée, en plus de leur influence sur la couleur, elles accélèrent les réactions avec l'oxygène qui joue un rôle de catalyseur quand les chlorophylles sont exposées à la lumière; la teneur de l'huile d'olive en chlorophylle est liée au degré de la maturité du fruit et au contenu en feuilles pendant l'élaboration à l'huilerie (Perrin., 1992).

D'après Psyllakis et al., (1980), la β carotène ou provitamine A possède une action vitaminique et exercerait une action anti-oxydante; sa teneur est variable selon la région de culture de 0,3 à 3,7 mg / Kg.

4.2.5. Les composés phénoliques

L'huile d'olive vierge est quasiment la seule huile contenant des quantités notables en substances phénoliques naturelles, qui lui confèrent son goût si particulier à la fois amer et fruité (Perrin., 1992) ; la teneur en polyphénols de l'huile d'olive vierge varie de 50-500 ppm

exprimée en acide caféique; les poly phénols les plus importants sont le tyrosol et l'hydroxy-tyrosol (Vasquer., 1978).

Les substances phénoliques contribuent pour une grande part à la bonne stabilité des huiles d'olives vierges qu'il s'agissent de la résistance à l'auto oxydation ou à la thermo oxydation; les eaux de végétation des olives « margines » sont riches en composés libres; les teneurs dépendent des variétés de fruits, de leur maturation et du procédé d'obtention de l'huile (pression ou centrifugation); les teneurs en phénols des huiles d'olives sont cent mille fois plus faibles que celles des margines (Perrin., 1992).

4.2.6. Autres composés mineurs

L'huile d'olive présente une petite quantité non appréciable de phospholipides; la proportion varie de 40 à 135 ppm. Fedeli a démontré que l'huile renferme une quantité non appréciable des n-alcools aliphatiques saturés, alcools triterpeniques estérifiés et libre (Fedeli., 1977).

5. Les Intérêts thérapeutiques

A coté des intérêts nutritionnels que présente cette huile merveilleuse, d'autres effets bénéfiques sont connus depuis longtemps, notamment sur la fonction digestive, le phénomène de croissance et de vieillissement.

Selon Leger., (2003), l'huile d'olive a des propriétés bénéfiques pour la santé et surtout ses bienfaits thérapeutiques.

5.1. L'huile d'olive et les maladies cardiovasculaires

Différentes recherches ont permis de démontrer l'effet antithrombotique et antiagrégant plaquettaire de l'huile d'olive Il a été vérifié que les régimes riches en huile d'olive permettaient en effet d'atténuer l'effet prothrombotique des aliments gras en évitant une coagulation sanguine excessive.

En revanche, des recherches ont permis d'observer l'existence d'un lien étroit entre le régime alimentaire et la pression (ou tension) artérielle. La consommation habituelle d'huile d'olive permet de réduire les valeurs de tension artérielle systolique (maximale) et diastolique (minimale).

5.2. L'huile d'olive et le diabète

Il a été démontré qu'un régime alimentaire riche en huile d'olive, pauvre en graisses saturées, modérément riche en hydrates de carbone et en fibres solubles provenant des fruits, des légumes verts, des légumes secs et des céréales, constituait le choix alimentaire le plus efficace pour les sujets diabétiques. Ce régime permet non seulement de réduire la concentration des lipoprotéines athérogéniques (LDL) mais également d'améliorer le contrôle du glucose dans le sang et d'augmenter la sensibilité à l'insuline.

5.3. L'huile d'olive et l'appareil digestif

Dès le moment où elle est introduite dans la bouche, l'huile d'olive exerce une série d'effets tout au long de l'appareil digestif.

5.3.1. L'huile d'olive et l'estomac

Dans l'estomac, en ne diminuant pas le tonus du sphincter gastro-oesophagique, l'huile d'olive réduit le risque de reflux d'acidité de l'estomac vers l'œsophage. De même, l'huile d'olive inhibe partiellement la motilité gastrique : la vidange du contenu gastrique depuis l'estomac jusqu'au duodénum est alors plus lente et progressif; la sensation de satiété est plus grande et la digestion et l'absorption des nutriments dans l'estomac sont favorisées.

5.3.2. L'huile d'olive et le système hépatobiliaire

En outre, elle exerce sur le système hépatobiliaire une action cholagogue cholécystokinétique, double action garantissant un drainage biliaire optimal et une vidange complète de la vésicule. Elle stimule également la synthèse de sels biliaires dans le foie et augmente l'excrétion hépatique du cholestérol.

5.3.3. L'huile d'olive et le pancréas

En ce qui concerne le pancréas, l'huile d'olive lui permet de ne produire qu'une sécrétion réduite, il fonctionne de manière efficace et suffisante pour mener à bien toutes ses fonctions digestives.

5.3.4. L'huile d'olive et l'intestin

Sur l'intestin grêle, l'huile d'olive empêche partiellement l'absorption du cholestérol, grâce au sitostérol qu'elle contient, et favorise l'absorption de divers éléments (calcium, fer, magnésium, etc.).

5.4. L'huile d'olive et l'ostéoporose

L'huile d'olive semble avoir un effet favorable sur la calcification des os et sa consommation en plus grande quantité correspond à une meilleure minéralisation osseuse. Elle favorise l'absorption de calcium et exerce un rôle important au moment de la croissance et dans la prévention de l'ostéoporose.

5.5. L'huile d'olive et la peau

Dès l'âge de 25 ans débute le progressif et inexorable processus de vieillissement cutané. Il résulte des effets conjoints d'une dégradation accélérée des structures cutanées et d'un ralentissement de leur renouvellement. Les changements qui vont affecter le tissu cutané se manifestent notamment par l'amincissement du derme et de l'épiderme, par la perte des fibres élastiques, par la fibrose avec accumulation de collagène, la perte des capacités défensives et réparatrices (Chevallier, 2009).

Le vieillissement physiologique, génétiquement programmé, peut être plus ou moins accéléré et aggravé par des facteurs externes (radiations solaires, environnement, hygiène de vie, facteurs nutritionnels...) et la génération de radicaux libres. Même si les cellules sont munies de mécanismes de défense, il est possible de réduire l'altération cellulaire en ayant recours à des inhibiteurs. A ce titre, l'huile d'olive constitue un inhibiteur naturel, car son profil lipidique est très semblable à celui de la peau de l'être humain.

L'huile d'olive contient, en plus des polyphénols, une proportion importante de vitamine E, source principale de protection face aux radicaux libres, ainsi que des vitamines A, D et K. A cet égard, l'huile d'olive est un bon allié de thérapies spécifiques dans des processus dermatologiques comme l'acné, le psoriasis et les eczémas séborrhéiques.

5.6. L'huile d'olive et ses propriétés antioxydantes

Les agents antioxydants sont la vitamine E (alpha- tocophérol) , les caroténoïde et les composés phénolique (l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine) dont l'activité a été vérifiée in vitro et in vivo , ce qui a permis de découvrir de nouveaux effets positifs des antioxydants dans la prévention de certaines maladies et du vieillissement, les phénols ont de nombreuses fonction biologique: l'hydroxytyrosol inhibe l'agrégation plaquettaire et a une action anti-inflammatoire, et l'oleuropéine favorise la formation d'oxyde nitrique, puissant agent vasodilatateur, protecteur des vaisseaux sanguins et antibactérien.

L'huile d'olive n'exerce pas seulement un effet positif protecteur face à l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui, lorsqu'elles sont oxydées, sont athérogéniques, mais elle renforce également d'autres cellules de l'organisme face à l'action toxique des oxydants. Cette richesse en antioxydants est due probablement au fait que l'olive , qui est un fruit exposé à l'aire, est obligée de se défendre de l'oxygène et doit par conséquent synthétiser une plus grande quantité de substances antioxydants , que l'on retrouve par la suite dans l'huile dont elle extraite.

Deuxième partie
Matériels et Méthodes

Partie II – Matériel et méthodes

1. Animaux et protocole expérimental

1.1. Animaux

Dans cette étude, nous avons utilisé comme modèle expérimental des rats mâles, albinos de souche Wisrtar (n=75), âgés de 21 jours (sevrage) et pesant environ 87.98 ± 15.95 g (n=15 par groupe) fournis par l'Institut Pasteur d'Algérie (Annexe de kouba). L'expérimentation a eu lieu à l'animalerie de laboratoire "Animaux de laboratoire" de l'Institut Pasteur d'Algérie (Annexe kouba).

Les rats ont été répartis individuellement dans des cages en polypropylène et maintenus à une température de $22^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ et une humidité relative de 50 % dans des chambres ventilées avec un cycle jour – nuit de 12 heures. L'expérimentation a été effectuée selon le guide pour la protection des animaux de laboratoire conformément au guide de santé de l'institut national (Reg. No. 488/160/1999/CPCSEA).

1.2. Protocole expérimental

Les rats ont été maintenus pendant une semaine sous un régime synthétique équilibré (phase d'adaptation) (tableau 14).

Après la période d'adaptation d'une semaine, les rats ont été répartis en cinq (05) lots expérimentaux (15 rats / lot):

Lot 1 "T" : lot témoin, dont les rats sont soumis au régime synthétique supplémenté par 10 % de l'huile de tournesol (tableau 14)

Lot 2 "HA" : les rats sont soumis à un régime synthétique, supplémenté par 10 % de l'huile d'argan (tableau 14)

Lot 3 "HOV" : les rats sont soumis à un régime synthétique, supplémenté par 10 % de l'huile d'olive vierge (tableau 14)

Lot 4 "HA+Lyc" : Les rats sont soumis à un régime synthétique, supplémenté par 10 % d'huile d'argan enrichie de lycopène de tomate (tableau 14)

Lot 5 “HOV+Lyc” : Les rats sont soumis à un régime synthétique, supplémenté par 10 % d’huile d’olive vierge enrichie de lycopène de tomate (tableau 14)

Les régimes ainsi que l’eau sont fournis ad-libitum. La période expérimentale s’étale sur une durée de 09 semaines après une période d’adaptation d’une semaine. Le premier prélèvement du sang, l’extraction du foie et les pesées sont réalisés après une semaine d’adaptation. L’opération est ensuite répétée toutes les 03 semaines. Pendant la période d’adaptation (07 jours), tous les rats reçoivent un régime équilibré (tableau 14).

1.3. Préparation des régimes

La composition du régime est inspirée de celle proposée par Varela et al., (1995) ; Hochgraf et al., (1997) ; Sanchez-Muniz et al., (1998). Le régime est composé de 16 % de protéines, 28 % de sucre simple, 10 % de lipides, 7 % de minéraux, 1 % de vitamines, 3 % de fibres (agar) et on complète la composition à 100 % par un sucre complexe (amidon de maïs).

La fraction protéique est apportée par la poudre de lait écrémé, supplémentée avec de la DL Méthionine ; la même quantité de poudre de lait fournit 3,16 % de minéraux, 20,63 % de sucre simple sous forme de lactose et le reste est complété par le saccharose.

Les aliments ont été préparés par fraction de 500 g d’aliments chaque trois (03) jours et conservés à une température de 04°C dans des boîtes hermétiques.

Tableau 14 : Composition du régime alimentaire des rats (g/100 g d'aliments)

Ingrédients	T	HOV	HOV+Lyc	HA	HA+Lyc
Poudre de lait écrémé	42.11	42.11	42.11	42.11	42.11
Saccharose	7.37	7.37	7.37	7.37	7.37
Huile de tournesol	10	-	-	-	-
Huile d'Argan	-	-	-	10	10
Huile d'Olive Vierge	-	10	10	-	-
Lycopene	-	-	0,1	-	0,1
Complément minéral*	3.84	3.84	3.84	3.84	3.84
Complément vitaminique**	1	1	1	1	1
Fibres (Agar)	3	3	3	3	3
DL Méthionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Amidon de maïs	23.38	23.38	23.28	23.38	23.28
Humidité	9	9	9	9	9
TOTAL	100	100	100	100	100
ENERGIE (kcal)	359	359	359	359	359

T : Régime témoin

HO : Régime à l'Huile d'olive vierge

HO-Lyc : Régime à l'huile d'olive vierge enrichie de lycopene

HA : Régime à l'Huile d'argan HA-Lyc ; Régime à l'huile d'argan enrichie de lycopene

* (g/kg régime) : CaHPO₄.2H₂O, 380 ; K₂HPO₄, 240 ; CaCO₃, 180 ; NaCl, 69 ; MgO, 20 ; MgSO₄.7H₂O, 90, FeSO₄.7H₂O, 8,6 ; ZnSO₄.H₂O, 5 ; MnSO₄.H₂O, 5 ; CuSO₄.H₂O, 0,04 ; CoCo₃, 0,02 ; NaSeO₃.5H₂O, 0,02.

** (mg/g régime) : vitamine A, 10 ; cholécalciférol, 0,0625 ; vitamine C, 100 ; vitamine E, 50 ; acide folique, 2 ; chlorhydrate choline, 750 ; inositol, 50 ; acide aminobenzoïque, 50 ; acide nicotinique, 45 ; thiamine HCl, 10 ; riboflavine, 10.

Tableau 15 : Analyse de la composition en acides gras des huiles utilisées.

AG %	Huile d'Argan	Huile d'olive vierge
14:0	0,17	0,10
15:0	0,00	0,00
16:0	13,73	10,80
18:0	6,07	3,50
20:0	0,00	0,20
AGS	19,97	14,6
16:1	0,14	0,40
18:1	47,43	73,40
20:1	0,00	0,20
AGMI	47,57	74,00
18:2n-6	32,46	11,10
18:3n-6	0,00	0,30
AGPI	32,46	11,40
AGI	80,03	85,40
AGS/AGI	0.25	0.17

2. Etude expérimentale

2.1. Prélèvements sanguins

Ils sont effectués à jeun au niveau du sinus rétro orbital. Le sang recueilli est centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 minutes. Le sérum obtenu dans des tubes secs est conservé à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment des dosages.

2.2. Prélèvements des organes

Les rats sont anesthésiés par injection intramusculaire de 50 mg.kg^{-1} de ketamine et sacrifiés pour obtenir du sérum sanguin par ponction du ventricule cardiaque, le foie est rapidement prélevé, rincé par une solution saline à 9 pour mille, séché, pesé et congelé à $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, puis lyophilisé et conservé dans des boîtes de Petri jusqu'à son utilisation.

2.3. Analyses biologiques

Les analyses biochimiques ont porté sur les paramètres sériques (CT, HDL-C, -LDL-C, TG et les Phospholipides en plus des marqueurs hépatiques, notamment, l'ALAT, l'ASAT et la PAL).

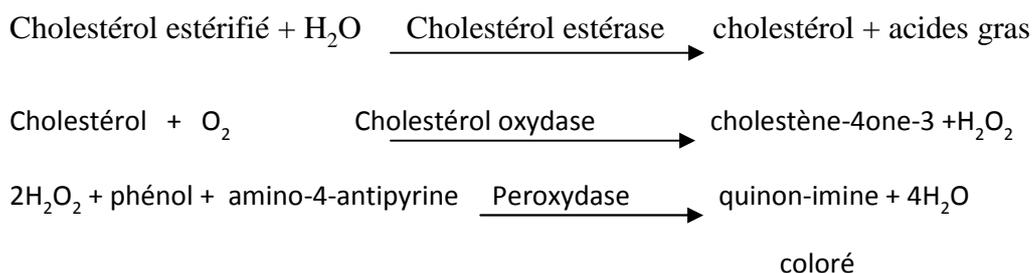
2.3.1. Dosage des paramètres sériques

2.3.1.1. Le cholestérol total (CT)

le dosage de cholestérol total est effectué par la méthode enzymatique CHOD-PAP (Diagnostic Merck).

Principe

Les esters de cholestérol sont hydrolysés par une cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre et en acides gras. Le cholestérol libre et celui préexistant sont oxydés par une cholestérol -oxydase en cholestenone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase, oxyde le chromogène fournissant ainsi un composé coloré



Mode opératoire

1- dans trois (03) tubes , introduire :

	Témoin	Calibrant	Dosage
Calibrant	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml

Bien mélanger et incuber 03 mn à 37 °C.

2- Lire à 500 nm les DO du dosage et de l'étalon contre le témoin.

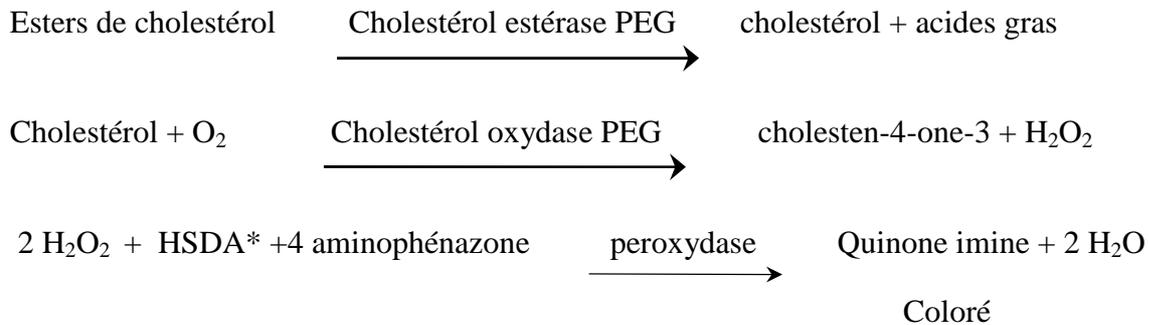
- calculer la concentration en CT selon la formule suivante :

$$CT \text{ (g/l ou mmol/l)} = (DO \text{ dosage} / DO \text{ calibrant}) \times \text{Concentration du calibrant}$$

2.3.1.2- Le cholestérol HDL : (Méthode de Biotrol Diagnostic)

Principe

Dans une première étape, l'échantillon est mis en contact avec du sulfure d'α-cyclodextrine et du sulfate de dextran. Ces composants vont former des complexes hydrosolubles avec les LDL, VLDL et chylomicrons. Ces complexes sont résistants à l'action des enzymes traitées au PEG (cholestérol – oxydase PEG et cholestérol estérase PEG). Dans la 2ème étape, seule la fraction cholestérol-HDL va donc entrer dans la réaction enzymatique selon le schéma suivant :



* N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-diméthoxy-3,5 aniline.

Mode opératoire

1- Introduire dans trois (03) tubes :

	Témoin	Calibrant	Dosage
Calibrant	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	-
Réactif1	750 µl	750 µl	750 µl

Incubation 05 mn à 37 °C.

2- Mesurer à 600 nm les DO du dosage et du calibrant contre le témoin

Calcul :

$$\text{C-HDLT (g/l ou mmol/l)} = (\text{DO dosage/DO calibrant}) \times \text{Concentration du calibrant}$$

2.3.1.3. Le cholestérol LDL

Il est obtenu par calcul, suivant la formule proposée par Friedwald et al., (1972), Frey and Couderc., 1998) :

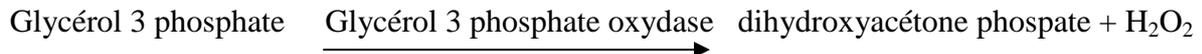
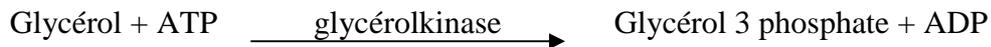
$$\text{C-LDL (g/l)} = \text{CT} - \text{TG/5} - \text{C-HDL}$$

2.3.1.4. Dosage des Triglycérides

Le dosage des triglycérides est effectué selon la méthode enzymatique PAP 1000 (Méthode de Bio Mérieux).

Principe

Le glycérol libéré par hydrolyse des triacylglycérols sous l’action d’une lipoprotéine lipase est transformé en glycérol-3-phosphate sous l’action de la glycérol kinase. Ce dernier subit l’action de la glycérolphosphate oxydase pour former le dehydroxyacétone-phosphate et du peroxyde d’hydrogène. Celui-ci en présence de peroxydase oxyde le groupement chromogène pour donner naissance à un composé coloré.



Mode opératoire

1- Introduire dans trois (03) tubes :

	Témoin	Etalon	Dosage
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	-
Solution de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger. Incuber 05 mn à 37 °C .

3- Lire la DO de l'étalon et du dosage contre le témoin.

Calcul :

$$\text{TG (g/l ou mmol/l)} = (\text{DO dosage/DO calibrant}) \times n$$

Avec n : concentration de l'étalon en g/l ou mmol/l.

2.3.2. Dosage plasmatique des transaminases ASAT/ALAT

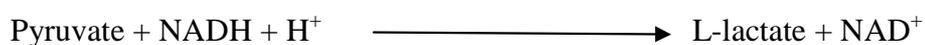
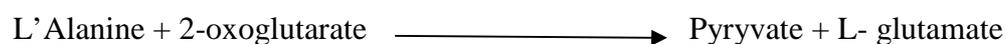
Les analyses des enzymes hépatiques ont été effectuées sur un analyseur de type COBAS INTEGRA 400 plus (Roche Diagnostics, Suisse).

L'aspartate aminotransferase (ASAT) et l'alanine aminotransferase (ALAT), font partie d'un groupe d'enzymes les amino-transférases ou transaminases, qui catalysent la transformation réversible des acides α -cétoniques en acides amines par transfert de groupes amines. L'ASAT et l'ALAT sont toutes deux normalement présentés dans le plasma, la bile, le liquide céphalo-rachidien mais sont absentes dans l'urine, sauf en cas de lésion rénale. Lors de nécroses hépatiques, les concentrations plasmatiques en ASAT et en ALAT s'élèvent avant même l'apparition des signes cliniques et des symptômes. Bien que les concentrations sériques en ASAT et en ALAT augmentent toutes deux lors de tout processus affectant l'intégrité des cellules hépatiques, l'ALAT est l'enzyme la plus spécifique du foie. En revanche une élévation du taux d'ASAT peut survenir avec des lésions du cœur ou des muscles squelettiques au même titre qu'avec des lésions du parenchyme hépatique. Une élévation de l'activité de l'ALAT sérique n'est que rarement observée lors de maladies autres que des pathologies du parenchyme hépatique (Himmerich et al., 2005).

2.3.2.1. Dosage de l'activité enzymatique de l'ALAT

L'enzyme Alanine-aminiotransférase (ALAT) est présente dans de nombreux tissus. On la trouve surtout dans le foie, d'où l'intérêt de mesurer son activité pour le diagnostic des maladies hépatiques. Le kit COBAS INTEGRA Alanine Amino-transférase (ALAT) contient un système de réactifs de diagnostic in vitro destiné à la détermination quantitative de l'activité catalytique de l'ALAT dans le sérum et le plasma.

Le principe d'analyse est basé sur les recommandations de la Fédération Intégration de Chimie Clinique (IFCC) mais sans le phosphate de pyridoxal (Bergmeyer et al., 1986 et Eccl., 1999). L'ALAT catalyse la réaction entre la L-alanine et le 2-oxoglutarate. Le pyruvate formé est réduit par le NADH, dans une réaction catalysée par la lactate-déshydrogénase (LDH) pour former du L-lactate et NAD^+ .

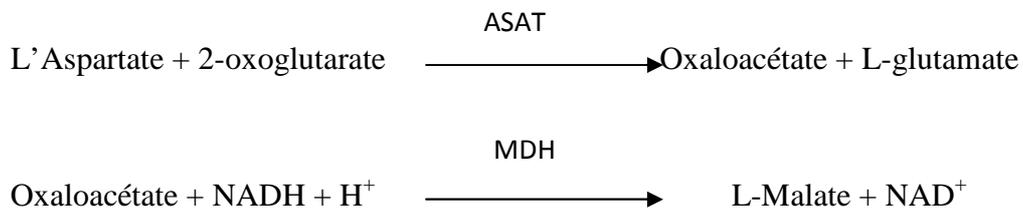


La vitesse initiale de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALAT. Elle est déterminée par diminution de l'absorbance à 340 nm. Le calcul des résultats est réalisé automatiquement par l'analyseur et le $01U/l \times 0,0167 = 01 \mu\text{kat}/l$.

2.3.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de l'ASAT

Le kit COBAS INTGRA Aspartate Aminotransférase (ASAT) contient des réactifs de diagnostic in vitro destinés à la détermination quantitative de l'activité catalytique de l'ASAT dans le sérum et le plasma.

Le principe est basé sur les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) avec le phosphate de pyridoxal. L'ASAT de l'échantillon catalyse le transfert du groupement amine entre le L-aspartate et le 2-oxoglutarate pour former du L-glutamate. L'oxaloacétate réagit ensuite avec le NADH, en présence de malate-déshydrogénase (MDH), pour former du NAD^+ . Le phosphate de pyridoxal agit comme un coenzyme dans la réaction de transfert d' amino. Il garantit une activation anzymatique complète.

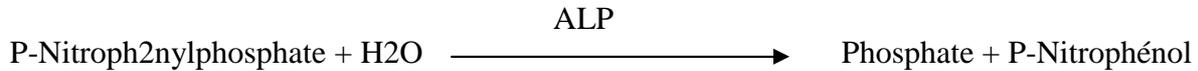


La vitesse initiale de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ASAT. Elle est mesurée par la diminution de l'absorbance à 340 nm. Le calcul des résultats est réalisé automatiquement par l'analyseur et le facteur de conversion est $01U/l \times 0,0167 = 01 \mu\text{kat}/l$.

2.3.2.3. Dosage de l'activité enzymatique de la PAL

Le kit COBAS INTEGRA contient des réactifs in vitro destinés à la détermination quantitative de l'activité catalytique de la phosphatase alcaline dans le sérum.

Le principe d'analyse est basé sur la méthode standardisée du test colorimétrique (Tietz., 1983). En présence d'ions Mg^{++} et Zn^{++} , le p-nitrophénylphosphate est sciendé par les phosphatases alcalines en phosphate et p-nitrophénol.



La concentration en p-nitrophénol libérée est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 409 nm $01\text{U/l} \times 0,0167 = 01\mu\text{kat/l}$.

2.4. Préparation du tissu et mesure de l'indice hépto-somatique :

Après sacrifice des rats, le foie est séparé de chaque animal, rincé avec une solution de l'eau physiologique salé à 9 pour mille, pesé pour calculer l'indice hépto-somatique. L'IHS est calculé par comparaison du poids hépatique avec le poids corporel « poids de l'organe / poids corporel $\times 100$ »).

2.5. Caractéristiques Physico-chimiques et profil des acides gras des huiles expérimentales :

2.6. Les paramètres physicochimiques :

L'indice de réfraction des huiles étudiées à été mesuré à température ambiante en utilisant un réfractomètre ABBe (Carl Zeiss, Jena, Allemagne). Les paramètres chimiques (indice d'iode, indice de peroxyde, indice de saponification et l'acidité) ont été déterminés par des méthodes standards (AOAC., 1990).

2.5.2. Profil des acides gras des huiles par chromatographie en phase gazeuse

2.5.2.1. Extraction des lipides totaux

L'extraction des lipides est basée sur la technique de Folch et al.,(1957), modifiée par Pollet et al.,(1978) utilisant le mélange chloroforme / méthanol (2/1, v/v) comme solvant d'extraction. Dans cette proportion, le méthanol rompt les liaisons lipides – protéines et le chloroforme solubilise les lipides. Après broyage des lyophilisats, on ajoute 10 ml de chloroforme /méthanol. Cette étape est suivie d'une sonication pendant 35 à 45 secondes. Les échantillons sont mis en contact avec le solvant pendant 1 à 2 heures.

Après une centrifugation à 2000 trs/mn pendant 3 minutes, la phase supérieure subit le lavage de FOLCH. Pour cela, on rajoute 1ml d'eau distillée, après agitation rapide au vortex et centrifugation, on élimine la phase supérieure. A la phase inférieure, on ajoute un volume de 0,75 ml de mélange chloroforme – méthanol – eau (3/48/47, v/v/v). Après centrifugation, la phase inférieure est lavée de nouveau avec un même volume de solvant. La phase finale contenant des lipides est évaporée à sec sous un flux d'azote. Les extraits lipidiques totaux secs sont méthylés.

2.5.2.2. Méthylation des extraits lipidiques

La méthode appliquée est celle de Morrisson and Smith.,(1964). Sur les extraits lipidiques secs, on ajoute 1 ml de BF₃ (Trifluorure de bore dans le méthanol à 14 %). Le mélange est transméthylé à 100 °C pour éliminer les lipides non polaires. Les esters méthyliques sont alors extraits 2 fois par l'hexane en présence d'eau , puis évaporés à sec. Les esters méthyliques d'AG sont analysés par chromatographie en phase gazeuse.

2.5.2.3. Conditions opératoires de la chromatographie en phase gazeuse (CPG-FID)

L'analyse est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (HP Agilent 6890), équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. Les échantillons sont injectés (température d'injection 250°C) sur deux colonnes capillaires (polaire : HP-WAX et apolaire HP-5MS , longueur : 30 m, d.i : 0,25 mm, épaisseur du film : 0,25 µm) élué par de l'azote à 0,3 ml/min avec un rapport Split de 10.

La température de la colonne est programmée à 50°C pendant 2 min, ensuite la température est portée à 240°C avec un gradient de 4°C/min. La séquence s'achève après 40 min à 240°C. Durant l'opération, le courant d'ionisation est mesuré à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) à 260°C. Les données sont enregistrées à l'aide du logiciel HP-Chemstation.

2.5.2.4. Identification par les étalons des acides gras estérifiés (FAMES)

Afin d'avoir une idée sur la composition des extraits lipidiques, nous avons fait recours en premier lieu à l'identification des acides gras par l'injection des étalons et faire comparaître les spectres des composés du même temps de rétention. Ceci peut être réalisé par l'injection des étalons et des extraits dans les mêmes conditions en CPG.

2.5.2.5. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Les composés des extraits sont analysés en utilisant un chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse à impact d'électrons (HP/MSD Agilent 5890) opérant dans le mode scan ($m/z = 25-2000$). Les échantillons sont injectés (température d'injection 250°C) dans une colonne capillaire HP-5MS (longueur : 30 m, d.i : 0,25 mm, épaisseur du film : 0,25 μ m) élué par de l'hélium à 0,3 ml/min avec un rapport Split de 10.

La température de la colonne est programmée à 50°C pendant 2 min, ensuite la température est portée à 240°C avec un gradient de 4°C/min. La séquence s'achève après 40 min à 240°C. L'analyse est effectuée sous une énergie d'ionisation de 70 eV (température du filament : 150°C, courant : 600 mA, Potentiel PM : 600 V). L'identification est faite par comparaison des spectres de masse avec la banque de données fournies par le logiciel Chemstation (NIST 2002 et Wiley version 7.0).

2.6. Détermination des composés mineurs des huiles expérimentées (COI., 2009)

La présente norme décrit un procédé d'extraction et de détermination de la teneur en composés mineurs polaires de nature biophénolique (BMP) tels que les dérivés naturels et oxydés de l'oleuropéine et du ligstroside, des lignanes, les flavonoïdes et les acides phénoliques présents dans les huiles d'olive, au moyen de la technique HPLC. L'intervalle de mesure est compris entre 30 mg/kg et 800 mg/kg.

2.6.1. Principe :

La méthode se base sur une extraction des composés mineurs polaires de nature iophénolique directement à partir de l'huile d'olive au moyen d'une solution méthanolique, suivie de leur dosage par HPLC au moyen d'un révélateur UV à 280 nm. L'étalon interne est constitué d'acide syringique. La teneur correspondant aux dérivés naturels et oxydés de l'oleuropéine et du ligstroside, des lignanes, des flavonoïdes et des acides phénoliques est exprimée en mg/kg de tyrosol.

2.6.2. Appareillage :

Chromatographe en phase liquide à haute performance (HPLC), à gradient ternaire, muni d'une colonne (4,6 mm x 25 cm) à phase inverse C18, de type Spherisorb ODS-2 5 μ m, 100 Å, équipé d'un détecteur spectrophotométrique UV à 280 nm et d'un intégrateur.

A Température ambiante, l'enregistrement des spectres par un essai d'identification est facilité par l'emploi d'un détecteur récepteur photodiode avec portée d'acquisition de 200 nm à 400 nm.

2.6.3. Préparation de l'échantillon

Peser exactement 2,0 g d'huile d'olive dans une éprouvette munie d'un bouchon à vis de 10 ml (3.4). Verser 1 ml de la solution d'étalon interne (4.10) à l'échantillon préalablement pesé. Fermer avec le bouchon à vis et agiter pendant exactement 30 secondes (3.5). Ajouter 5 ml de la solution d'extraction constituée de méthanol/eau 80/20 (V/V) (4.8). Agiter (3.5) pendant 1 minute exactement. Isoler dans le bain à ultrasons (3.6) pendant 15 min à température ambiante. Centrifuger à 5 000 tours/min pendant 25 min (3.8). Prélever une aliquote du surnageant et filtrer au moyen d'une seringue en plastique de 5 ml (3.10) à l'aide d'un filtre en PVDF de 0,45 mm (3.7).

2.6.4. Analyse HPLC

Allumer le spectrophotomètre UV au moins 1 heure avant l'analyse. La colonne chromatographique doit être conditionnée au moins 15 min avec le solvant d'élution de composition initiale (eau 0,2 % H₃PO₄ (V/V) /méthanol/acétonitril 96/2/2 (V/V/V)) (schéma gradient d'élution).

Un premier essai chromatographique à "gradient vide" devrait toujours être réalisé au préalable (pour garantir l'absence de pics d'interférence de coélution), en injectant 20 ml de méthanol/eau 80/20 (V/V) (4.8) dans le système HPLC. Injecter 20 ml de la solution d'étalon externe (4.9) et enregistrer le chromatogramme à 280 nm. Calculer les valeurs des facteurs de réponse RF relatifs à 1 mg de tyrosol et à 1 mg d'acide syringique (6.1). Calculer le rapport entre le facteur de réponse de l'acide syringique et le tyrosol, appelé RRF_{sr/tir}. Noter les valeurs (6.2). Injecter 20 ml de la solution finale de l'échantillon dans le système HPLC et enregistrer le chromatogramme à 280 nm. Réaliser deux déterminations indépendantes sur le même échantillon et vérifier que les résultats s'inscrivent dans les paramètres de précision de la méthode. La figure 1 annexée représente un chromatogramme typique des biophénols d'une huile d'olive vierge extra caractérisée par composant. Pour évaluer la teneur totale, on considérera la somme des aires des différents pics. A la fin de la journée, verser dans la colonne chromatographique le méthanol/acétonitril 1/1 (V/V) à 1,0 ml/min pendant au moins 15 min et conserver la colonne dans le méthanol/ acétonitril 1/1 (V/V).

2.7. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart-type des nombres de déterminations portés en duplicate. La comparaison des moyennes a été réalisé par le test one-way analysis de la variance 'ANOVA' suivi par le test Tukey post-hoc. Les résultats ont été considérés statistiquement significatifs lorsque $P < 0.05$. Tous les analyses ont été développés en utilisant GraphPad Prism (version 5.0, 2007; GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Troisième partie
Résultats et Discussion

Partie III. Résultats et discussion

1. Influence des composés mineurs des huiles expérimentées:

Les résultats de la composition des composés mineurs des huiles d'argan et d'olive (tableau 16 et figure 15) montrent que l'huile d'argan présente un taux plus élevé en tocophérols totaux ($627 \pm 13 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ HA}$) et en concentration en stérols ($297 \pm 14 \text{ mg.100 g}^{-1} \text{ HA}$) que l'huile d'olive vierge ($253 \pm 4 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ HA}$ et $283 \pm 14 \text{ mg.100g}^{-1} \text{ HOV}$) respectivement. Tandis que l'HOV présente une concentration en composés phénoliques plus élevée que l'HA ($792.414 \pm 77 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ HOV}$ et $3.263 \pm 29 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ HA}$).

Plusieurs études épidémiologiques et d'interventions nutritionnelles sur le mode alimentaire méditerranéen ont montré leurs effets positifs sur la santé. Des effets bénéfiques fournis par le régime méditerranéen sont dus aux interactions synergiques des composants mineurs contenant dans les produits alimentaires plutôt que l'effet des composants bioactifs isolés (Naziroglu M., 2010).

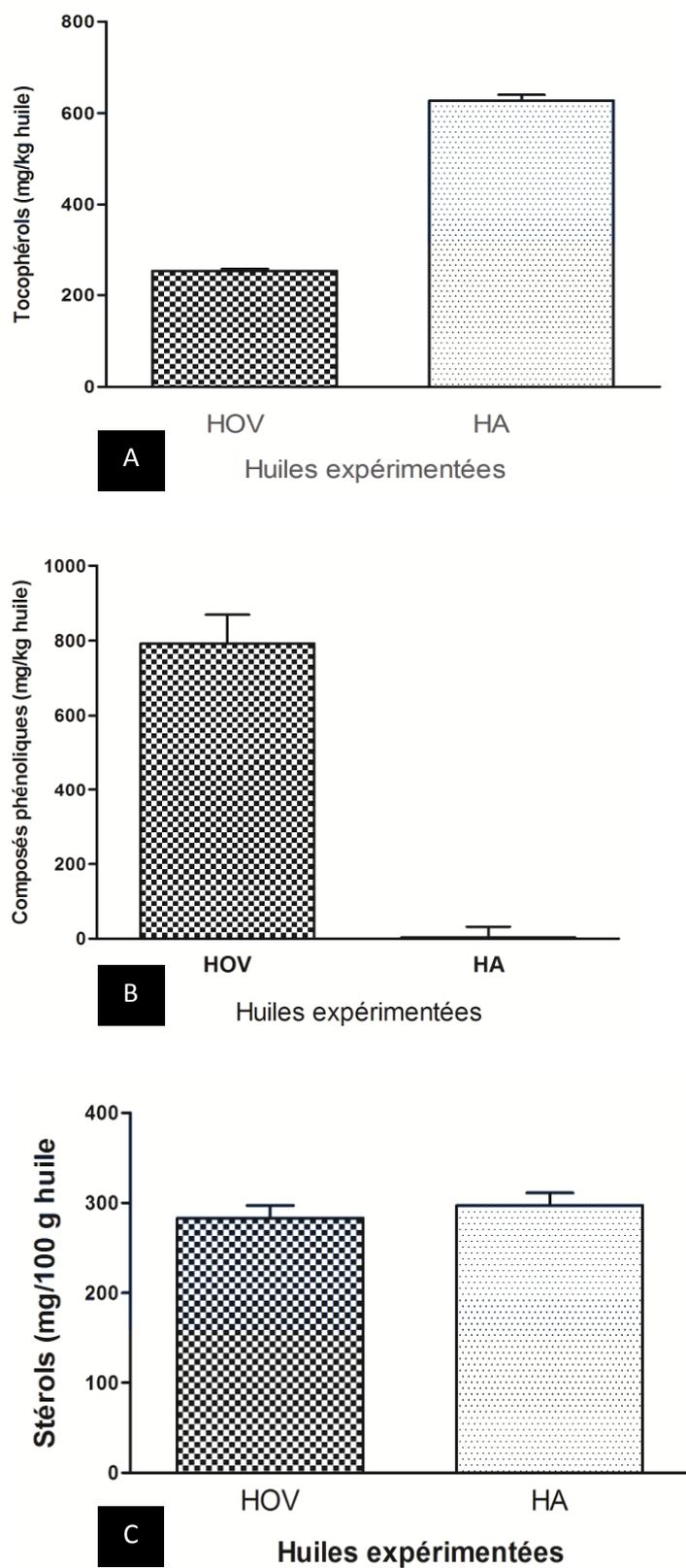


Figure 15 : Concentration en composés mineurs des huiles expérimentées
15.A. Les tocophérols - **15.B.** Les composés phénoliques - **15.C.** Les stérols

Tableau 16: Composition en composés mineurs de l'huile d'argan (HA) et l'huile d'olive vierge (HOV) (Aidoud et al., 2014).

	HA	HOV
Tocophérols (mg/kg huile)		
γ -tocophérols	476 \pm 3	25 \pm 3
α -tocophérol	38 \pm 2	184 \pm 2
δ -tocophérol	113 \pm 5	44 \pm 1
Total	627 \pm 13	253 \pm 4
Stérols (mg/100 g huile)		
Schotténol	132 \pm 15	-
Spinastérol	118 \pm 4	-
δ^{8-22} stigmastadiène-3 β -ol	11 \pm 1	-
β -sitostérol	-	154 \pm 4
Campestérol	2	5 \pm 2
Stigmastérol	-	-
Autre	34 \pm 2	123 \pm 8
Total	297 \pm 14	283 \pm 14
Composés phénoliques (mg/kg huile)		
Acide vanilique	0.067 \pm 3	0.343 \pm 9
Acide Syringique	0.037 \pm 5	0
Acide férulique	3.147 \pm 20	0.054 \pm 1
Tyrosol	0.012 \pm 1	19.617 \pm 18
Autre	0	772.400 \pm 43
Total	3.263 \pm 29	792.414 \pm 77

2. Influence des huiles d'argan et d'olive enrichies en lycopène sur les paramètres de croissance

2.1. Poids corporel

L'évolution de la masse corporelle des différents groupes expérimentés est présentée sur la figure 16. Le poids corporel évolue de manière progressive pour tous les lots. Les régimes expérimentaux n'influent pas de façon significative sur le poids des animaux. Aussi, il n'y a pas d'interaction entre la semaine et le régime, c'est-à-dire, que quelque soit le régime expérimental, le poids évolue de la même manière au cours des semaines.

Les résultats obtenus corroborent avec de nombreux travaux ayant étudiés les effets de l'ingestion des régimes supplémentés par différentes huiles végétales couplées ou non à des antioxydants naturels tels que le lycopène de tomate.

Fernandez et al ., (1996) ; Trautwein et al ., (1997) ; (1999)., Bitam et al .,(2004) qui n'indiquent aucune action significative des huiles végétales alimentaires de composition en AG variée (palme, stéarine de palme, soja, olive, colza, tournesol) sur le poids final.

Une étude réalisée par Berrada et al., (2000) sur des rats *Meriones shawi* a montré que l'administration de l'huile d'argan n'agit pas sur la variation du poids corporel de ces animaux.

Aussi, Benzaria et al .,(2006) lors d'une étude récente a constaté après 04 semaines de traitement qu'aucune différence significative n'est observée sur le poids final des rats nourris de différents régimes supplémentés par différentes huiles végétales (huile d'argan, huile de poisson , huile de tournesol, huile de noix de coco).

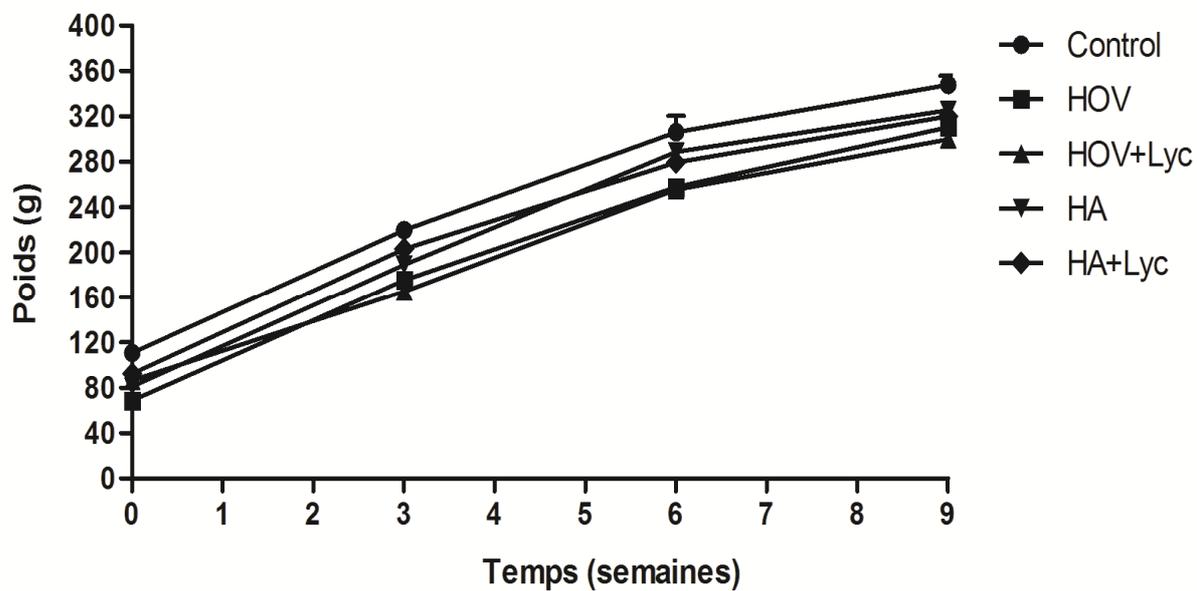


Figure 16 : Evolution du poids corporel des rats supplémentés par les différents régimes : Témoin, HOV, HA, HOV+Lyc et HA+Lyc.

2.2. Gain de poids

Les valeurs de gain de poids corporel enregistrées dans les cinq lots expérimentaux (Témoin, HOV, HOV+Lyc , HA et HA+Lyc) à la fin de la durée de traitement (9 semaines) sont exprimées en moyenne \pm ET (figure 17).

Tableau 17 : Gain de poids des différents groupes de rats supplémentés par les différents régimes alimentaires (Témoin, HOV, HOV+Lyc , HA et HA+Lyc)

Régimes	Poids initial (g)	Poids final (g)	Gain de poids (g)
Témoin	110.90 \pm 6.14	347.69 \pm 7.85	236.79 \pm 1.68
HOV	69.00 \pm 10.12	310.35 \pm 7.78	241.35 \pm 2.34
HOV+Lyc	86.41 \pm 4.68	299.69 \pm 12.22	213.29 \pm 7.54
HA	81.14 \pm 10.60	325.51 \pm 9.01	244.38 \pm 1.59
HA+Lyc	92.47 \pm 5.01	320.19 \pm 13.97	227.72 \pm 8.97

Aucune différence significative n'est observée dans l'évolution du poids entre les différents traitements (figure 17). Par ailleurs, il est à noter que le gain de poids corporel du groupe HOV + Lyc est significativement ($p < 0.05$) plus faible que celui observé dans le groupe HA+Lyc en comparaison avec le groupe témoin. Par contre, aucune différence significative n'est observée dans les autres groupes à savoir le groupe supplémenté par HOV et celui de HA conformément à la figure 17.

Les résultats obtenus s'alignent avec plusieurs travaux ayant étudiés les effets de l'ingestion des régimes alimentaires supplémentés des huiles végétales enrichies par des antioxydants y compris le lycopène de tomate.

Dans cette optique, Kim et al (2012) a montré qu'un régime alimentaire enrichi en lycopène supprime le gain de poids corporel, qui peut être conséquence d'une altération de l'activité enzymatique du métabolisme lipidique du foie et du tissu adipeux. Cependant, d'autres études ont rapportées qu'aucun effet de la supplémentation en lycopène n'a été observé sur le poids corporel (Hsu Y et al., 2008 et Ibrahim HS et al., 2008). Malgré le manque des études cliniques qui traitent l'effet de l'ingestion du lycopène sur le poids

corporel, des essais cliniques a petite échelle ont rapporté que le lycopène n'a pas amélioré la perte de poids pour des sujets obèses.

Ces découvertes peuvent être expliquées par plusieurs facteurs y compris la durée de traitement, le régime alimentaire ainsi consommé et la dose de lycopène et/ou la petite taille de l'échantillon (Markovits N., 2009).

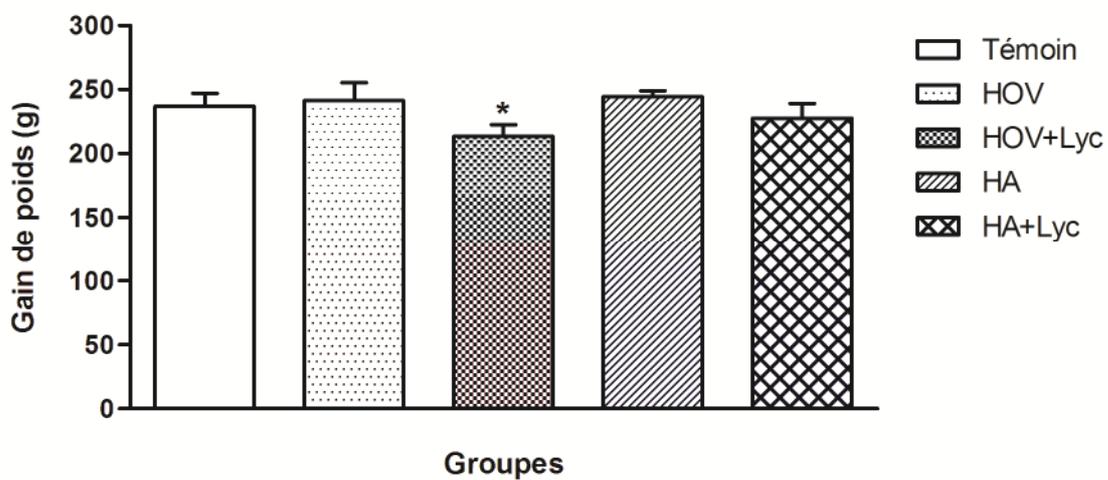


Figure 17 : Gain de poids final après 9 semaines de traitement par les différents régimes : Témoin, HOV, HA, HOV+Lyc et HA+Lyc.

2.3. Poids hépatique absolu et indice hépto-somatique

Tableau 18. Evolution des poids hépatiques et l’IHS en fonction des différents Régimes.

Groupes	Témoin	HOV	HOV+Lyc	HA	HA+Lyc
IHS	3.69 ± 0.04	3.48 ± 0.03	3.01 ± 0.05	3.56 ± 0.70	3.25 ± 0.61

IHS : g/100 g de poids corporel

Les résultats obtenus dans le tableau 18, montrent que le poids hépatique ainsi que l’indice hépto somatique diminue significativement ($P < 0.05$) dans le groupe HOV+Lyc et HA+Lyc comparativement au groupe témoin comme le montre la figure 18.

L’IHS est habituellement utilisé pour évaluer le poids du gros foie par rapport au poids corporel du rat (Aguiar AS., 2006). L’IHS est très sensible pour une large variété de stress nutritionnel notamment les huiles de friture oxydées et des facteurs chimiques (Lopez-Varela S., 1995 et Saxena PN., 2010). Dans cette optique, la diminution de l’IHS est normalement associée à l’amélioration de l’activité de détoxification en réponse à la présence des composés lequel diminue lors de son exposition aux antioxydants comme précédemment rapporté (Saxena PN., 2010). De façon importante, nous avons constaté que la supplémentation en lycopène réduit l’IHS des rats nourris d’un régime normal supplémenté en lycopène. Tandis que la supplémentation en régime HOV ou HA isolé n’affecte pas l’indice hépatosomatique des rats.

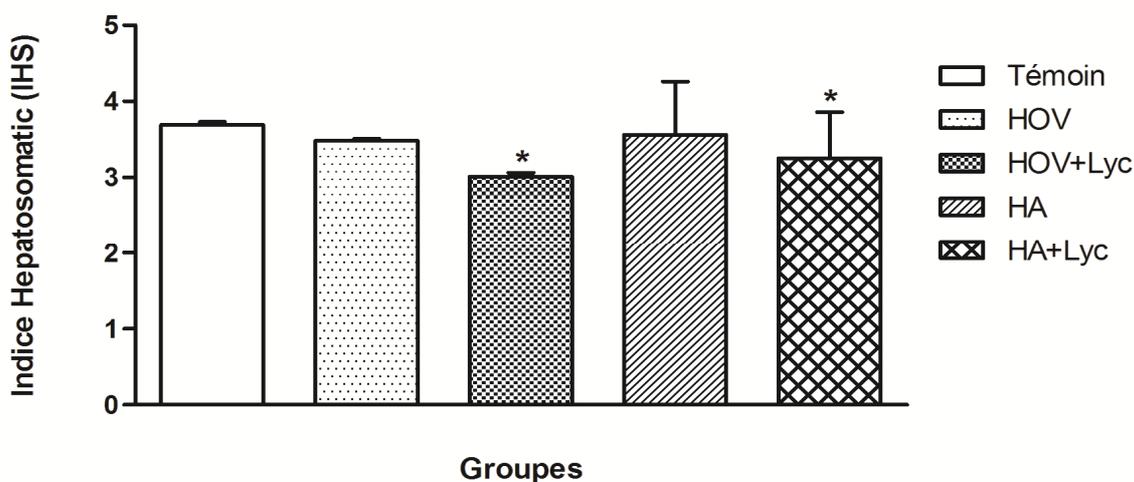


Figure 18 : L’Indice Hépatosomatique des différents groupes : Témoin, HOV, HA, HOV+Lyc et HA+Lyc.

3. Influence de la supplémentation en lycopène sur les paramètres sériques lipidiques :

3.1. Cholestérol total:

La figure 19 montre les concentrations sériques en cholestérol total. Il est à noter une réduction significative du niveau de cholestérol total ($P < 0.05$) après une période de 6 et 9 semaines de supplémentation par le régime à base de HOV (1.63 ± 0.12 et 1.53 ± 0.10) respectivement, et ce, en comparaison avec les valeurs du groupe témoin (1.77 ± 0.10 et 1.78 ± 0.10) aux 6 et 9^{ème} semaines respectivement, soit une baisse de 14 % par rapport au groupe témoin à la fin de l'expérimentation. Quand au groupe HOV+Lyc, la concentration en cholestérol total a baissée significativement ($P < 0.05$) à partir de la 3^{ème} semaine de traitement (1.64 ± 0.10) soit une réduction de 6 %. A partir de cette période, ce paramètre a diminué progressivement durant les semaines 6 et 9 de traitement ($P < 0.05$) comparativement au groupe témoin. Notons ainsi à la fin de l'expérimentation une réduction de 24 % comparativement au groupe témoin.

En ce qui concerne, le groupe HA, de meilleurs résultats ont été obtenus dans le groupe des rats supplémentés avec du régime HA+Lyc, puisque les niveaux de cholestérol total ont été réduits ($P < 0.05$) après 6 et 9 semaines de traitement, tandis que dans le groupe HA, la concentration en cholestérol total a été statistiquement réduite ($P < 0.05$) seulement après 9 semaine de traitement en comparaison avec le groupe témoin. Enregistrons ainsi une baisse de 16 % pour le groupe HA+Lyc contre une diminution de 8 % enregistrée dans le groupe HA comparativement au groupe témoin.

Nous remarquons que la baisse la plus importante ($P < 0.05$) du CT est enregistrée dans les groupes de rats nourris d'un régime à base des huiles enrichies en lycopène de tomate (HOV+Lyc et HA+Lyc), soit 24 et 16 % respectivement. Ceci, pourrait être due à la richesse des huiles étudiées en AGI, en composés phénoliques, en stérols et en vitamine E (Berrougui and al. (2003).

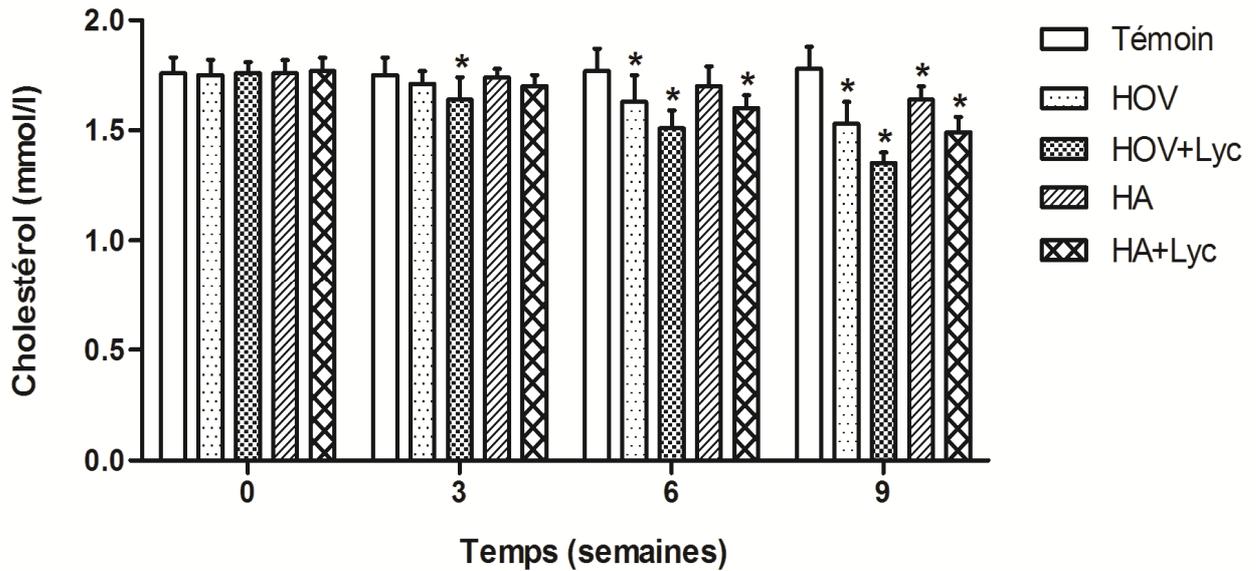


Figure 19 : Effet de la supplémentation en lycopène sur le niveau du cholestérol total

Nos résultats corroborent avec une étude marocaine effectuée sur 2 groupes de volontaires consommant 25 g/j de l'huile d'argan et 25 g/j de l'huile d'olive respectivement pendant une durée de 3 semaines, effectuée par Derouiche et al., (2005) qui a montré que le régime à base d'HA et d'HO réduit le taux de CT sérique chez ces volontaires. Ces résultats peuvent être dus à la présence d'une forte concentration en AGI et notamment les AGMI dans l'HOV (75 %), contribue à la réduction du taux de cholestérol sérique (Brousseau and al., (1993), et avec l'action synergique des composés phénoliques, des stérols et de lycopène, le groupe HOV+Lyc présente un effet hypocholestérolémiant le plus élevé.

Takara et al., (1994) a montré que l'acide δ -linoléique exerce un effet hypocholestérolémiant chez le rat.

Keys et al., (1967); Cottrell et al., (1991); Baudet et al., (1984); Monnier et al., (1989); Spady et al., (1993) montrent que tous les AGPI y compris les AGE, à savoir l'acide linoléique et l'acide Γ -linoléique et leurs dérivés supérieurs à longue chaîne font chuter le taux de cholestérol sanguin.

3.2. Les lipoprotéines sériques :

Des études physico-chimiques des lipoprotéines réalisées vers les années 1975, ont permis de relever qu'il existait dans le plasma des lipoprotéines athérogènes favorisant le dépôt de cholestérol dans les tissus et appelées les LDL et dont la fraction active est appelée apoprotéine β 100 ; et l'existence de lipoprotéines protectrices HDL qui captent le cholestérol tissulaire pour le ramener vers les cellules hépatiques en vue de son catabolisme en acides biliaires. Aussi, des études épidémiologiques réalisées par Fruchart J.C., (1988) , ont démontré que le risque des MCV est proportionnel au taux de cholestérol des LDL et inversement proportionnel au taux de cholestérol des HDL.

Dans notre étude, nous avons été amené à préciser les effets de la supplémentation des huiles d'olive et d'argan enrichies en lycopène de tomate sur les différentes lipoprotéines sériques et principalement les HDL , les LDL et les VLDL, chez le rat albinos de souche Wistar.

3.2.1. Sur les LDL-C :

En ce qui concerne, les groupes HA et HA+Lyc, les concentrations en LDL-C sériques ont noté une diminution progressive ($P < 0.05$) tout au long de la durée de traitement (9 semaines). En effet, la valeur la plus réduite de la concentration en LDL-C a été enregistrée après 9 semaines de traitement dans le groupe HA+Lyc . De même, il a été enregistré une diminution significative ($P < 0.05$) des niveaux des LDL-C dans le groupe HA mais uniquement après 9 semaines de traitement (figure 20).

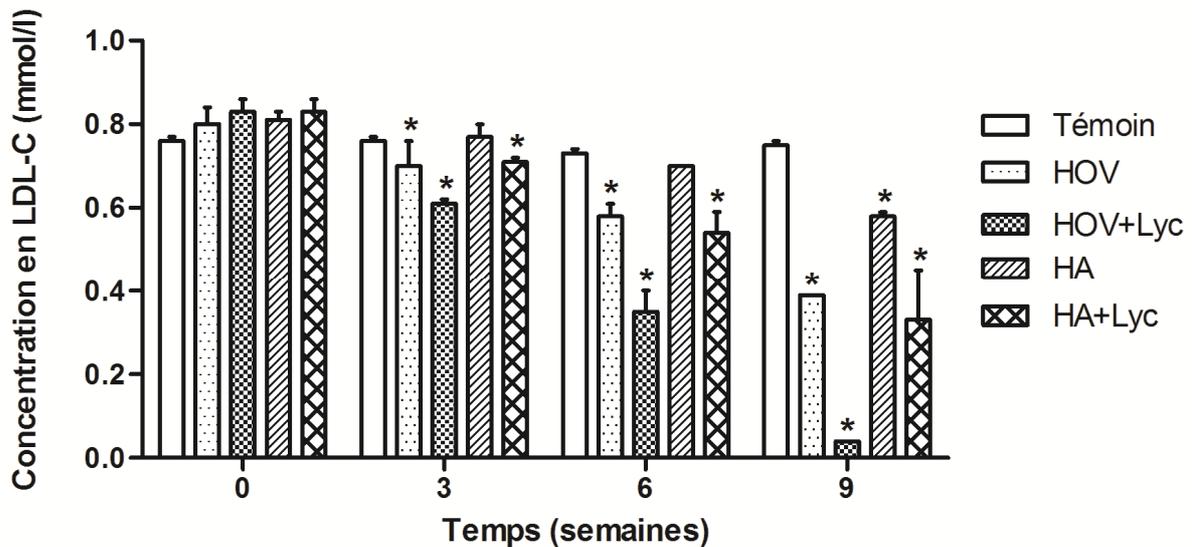


Figure 20 : Effet de la supplémentation en lycopène sur la concentration en LDL-C sériques

L'hypercholestérolémie est l'un des facteurs les plus importants de risque pour l'athérosclérose. En effet, les niveaux élevés du cholestérol total et des LDL-C ont été établis comme des facteurs de risque de la survenue de l'athérosclérose qui est la principale cause des maladies cardiovasculaires (MCV) (Cicerale S., 2010).

Il ressort de notre étude que le régime à base de l'HOV enrichi en lycopène (HOV+Lyc), contenant 11,40 % d'AGPI et 74,00 % d'AGMI entraîne un taux de cholestérol LDL le plus réduit (0.04 ± 0.00) durant les 9 semaines de traitement.

Nos résultats **corroborent** des études de plusieurs chercheurs, notamment, Nestle., (1986) qui a démontré que les quantités appréciables d'AGPI réduisent aussi bien la fraction de cholestérol total que les fractions de LDL-C.

Il est à noter que la réduction du taux de LDL-C par l'ingestion des régimes à base d'huile d'argan et de d'huile d'olive enrichies en lycopène de tomate est très avantageuse pour la santé humaine et surtout que la fraction HDL-C ne diminue pas parallèlement et reste plus ou moins stable.

3.2.2. Sur les HDL-C :

La figure 21 montre des résultats très intéressants dans les groupes des rats traités par les huiles d'argan et d'olive enrichies en lycopène que les groupes traités uniquement avec les huiles expérimentées.

Par ailleurs, il est à noter que dans le groupe HOV+Lyc, une augmentation de la concentration en HDL-C ($P < 0.05$) après 3, 6 et 9 semaines de traitement comparativement au groupe témoin. Tandis que les niveaux de HDL-C sérique ont augmenté significativement après 6 et 9 semaines de traitement avec HOV par rapport au groupe témoin. L'ingestion de régime à base de l'huile d'argan enrichie en lycopène (HA+Lyc) augmente significativement ($P < 0.05$) la concentration en HDL-C sérique après 6 et 9 semaines de traitement

Contrairement dans le groupe HA, les niveaux de la concentration sérique en HDL-C sont seulement significatifs ($P < 0.05$) et déclinent la fin de l'expérimentation (semaine 9)

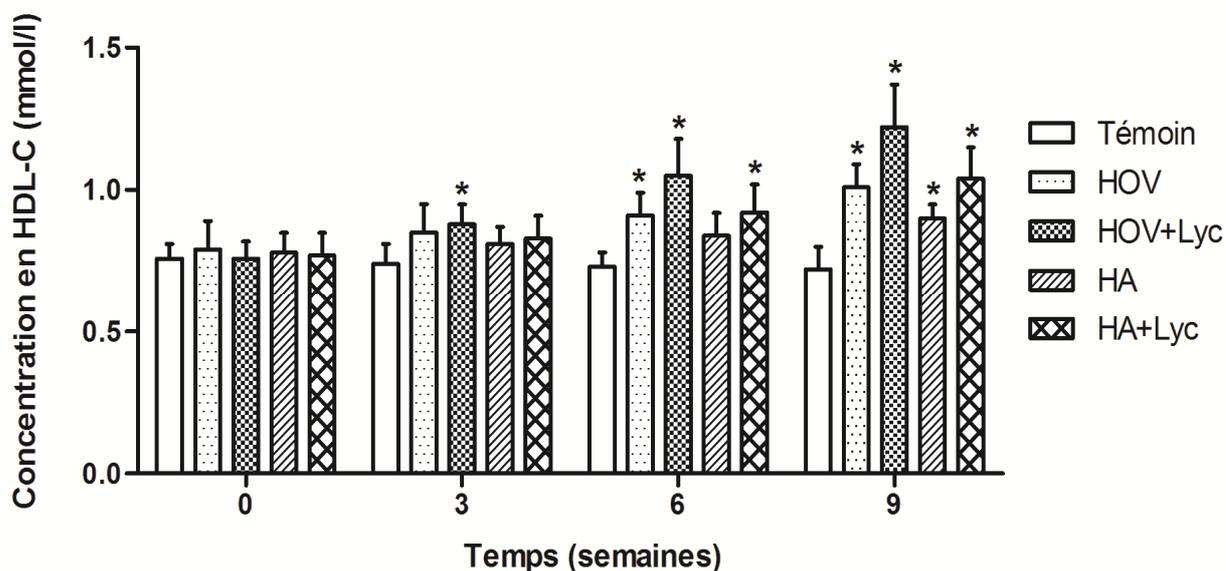


Figure 21 : Effet de la supplémentation en lycopène sur les HDL-C sériques

3.3. Triglycérides :

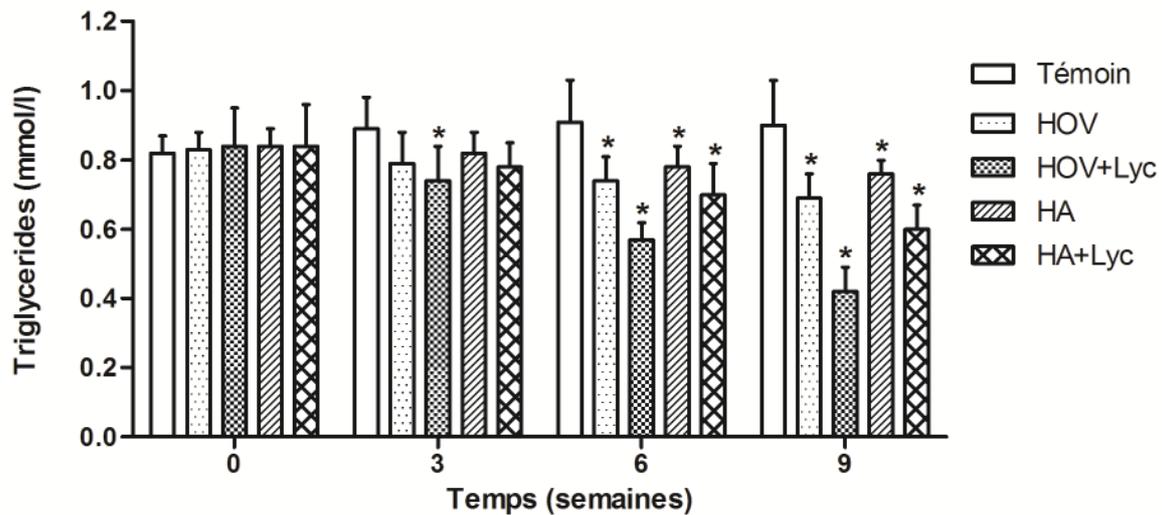


Figure 22 : Effet de la supplémentation en lycopène sur la concentration en TG sériques.

La figure 22, montre une diminution significative ($P < 0.05$) de la concentration en TG sériques après une durée de traitement de 6 et 9 semaines avec le régime HOV comparativement au groupe témoin.

Il est à noter que le même régime HOV quand il est supplémentation avec le lycopène de tomate, la réduction du niveau des TG sériques ($P < 0.05$) apparaît après 3 semaines de traitement et encore plus évidente après 6 et 9 semaines de supplémentation.

D'autre part, la consommation du régime à base de HA et HA+Lyc réduit substantiellement ($P < 0.05$) la concentration en TG sériques après 6 et 9 semaines de traitement, et ce, comparativement au groupe témoin.

Il est à noter que le taux de réduction des TG sériques en fin d'expérimentation 9 semaines de traitement) le plus prononcé est enregistré dans le groupe HOV+Lyc (0.42 ± 0.07) soit une baisse de 53 % par rapport au groupe témoin (0.90 ± 0.13), suivi par le groupe HA+Lyc (0.60 ± 0.07) soit 33 % de réduction, ensuite les groupes non supplémentés en lycopène HOV et HA avec des taux de (0.69 ± 0.07 et 0.76 ± 0.04) soit une réduction de 23 % et 16 % respectivement.

Nos résultats s'alignent avec les travaux de Gorinstein et al., (2002) qui a montré dans une étude effectuée sur des rats que la consommation de l'HOV enrichie en composés phénoliques réduit les niveaux de CT, LDL-C et TG.

Derouiche et al., (2005) ont montré dans une étude de 3 semaines sur des volontaires humains qu'un régime contenant de l'huile d'argan comme fraction lipidique, réduit les TG sériques, plus que chez les volontaires consommant un régime à base de l'huile d'olive. Ceci, pourrait être due à la richesse de l'huile d'argan en ω -6 (32.46 %) comparativement à l'huile d'olive (11.40 %).

Certains travaux (Berrougui et al., (2003) effectués sur des rat montrent une réduction des TG plasmatiques. De plus, le traitement avec les huiles d'olive et d'argan permet de prévenir certaines affections cardiovasculaires, en particulier l'hypertension artérielle.

3.4. Sur les Phospholipides (PL) :

Les résultats obtenus sur la figure 23, montre que la consommation des huiles enrichies en lycopène (HOV+Lyc et HA+Lyc) entraîne une baisse importante ($P < 0.05$) du niveau des phospholipides sériques (0.82 ± 0.11 et 0.87 ± 0.06 respectivement) après 3 semaines de traitement, soit une réduction de 15 % et 10 % respectivement. Cette diminution a été poursuivie après la 6 et 9^{ème} semaine de la supplémentation ($P < 0.05$).

Cependant, la consommation des régimes à base de HOV et HA sans être supplémentés en lycopène diminue ($P < 0.05$) la concentration en phospholipides sériques seulement après 6 et 9 semaines de traitement.

Les résultats obtenus après 9 semaines de traitement par les différents régimes expérimentés (figure 18), montrent une diminution significative ($P < 0.05$) de la concentration des phospholipides sériques des rats du groupe HOV+Lyc et HA+Lyc (0.59 ± 0.07 et 0.71 ± 0.07), soit une baisse de 42 % et 30 % respectivement, contre une valeur de 26 % et 19 % chez le lot groupe HOV et HA (0.75 ± 0.05 et 0.83 ± 0.08) respectivement, et ce comparativement au groupe témoin (1.02 ± 0.11).

La baisse des concentrations en PL sériques des rats du lot HA et HOV pourrait être due à l'effet des AGPI contenus dans les huiles.

Nos résultats corroborent avec les travaux de plusieurs auteurs, en particulier Toyoshima et al., (2004) qui ont montré que l'acide α -linoléique a diminué les phospholipides sériques chez le même modèle animal.

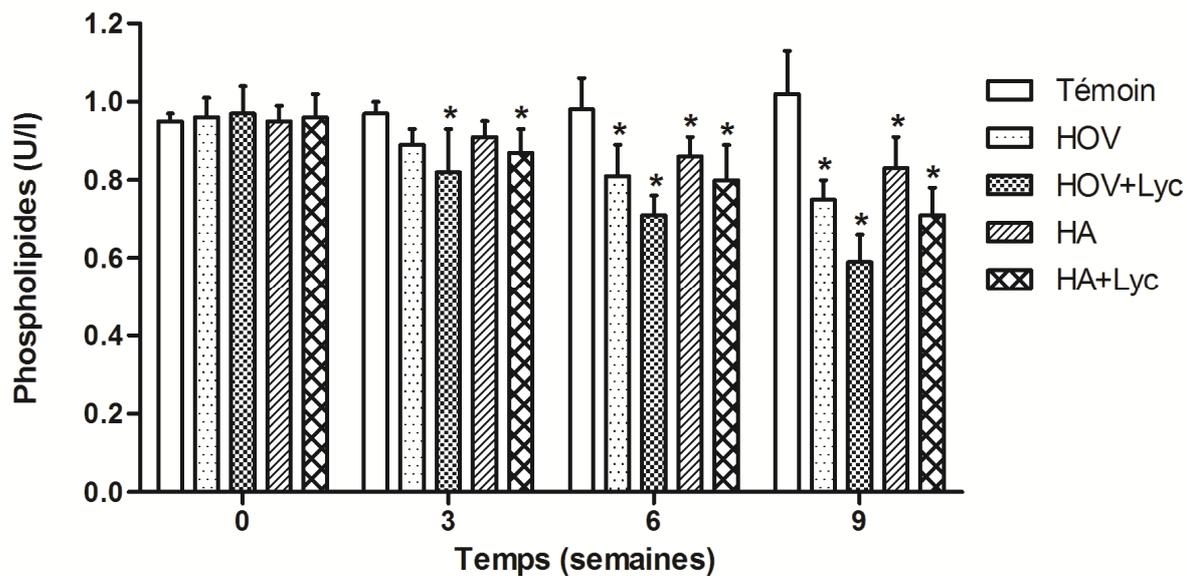


Figure 23: Effet de la supplémentation en lycopène sur la concentration en phospholipides sériques des rats.

4. Influence de la supplémentation en lycopène sur l'activité enzymatique des marqueurs hépatiques :

4.1. Effet du lycopène Sur l'activité enzymatique de l' ALAT

Les résultats de l'activité enzymatique de l'ALAT mesurés dans le sérum des rats des différents groupes sont reportés dans la figure 24. Il apparait que le taux de l'ALAT diminue significativement ($\alpha < 0,05$) lors des 9 semaines de traitement par les différents régimes, à savoir une baisse très nette de l'ordre de 57 % est enregistrée dans le groupe des rats (HOV+Lyc) supplémentés par l'huile d'olive vierge enrichie en lycopène par rapport au groupe témoin. Tandis que la baisse est de l'ordre de 47 % dans le groupe (HA+Lyc) par rapport au groupe témoin.

De nombreux travaux confortent nos résultats. Olamide et al., (2013) montre que la supplémentation en produits riches en éléments phytochimiques réduit significativement le taux de l'ALAT sérique, signe d'une activité hépato-protectrice induite par l'ingestion des aliments contenant des produits phytochimiques. Par ailleurs, Kumarappan et al., (2011); Sindhu et al., (2010) ont reporté l'effet de l'activité hépatoprotectrice des aliments contenant des polyphénols et des caroténoïdes respectivement.

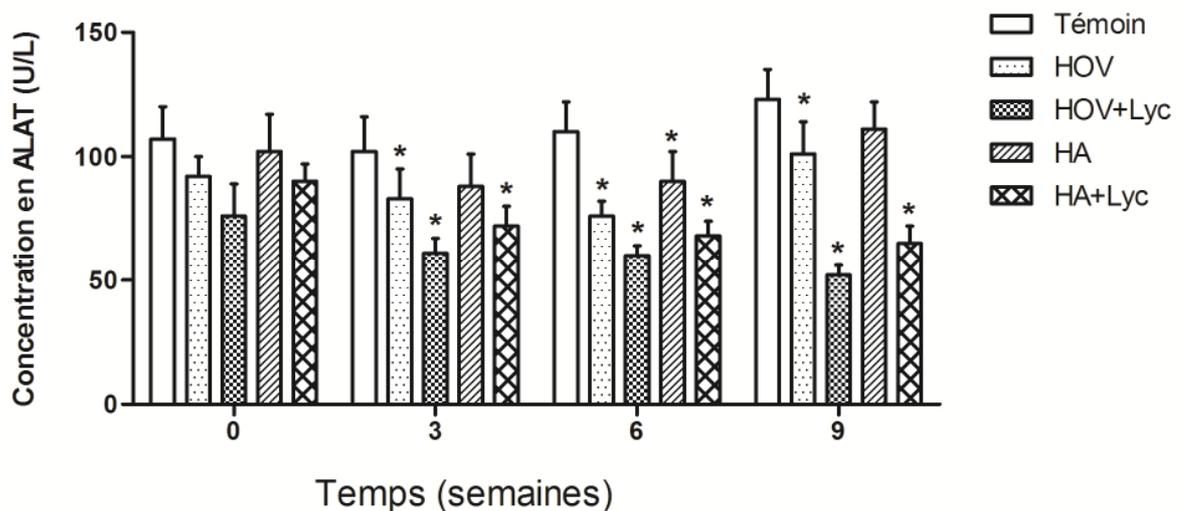


Figure 24: Effet de la supplémentation en lycopène sur l'activité enzymatique de l'ALAT sérique chez les rats.

4.2. Effet du lycopène sur l'activité enzymatique de l'ASAT

Les résultats de l'activité enzymatique de l'ASAT mesurés dans le sérum des rats des différents groupes sont reportés dans la figure 25. Il apparaît que le taux de l'ASAT diminue significativement ($\alpha < 0,05$) après 9 semaines de traitement par les différents régimes. Il est à noter que la baisse la plus prononcée est enregistrée dans le groupe (HA+Lyc) avec une réduction de l'ordre de 43 % suivie par le groupe (HOV+Lyc) dont on enregistre une baisse de l'ordre de 40 % et ceux comparativement au groupe témoin.

Nos résultats corroborent avec de nombreuses recherches. En effet, Chandra et al., (2011) montre que la supplémentation en produits riches en éléments phytochimiques et en antioxydants exerce des effets hépato-protecteurs.

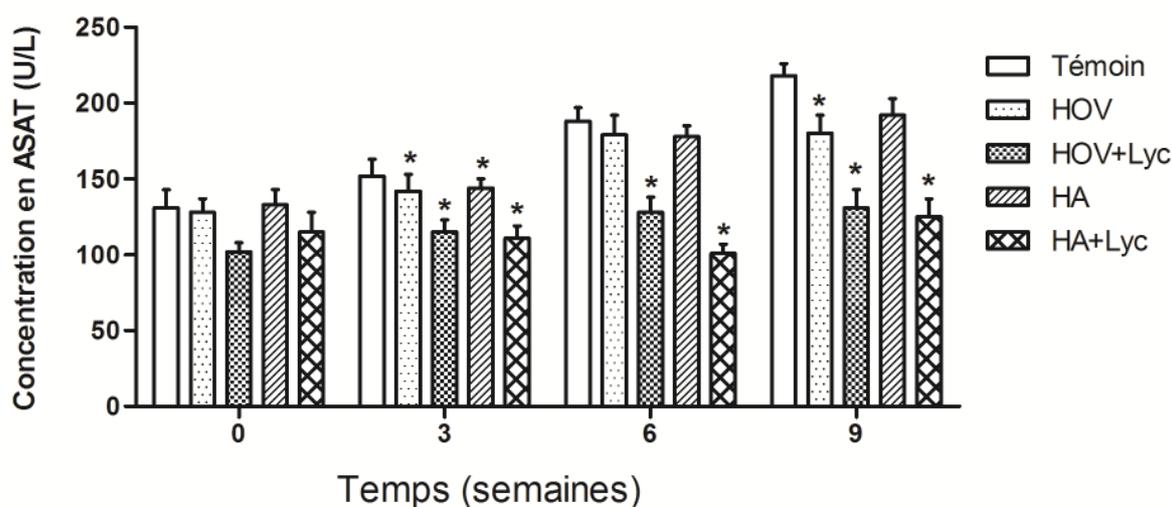


Figure 25: Effet de la supplémentation en lycopène sur l'activité Enzymatique de l'ASAT sérique chez les rats.

Dans cette étude, le lycopène montre une protection significative du foie par la baisse importante de l'activité enzymatique de l'ALAT et l'ASAT sériques. Donc, ce caroténoïde pourrait avoir un effet de protection en provoquant une augmentation de l'activité des enzymes anti-oxydantes et la diminution des signes de dommage au niveau du foie (Stark, A.H and Madar, Z., (2002) et Nakbi, A et al., (2010)).

4.3. Sur l'activité enzymatique de la PAL

Les résultats de l'activité enzymatique de la PAL mesurés dans le sérum des rats des différents groupes sont reportés dans la figure 26. Il est à noter que le taux de la PAL diminue significativement ($\alpha < 0,05$) à la 9^{ème} semaine de traitement par les différents régimes. Il est à noter que la baisse la plus prononcée est enregistrée dans le groupe (HOV+Lyc) avec une réduction de l'ordre de 44 % suivie par le groupe (HA+Lyc) dont on enregistre une baisse de l'ordre de 38 %, et ceux, comparativement au groupe témoin.

Par ailleurs, ces résultats indiquent que le lycopène provoque une activité hépatoprotectrice significative comparable à celle du groupe témoin. Nos résultats concordent avec les travaux de Sangare et al., (2012) qui a décelé une baisse de la PAL sérique suite à son travail sur l'effet de l'ingestion de l'extrait aqueux d'une plante médicinale 'gonphrena celosioïdes' riche en composés antioxydants sur les enzymes hépatiques.

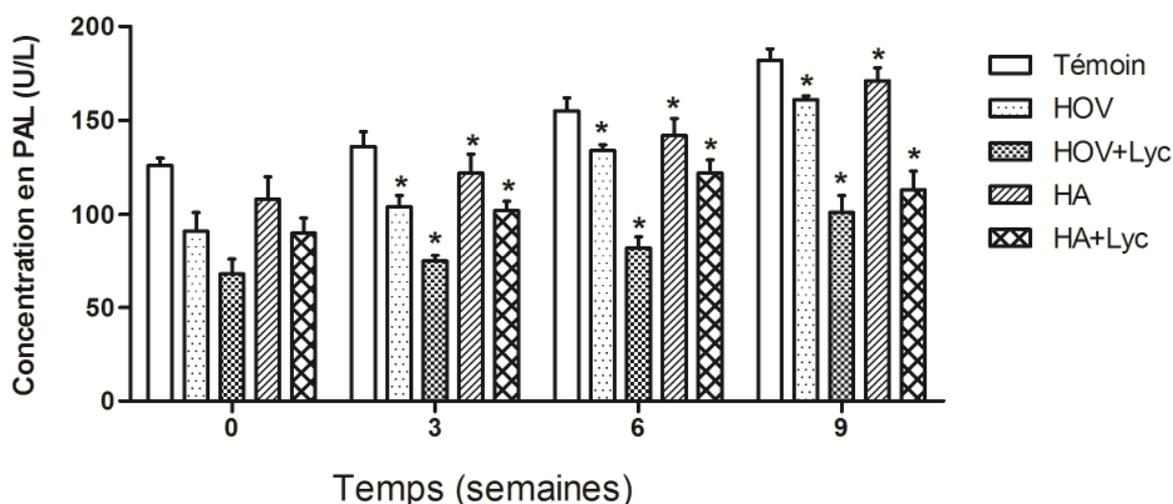


Figure 26: Effet de la supplémentation en lycopène sur l'activité enzymatique de la PAL sérique chez les rats.

5. Influence des régimes alimentaires sur la composition en acides gras des homogénats de foies de rats :

5.1. Les acides gras saturés et monoinsaturés :

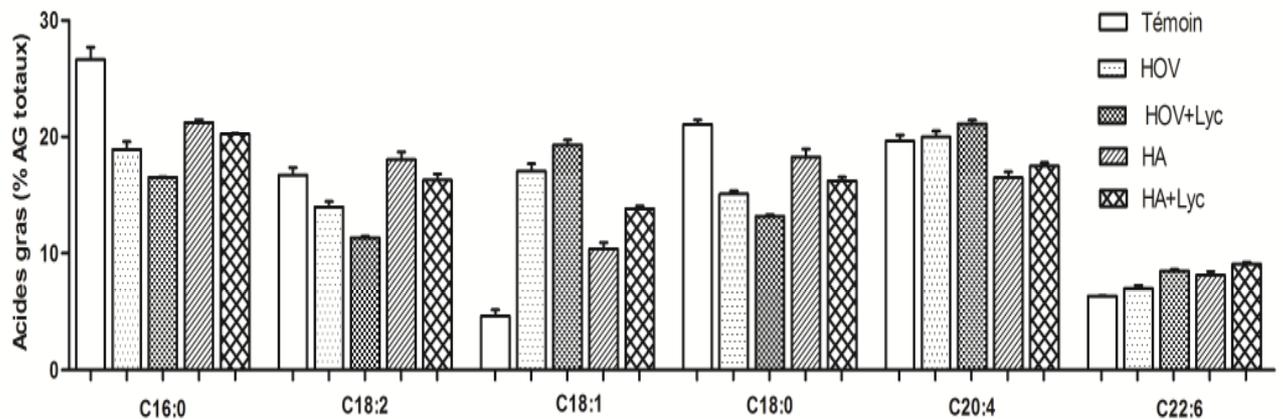


Figure 27: Profil des Acides Gras des homogénéisât du foie des rats

Les acides gras les plus prépondérants dans les homogénats du foie de rats soumis à des différents régimes alimentaires sont l'acide palmitique (C16 : 0) et l'acide stéarique (C18:0).

Concernant ces deux AGS, une réduction significative ($P < 0.05$) est enregistrée dans les groupes HOV, HA ainsi que dans les groupes de rats nourris par des régimes à base des huiles d'argan et d'olive enrichies en lycopène de tomate, et ce, comparativement au groupe témoin. Pour le C16 :0, le taux de réduction le plus important est enregistré dans le groupe des rats nourris d'un régime à base de l'huile d'olive vierge enrichie en lycopène (38 %) suivi par le groupe HOV avec une baisse de 29 % comparativement au groupe témoin. Tandis que pour les groupes à base de l'huile d'argan, une diminution de l'ordre de 24 % est enregistrée dans le groupe HA+Lyc et de 20 % pour le groupe HA.

Quand à l'acide stéarique (C18 :0), la concentration la plus réduite est enregistrée dans le groupe de rats nourri d'un régime à base de HOV+Lyc ($13,20 \pm 0,11$) suivi par les groupes HOV, HA+Lyc et HA respectivement ($15,05 \pm 0,36$; $16,21 \pm 0,32$; $18,25 \pm 0,70$).

En ce qui concerne la somme des AGS, une diminution significative ($p < 0.05$) est enregistrée pour les groupes HOV (37.13 ± 0.29), HA (42.52 ± 0.18), HOV+Lyc (32.26 ± 0.21), HA+Lyc (39.36 ± 0.22), et ce, par rapport au lot témoin (50.81 ± 0.28).

L'acide gras monoinsaturé le plus important des homogénats de foie de rats est l'acide oléique (C18 :1 ω -9), dont les taux augmentent significativement ($p < 0.05$) pour les groupes HOV+Lyc (19.32 ± 0.41), HOV (17.07 ± 0.61), HA+Lyc (13.84 ± 0.21) et HA (10.37 ± 0.54) par rapport au lot témoin (4.61 ± 0.54).

5.2. Les acides gras polyinsaturés (AGPI) :

Dans les groupes HA et HA+Lyc, les taux d'acide linoléique (C18 :2 ω -6) augmentent de manière significative (18.04 ± 0.67) et (16.29 ± 0.51) respectivement par rapport au groupe témoin (16.71 ± 0.66). En revanche, nous remarquons une nette réduction significative ($p < 0.05$) pour les groupes HOV (13.96 ± 0.49) et HOV+Lyc (11.33 ± 0.13) par rapport au lot témoin.

Nos résultats s'alignent avec l'étude d'Alexander et al., (1988) qui a obtenu une légère baisse de l'acide linoléique de l'ordre de 0.1 % pour le lot témoin de rats soumis à un régime supplémenté de 5 % de l'huile de tournesol fraîche.

Concernant l'acide arachidonique (C20 :4 ω -6), nous enregistrons la valeur la plus réduite dans le groupe HA (16.49 ± 0.49), contrairement à l'acide cervonique (C22 :6) qui possède la valeur la plus importante dans le lot HA+Lyc (9.06 ± 0.16) contre les valeurs des groupes HOV et HOV+Lyc (6.96 ± 0.28 ; 8.46 ± 0.16) respectivement.

Aussi, la présence de l'acide arachidonique (C20 : 4 ω -6) et de l'acide cervonique (C22 :6) en quantités appréciables peut être dûe aux réactions de désaturations qui a subi l'acide linoléique (C18 :2 ω -6) lors de son métabolisme dans le foie.

Nous remarquons pour la somme des AGPI, qu'aucune différence significative n'est enregistrée pour les groupes HOV, HOV+Lyc, HA, HA+Lyc par rapport au groupe témoin.

Tableau 19.

Composition en acides gras (% AG totaux) des homogénats hépatiques de rats soumis à différents régimes alimentaires

AG	Régimes alimentaires				
	Témoïn	HOV	HOV+Lyc	HA	HA+Lyc
C14:0	0.91± 0.17	0.54 ± 0.03	0.51 ± 0.04	0.97 ± 0.03	0.96 ± 0.02
C15:0	0.57± 0.05	0.51 ± 0.10	0.48 ± 0.02	0.64 ± 0.06	0.63 ± 0.04
C16:0	26.65± 1.04	18.92 ± 0.66	16.52 ± 0.03	21.22 ± 0.25	20.23 ± 0.05
C16:1	0.21± 0.06	1.15 ± 0.07	1.23 ± 0.04	1.28 ± 0.06	1.29 ± 0.04
C17:0	0.92± 0.04	1.15 ± 0.64	1.03 ± 0.32	0.93 ± 0.06	0.91 ± 0.05
C18:2	16.71± 0.66	13.96 ± 0.49	11.33 ± 0.13	18.04 ± 0.67	16.29 ± 0.51
C18:1	4.61± 0.54	17.07 ± 0.61	19.32 ± 0.41	10.37 ± 0.54	13.84 ± 0.21
C18:0	21.07 ± 0.36	15.08 ± 0.28	13.20 ± 0.11	18.25 ± 0.70	16.21 ± 0.32
C20:0	0.69 ± 0.03	0.93 ± 0.08	0.52 ± 0.02	0.51 ± 0.01	0.42 ± 0.07
C20 :1	0.13 ± 0.04	0.80 ± 0.02	1.12 ± 0.05	1.21 ± 0.02	1.29 ± 0.03
C20 :2	0.61 ± 0.16	1.71 ± 0.01	2.28 ± 0.02	0.95 ± 0.08	1.32 ± 0.06
C20 :3	0.95 ± 0.03	1.23 ± 0.03	2.24 ± 0.02	1.02 ± 0.06	1.84 ± 0.05
C20:4	19.64 ± 0.53	19.99 ± 0.49	21.12 ± 0.32	16.49 ± 0.49	17.51 ± 0.27
C22 :6	6.33 ± 0.03	6.96 ± 0.28	8.46 ± 0.16	8.12 ± 0.31	9.06 ± 0.16
ΣAGS	50.81 ± 0.28	37.13 ± 0.29	32.26 ± 0.21	42.52 ± 0.18	39.36 ± 0.22
ΣAGMI	4.95 ± 0.26	19.02 ± 0.23	21.67 ± 0.25	12.86 ± 0.20	16.42 ± 0.16
ΣAGPI	44.24 ± 0.23	43.85 ± 0.26	45.43 ± 0.23	44.62 ± 0.32	43.02 ± 0.28
AGS/AGI	1.03 ± 0.05	0.59 ± 0.03	0.48 ± 0.01	0.74 ± 0.04	0.66 ± 0.03

Conclusion

Au terme de ce travail, il ressort très clairement que :

- Concernant les paramètres de croissance :

Le poids corporel des animaux évolue de manière progressive pour tous les groupes (Témoin, HOV, HOV+Lyc, HA, HA+Lyc). Les régimes expérimentaux n'influent pas de façon significative sur le poids des animaux. Aussi, il n'y a pas d'interaction entre la semaine et le régime, c'est-à-dire, que quelque soit le régime expérimental, le poids évolue de la même manière au cours des semaines.

Aucune différence significative n'est observée dans l'évolution du poids entre les différents traitements. Par ailleurs, il est à noter que le gain de poids corporel du groupe HOV + Lyc est significativement ($p < 0.05$) plus faible que celui observé dans le groupe HA+Lyc en comparaison avec le groupe témoin. Par contre, aucune différence significative n'est observée dans les autres groupes à savoir le groupe supplémenté par HOV et celui de HA.

Le poids hépatique ainsi que l'indice hépato somatique diminue significativement ($P < 0.05$) dans le groupe HOV+Lyc et HA+Lyc comparativement au groupe témoin.

Une réduction significative du niveau de cholestérol total ($P < 0.05$) après une période de 9 semaines de supplémentation par le régime à base de HOV (1.53 ± 0.10) respectivement, et ce, en comparaison avec les valeurs du groupe témoin (1.78 ± 0.10), soit une baisse de 14 % et de 24 % pour le groupe HOV+Lyc comparativement au groupe témoin.

En ce qui concerne, le groupe HA, de meilleurs résultats ont été obtenus dans le groupe des rats supplémentés avec du régime HA+Lyc, puisque les niveaux de cholestérol total ont été réduits ($P < 0.05$) après 6 et 9 semaines de traitement, tandis que dans le groupe HA, la concentration en cholestérol total a été statistiquement réduite ($P < 0.05$) seulement après 9 semaine de traitement en comparaison avec le groupe témoin. Une baisse de 16 % pour le groupe HA+Lyc contre une diminution de 8 % enregistrée dans le groupe HA comparativement au groupe témoin.

La baisse la plus importante ($P < 0.05$) du CT est enregistrée dans les groupes de rats nourris d'un régime à base des huiles enrichies en lycopène de tomate (HOV+Lyc et HA+Lyc), soit 24 et 16 % respectivement. Ceci, pourrait être due à la richesse des huiles étudiées en AGI, en composés phénoliques, en stérols et en vitamine E (Berrougui and al. (2000).

Il ressort de notre étude que le régime à base de l'HOV enrichi en lycopène (HOV+Lyc), contenant 11,40 % d'AGPI et 74,00 % d'AGMI entraîne un taux de cholestérol LDL le plus réduit (0.04 ± 0.00) durant les 9 semaines de traitement.

Par ailleurs, il est à noter que dans le groupe HOV+Lyc, une augmentation de la concentration en HDL-C ($P < 0.05$) après 3, 6 et 9 semaines de traitement comparativement au groupe témoin. Tandis que les niveaux de HDL-C sérique ont augmenté significativement après 6 et 9 semaines de traitement avec HOV par rapport au groupe témoin. L'ingestion de régime à base de l'huile d'argan enrichie en lycopène (HA+Lyc) augmente significativement ($P < 0.05$) la concentration en HDL-C sérique après 6 et 9 semaines de traitement

Contrairement dans le groupe HA, les niveaux de la concentration sérique en HDL-C sont seulement significatifs ($P < 0.05$) et déclinent la fin de l'expérimentation (semaine 9)

Par ailleurs, il est à noter que dans le groupe HOV+Lyc, une augmentation de la concentration en HDL-C ($P < 0.05$) après 3, 6 et 9 semaines de traitement comparativement au groupe témoin. Tandis que les niveaux de HDL-C sérique ont augmenté significativement après 6 et 9 semaines de traitement avec HOV par rapport au groupe témoin. L'ingestion de régime à base de l'huile d'argan enrichie en lycopène (HA+Lyc) augmente significativement ($P < 0.05$) la concentration en HDL-C sérique après 6 et 9 semaines de traitement

Il est à noter que le taux de réduction des TG sériques en fin d'expérimentation (9 semaines de traitement) le plus prononcé est enregistré dans le groupe HOV+Lyc (0.42 ± 0.07) soit une baisse de 53 % par rapport au groupe témoin (0.90 ± 0.13), suivi par le groupe HA+Lyc (0.60 ± 0.07) soit 33 % de réduction, ensuite les groupes non supplémentés en lycopène HOV et HA avec des taux de (0.69 ± 0.07 et 0.76 ± 0.04) soit une réduction de 23 % et 16 % respectivement.

Les résultats obtenus après 9 semaines de traitement par les différents régimes expérimentés (figure 18), montrent une diminution significative ($P < 0.05$) de la concentration des phospholipides sériques des rats du groupe HOV+Lyc et HA+Lyc (0.59 ± 0.07 et 0.71 ± 0.07), soit une baisse de 42 % et 30 % respectivement, contre une valeur de 26 % et 19 % chez le lot groupe HOV et HA (0.75 ± 0.05 et 0.83 ± 0.08) respectivement, et ce comparativement au groupe témoin (1.02 ± 0.11).

- **Concernant l'activité des marqueurs hépatiques :**

Le taux de l'**ALAT** diminue significativement ($\alpha < 0,05$) lors des 9 semaines de traitement par les différents régimes. La baisse la plus prononcée a été enregistrée dans le groupe des rats (HOV+Lyc) supplémentés par l'huile d'olive vierge enrichie en lycopène par rapport au groupe témoin suivie par le groupe (HA+Lyc), et ce, par rapport au groupe témoin. En ce qui concerne, l'**ASAT**, sa réduction a été plus marquée dans le groupe (HA+Lyc) avec une réduction de l'ordre de 43 % suivie par le groupe (HOV+Lyc) dont on enregistre une baisse de l'ordre de 40 % et ce, comparativement au groupe témoin.

Par ailleurs, le taux de la **PAL sérique** diminue significativement ($\alpha < 0,05$) à la 9ème semaine de traitement par les différents régimes, et plus particulièrement dans le groupe (HOV+Lyc) avec une réduction de l'ordre de 44 % suivie par le groupe (HA+Lyc) dont on enregistre une baisse de l'ordre de 38 %, et ce, comparativement au groupe témoin.

La réduction des taux de l'**ALAT**, l'**ASAT** et la **PAL** est signe d'une activité hépato-protectrice induite par l'ingestion des aliments riches en composants phytochimiques et en antioxydants, notamment le **lycopène**.

- **Concernant le profil en AG des homogénats hépatiques :**

Les AG trouvés dans les homogénats hépatiques des rats nourris des différents régimes (HA et HOV, HA+Lyc, HOV+Lyc) sont :

Les AGS : plus particulièrement le C16 :0 et le C18 : 0

- Les AGMI : l'AG le plus prépondérant est l'acide oléique (C18 :1 ω -9) dont le taux augmente significativement ($p < 0,05$) pour les groupes HOV+Lyc ($19,32 \pm 0,41$), HOV ($17,07 \pm 0,61$), HA+Lyc ($13,84 \pm 0,21$) et HA ($10,37 \pm 0,54$) par rapport au lot témoin ($4,61 \pm 0,54$).
- Les AGPI : l'acide linoléique (C18 :2 ω -6) est le plus important dans les homogénats du foie des groupes HA et HA+Lyc, et une nette réduction a été enregistrée dans les groupes HOV et HOV+Lyc, et ce, par rapport au groupe témoin Tandis que pour l'acide arachidonique (C20 :4 ω -6), la valeur la plus réduite est enregistrée dans le groupe HA, contrairement à l'acide cervonique (C22 :6) en quantités appréciables dans le groupe HA+Lyc,

L'enrichissement des huiles d'olive et d'argan par le lycopène améliore l'effet hypolipidémique et hypocholestérolémique produits par l'ingestion de ces deux huiles. Ces propriétés biologiques peuvent avoir un impact significatif sur le bien-être d'une population, notamment, sur les problèmes de l'obésité, qui est associée à l'augmentation du niveau des TG, diminution des HDL-C et oxydation élevée des LDL-C. De plus, l'obésité est généralement liée avec des pathologies incluant la dyslipidémie, l'intolérance au glucose, la résistance à l'insuline et le diabète mellitus, lesquels sont des facteurs de risque pour les MCV.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

Agarwal, S. and Rao, A.V. 2000. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases CMAJ 163 (6), 739 - 44.

Agarwal, S., and Rao, A.V. 1998. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: A human dietary intervention study. Lipids 33:981–984.

Aguiar, A.S., Boaventura, G.T., Malheiros, L.R and Da-Silva, V.A. 2006. Behavioral toxicity of increasing doses of ethanol in malnourished rats. Nutr Neurosci 9, 113–119.

Ahuja, K.D., Ashton, E.L., and Ball, M.J. 2003. Effects of high monounsaturated fat, tomato-rich diet on serum levels of lycopene. Eur J Clin Nutr 57,832–841.

Aidoud, A., Ammouche, A., Garrido, M., and Rodriguez, A.B. 2014. Effect of lycopene-enriched olive and argan oils upon lipid serum parameters in Wistar rats. J Sci Food Agric, 94 (14) 2943–2950.

Alaoui, K., Lagorce, J.F., Cherrah, Y., Hassar, M., Amarouch, H., and Roquebert, J., 1998. Activité analgésique et anti-inflammatoire des saponines d'Argania spinosa. Ann. Pharmaceutiques françaises 56, 220 - 228.

Albers, J.J., Tollefson, J.H., Chen, C.H., and Steinmetz, A., 1984. Isolation and characterization of human plasma lipid transfer proteins , Arteriosclerosis 4, 49-58.

Alexander, J.C., Kok, T.S., and Harris, P.G. 1988. Dietary protein level and oxidative stress in the livers of rats fed heated canola oil. Nutr. Res 8, 673-684.

Ambrosch, A., Muhlen, I., Kopf, D., Augustin, W., Dierkes, J., Konig, W., Luley, C., and Lehnert, H. 1998. LDL size distribution in relation to insulin sensitivity and lipoprotein pattern in young and healthy subjects. Diabetes Care 21,2077-2084.

AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 15th edition. AOAC Press, Washington 955 – 972.

Argenson, C., Regis, S., Jourdain, J.M., and Vaysse, P. 1999. L'olivier. Edition CTIFL. Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL), 204p.

Arisawa, M., Kinghom, D., Cordeii, G., Phoebe, H., and Fansworth, R. 1985. Plant anticancer agent XXXVI, schottenol glucosid from *Baccharis coridifolia* and *Ipomopsis aggregata*. *Planta Med* 6, 544 - 545.

Aument Rubio, M.D., Ayuso Gonzalez, M.J., Garcia Gimenez, M.D., and Toro Sainz, M.V. 1988. Les flavonols isolés d'*Erica andevalensis* Cabezudo-Ribera: contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'espèce. *Plantes médicinales et phytothérapie* 22, 113 - 118.

Baudet, M.F., Dachet, M., Lassere, M., Esteva, O and Jacotot, B., 1984. Modification in the composition and metabolic properties of human low density and high density lipoproteins by different dietary fats. *J. lipid. Res* 25, 456-468.

Benzaria, A., Meskini, N., Duboius, M., Croset, M., Nemoz, G., Lagarde, M., et al. 2006. Effect of dietary argan oil on fatty acid composition, proliferation, and phospholipase D activity of rat thymocytes. *Nutrition* 22, 628–637.

Bergmeyer, H.U., Herder, M., and Rej, R. 1986. Approved recommendation (1985) on IFC C methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J.Clin. Chem.Clin. Biochem.* 24, 481-485.

Berneis, K.K., and Krauss, R.M. 2002. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J.Lipid Res* 43,1363 - 1379.

Berrada, Y., Settaf, A., Baddouri, K., Cherrah, A., and Hassar, M., 2000. Experimental evidence of an antihypertensive and hypocholesterolemic effect of oil of argan, *Argania sideroxydon*. *Thérapie* 55, 375-378.

Berrougui, H., Eттаib, A., Herrera-Gonzalez, M.D., Alvarez De Sontomayor, M., Bennani-Kabchi, N., and Hmamouchi, N. 2003. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in *Meriones shawi* rats. *J Ethnopharmacol* 89, 15–18.

Bianchi, G. 1999. Extraction systems and olive oil. *OCL* 6(1), 49-55.

Bignotto, L., Rocha, J et al. 2009. Anti-inflammatory effect of lycopene on carrageenan-induced paw oedema and hepatic ischaemia-reperfusion in the rat. *Br J Nutr* 102(1), 126 – 33.

Bitam, A., Benakmoum, A., and Ammouche, A., 2004. Incidences nutritionnelles de l'ingestion de l'huile de tournesol thermooxydée sur les fractions lipidiques sériques et sur l' α -tocophérol chez le rat en croissance. *Sci. Alim* 24, 323-335.

Boukhabza, M., and Pichon-Prum, N. 1988. L'arganier, ressource économique et médicinale pour le Maroc. *Phytotherapy* 27, 21-26.

Boussenadji, R. 1995. Contribution à la connaissance analytique de l'huile d'olive Algérienne. *Olivae* 57,38.

Bowen, P., Chen, L et al. 2002. Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 227(10), 886 - 93.

Broedl, U. C., Maugeais, C., Millar, J.S., Jin, W., Moore, R.E., Fuki, I.V., Marchadier, D., Glick, J.M., and Rader, D.J. 2004. Endothelial Lipase Promotes the Catabolism of ApoB-Containing Lipoproteins. *Circ.Res* 94 (12), 1554 - 61.

Brousseau, M.E., Strucchi, A.F., Vespa, D.B., Schafer, E.J and Nicolosi, R.J., 1993.
A diet enriched in monounsaturated fats decreases low density lipoprotein concentration in cynomolgus monkeys by a different mechanism than does a diet enriched in polyunsaturated fats. *J.Nutr* 123, 2049-2058.

Burton, G.W. and Ingold, K.U. 1984. beta-Carotene : an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 224(4649), 569 - 73.

Cabrera-Vique, C., Marfil, R., Gimenez, R., and Martinez-Agustion, O. 2012. Bioactive compounds and nutritional significance of virgin argan oil – an edible oil with potential as a functional food. *Nutr Rev* 70, 266–279.

Canene-Adams, J., Campbell, J.K., Zaripheh, S., Jeffery, E.H., and Erdman, J.W.J. 2005. The tomato as a functional food. *J Nutr* 135,1226–1230.

Carr, M.C., Ayyobi, A.F., Murdoch, S.J., Deeb, S.S., and Brunzell, J.D. 2002. Contribution of hepatic lipase, lipoprotein lipase, and cholesteryl ester transfer protein to LDL and HDL heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22, 667-73.

Chahboun, J. 1993. La filière triterpénique dans les lipides des feuilles d'*Argania spinosa*. Thèse d'université, Université de Perpignan, France.

Chalabi, N., Satih, S et al. 2007. Expression profiling by whole-genome microarray hybridization reveals differential gene expression in breast cancer cell lines after lycopene exposure. *Biochim Biophys Acta* 1769(2), 124 - 30.

Chandra Bestra, R., Majhee, L., and Sharma, J. 2011. Evaluation of phytochemicals and Hepatoprotective activity of tuber of *Geodorum laxiflorum* Griff. *Jour of Pharmacology and toxicology.* 6(7),610-623.

Charrouf, Z., and Guillaume, D. 1997. Ehtnoeconomical ehtnomedical and phytochemical study of d'*Argania spinosa* (L.) skeels. *J. Ehtnopharmacology* 67, 7 - 14.

Charrouf, Z., Wieruzeski, J.M., Fkih-Tétouani, S., Leroy, Y., Charrouf, M., and Fourne, B. 1992. Triterpenoid saponin from *Argania spinosa*. *Photochemistry* 31, 207 - 209.

Charrouf, Z., Fkih-Tétouani, S., Charrouf, M., and Mouchel, B. 1991a. Triterpènes et stérols extraits de la pulpe d'*Argania spinosa* (L.) Sapotaceae. *Plantes médicinales et phytothérapie* XXV, 2-3, 112 - 117.

Charrouf, Z. 1991b. Valorisation d'*Argania spinosa* (L.) Sapotaceae : Etude de la composition chimique et de l'activité biologique du tourteau et de l'extrait lipidique de la pulpe. Thèse Sciences, Université Mohammed V, Rabat.

Charrouf, Z., Fkih-Tétouani, S., and Rouessac, F. 1990. Occurence of Erythrodiol in *Argania spinosa*. *Al Biruniya* 6(2), 135.

Charrouf, M. 1984. Contribution à l'étude clinique de l'huile d'*Argania spinosa* (L.) (Sapotceae). Thèse doctorat es science. Université Montpellier, France.

Chevallier, L. 2009. Nutrition : principes et conseils. Collection Abrégés, 3ème édition, 254p.

Chung, B.H., Segrest, J.P., and Franklin, F. 1998. In vitro production of beta-very low density lipoproteins and small, dense low density lipoproteins in mildly hypertriglyceridemic plasma: role of activities of lecithin:cholester acyltransferase, cholesterylester transfer proteins and lipoprotein lipase. *Atherosclerosis* 141, 209 - 225.

Chung, H.Y., Ferreira, A.L et al. 2009. Site-specific concentrations of carotenoids in adipose tissue: relations with dietary and serum carotenoid concentrations in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 90(3), 533 - 9.

Cicerale, S., Lucas, L and Keast, R. 2010. Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. *Int J Mol Sci* 11,458 – 479.

COI, 2012. Norme commercial applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. COI. 15/NC n°3/Rév 7).

COI, 2009. Identification and quantification of the phenolics in olive oil, Decision n. DEC-17/97-V/2009, COI.

Cotterell, R.C., 1991. Introduction : Nutritional aspects of palm oil. *Am. J. Clin. Nutr* 53, 989-1009.

Cotton. 1988. Etude sur la noix d'Argan : nouveau principe immédiat, l'arganine. *J. Pharm . Chim* 18, 298 - 299.

Dargon, G. 1971. Conservation, stockage et conditionnement des huiles et fluides alimentaires. *Revue Française des corps gras* 8/9, 501.

Derouiche, A., Cherki, M., Drissi, A., Bamou, Y., El Messal, M., Drissi-Oudghiri, A., Lecerf, J.M., and Adlouni, A., 2005. Nutritional intervention study with argan oil in man. Effects on lipids and apolipoproteins. *Ann Nutr Metab* 49, 196-201.

Di Giovacchino, L. 1996. Influence of extraction system on olive oil quality. *Olivea* 63, 52-55.

Drissi, A., Girona, J., Cherki, M., Godas, G., Derouiche, A., El Messal, M., et al.. 2004. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin Nutr* 23,1159–1166.

Dugas, T. R., Morel, D.W et al. 1998. Impact of LDL carotenoid and alpha-tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture. *J Lipid Res* 39(5), 999-1007.

- Eccls., 1999.** Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2, ALAT). *Kin.Chem.Mitt.* 20, 204-211.
- Eisenberg, S. 1999.** High density lipoprotein metabolism. London : Arnold, Hodder Headline Group, 71-85.
- Esteva, O., Baudet, M., Lasserre, M., and Jacotot, B. 1986.** Influence of the fatty acid composition of high-density lipoprotein phospholipids on the cholesterol efflux from cultured fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 875, 174 -182.
- Fedeli, E. 1977.** Lipids of Olives. *Prog. Chem. Fats Other Lipids* 15, 57-74.
- Feng, D., Ling, W.H., and Duan, R.D. 2010.** Lycopene suppresses LPS-induced NO and IL-6 production by inhibiting the activation of ERK, p38MAPK, and NF-kappaB in macrophages. *Inflamm Res*, 59(2), 115-121.
- Fernandez, S., Gonzales, C., Diaz, F., Fueyo, A.M., Gutierrez, J.M., and Patterson, A.M. 1996.** Long term effects in two generations of enriched soybean and olive oil diets on some cardiovascular and biochemical parameters in male rats. *Internat.J. Vit. Nutr. Res* 66,393-399.
- Fliesler, S.J., and Keller, R.K. 1997.** Isoprenoid metabolism in the vertebrate retina. *Int. J. Biochem. Cell. Biol* 29, 877 - 894.
- Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley, G.H. 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- Fruchart, J.C. 1988.** Valeur prédictive des tests biochimiques (lipides, lipoprotéines, apoprotéines). Quels paramètres choisir pour évaluer le risque cardiovasculaire. C.N.R.S-C.N.E.R.M.A, éditions médicales internationales. Paris, 330p.
- Fuhrman, B., Elis, A et al. 1997.** Hypocholesterolemic effect of lycopene and betacarotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 233(3), 658 - 62.
- Gagné, C., and Gaudet, D. 1997.** Les dyslipoprotéïnémies : L'approche clinique, Québec, 157p.

- Gajic, M., Zaripheh, S et al. 2006.** Apo-8'-lycopenal and apo-12'-lycopenal are metabolic products of lycopenes in rat liver. *J Nutr* 136(6), 1552-7.
- Gaw, A., and Hobbs, H.H. 1999.** Lipoprotein(a), London : Arnold, Hodder Headline Group, 87-109.
- Giovannucci, E., Rimm, E.B et al. 2002.** A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 94(5), 391-8.
- Giovannucci, E. 1999.** Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst* 91(4), 317-31.
- Giovannucci, E., Ascherio, A et al. 1995.** Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 87(23), 1767-76.
- Girona, J., LaVille, A.E., Sola, R., Motta, C., and Masana, L. 2003.** HDL derived from the different phases of conjugated diene formation reduces membrane fluidity and contributes to a decrease in free cholesterol efflux from human THP-1 macrophages. *Biochim Biophys Acta* 1633, 143-148.
- Goldstein, J.L., Hobbs, H.H., and Brown, M.S. 2000.** Familial Hypercholesterolemia, New York, NY : McGraw-Hill Publishing Co, 2863 - 2913.
- Gorinstein, S., Leontowicz, H., Lojek, A., Leontowicz, M., Ciz, M., Krzeminski, R., et al. 2002.** Olive oils improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. *J Agric Food Chem* 50, 6102–6108.
- Guinsterg, H.N., Dixon, J.L., and Goldberg, I.J. 1999.** VLDL/LDL cascade system : assembly, secretion and intravascular metabolism of apoprotein B-containing lipoproteins, London : Arnold, Hodder Headline Group, 55 -70.
- Heber, D., and Lu, Q.Y. 2002.** Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp Biol Med (Maywood)* 227(10), 920-3.
- Hesler, C.B., Swenson, T.L., and Tall, A.R. 1987.** Purification and characterization of a human plasma cholesteryl ester transfer protein. *J.Biol.Chem.* 262, 2275-2282.

Himmerich, H., Kaufmann, C., Schuld, A., and Pollmächer, T. 2005. Elevation of liver enzyme levels during psychopharmacological treatment is associated with weight gain. *J Psychiatr Res.* 39(1),35-42.

Hochgraft, E., Mokady, S., and Cogan, U. 1997. Diatery oxidised linoleic acid modifies lipid composition of rat liver microsomes and increases their fluidity. *J Nutr*, 127, 681–686.

Hsu, Y., Lai, C., Chang, C., Fan, C., Chen, C., and Wu, C. 2008. Characterizing the lipid-lowering effects and antioxidant mechanisms of tomato paste. *Biosci Biotechnol Biochem* 72,677–685.

Hu, K.Q., Liu, C.et al. 2006. The biochemical characterization of ferret carotene-9',10'-monooxygenase catalyzing cleavage of carotenoids in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 281(28), 19327-38.

Huang, C.S., Fan, Y.E et al. 2007. Lycopene inhibits matrix metalloproteinase-9 expression and down-regulates the binding activity of nuclear factor-kappa B and stimulatory protein-1. *J Nutr Biochem* 18(7), 449-56.

Huang, C. S., Shih, M.K et al. 2005. Lycopene inhibits cell migration and invasion and upregulates Nm23-H1 in a highly invasive hepatocarcinoma, SK-Hep-1 cells. *J Nutr* 135(9), 2119-23.

Hung, C. F., Huang, T.F et al. 2008. Lycopene inhibits TNF-alpha-induced endothelial ICAM-1 expression and monocyte-endothelial adhesion. *Eur J Pharmacol* 586(1-3), 275-82.

Hsu, Y., Lai, C., Chang, C., Fan, C., Chen, C., and Wu, C. 2008. Characterizing the lipid-lowering effects and antioxidant mechanisms of tomato paste. *Biosci Biotechnol Biochem* 72, 677–685.

Hunninghake, D.B. 1994. Lipid disorders. *Med. Clin. North. Am* 78 , 1 - 20

Hurt-Camejo, E., Camejo, G., and Sartipy, P. 2000. Phospholipase A2 and small, dense low-density lipoprotein , *Curr.Opin.Lipidol* 11, 465 - 471.

Jacotot, B. 1991. the role of olive oil in HDL metabolism. In *quality of olive oil: natural properties, research and technology.* Venice (Italy) 6-7 june , 99 -101.

Jiang, X.C., Moulin, P., Quinet, E., Goldberg, I.J., Yacoub, L.K., Agellon, L.B., Compton, D., Schnitzer-Polokoff, R., and Tall, A.R. 1991. Mammalian adipose tissue and muscle are major sources of lipid transfer protein mRNA. *J.Biol.Chem* 266, 4631 – 4639.

Joo, Y.E., Karrasch, T., et al. 2009. Tomato lycopene extract prevents lipopolysaccharide-induced NF-kappaB signaling but worsens dextran sulfate sodium-induced colitis in NFkappaBEGFP mice. *PLoS One* 4(2), e4562.

Kamimura, H., Koga, N., Oguri, K., and Yoshimura, H. 1992. Enhanced elimination of theophylline, phenobarbital and strychnine from the bodies of rats and mice by squalene treatment. *J. Pharmacobiodyn* 15, 215 -221.

Keys, A., Aravanis, C., Blackburn, H.W., Van Buchem, F.S.P., Buzina, R., Djordjević, B.S., Dontas, A.S., Fidanza, F., Karvonen, M.J., and al. 1967. Epidemiological studies related to coronary heart disease. Characteristics of men aged 40-59 in Seven Countries. *Acta Med Scand* 460(Suppl.180), 392 pp

Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., and charrouf, Z. 2003. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur .J . Cancer. Prev* 12, 67 - 75.

Kim, A.Y., Jeong, Y.J., Park, Y.B, Lee, M.K., Jeon, S.M., McGregor, R.A., et al. 2012. Dose dependent effects of lycopene enriched tomato-wine on liver and adipose tissue in high-fat diet fed rats. *FoodChem*130,42–48.

Kim, L., Rao, A.V., et al. 2002. Effect of lycopene on prostate LNCaP cancer cells in culture. *J Med Food* 5(4), 181-7.

Kohlmeier, L., Kark, J.D., et al. 1997. Lycopene and myocardial infarction risk in the EURAMIC Study. *Am J Epidemiol* 146(8), 618-26.

Kohno, Y., Egawa, Y., Itoh, S., Nagaoka, S., Takahashi, M., and Mukai, K. 1995. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. *Biochim. Biophys. Acta* 1256, 52 - 56.

Kopecka-Pilarczyk, J., and Correia, A.D. 2009. Biochemical response in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to in vivo exposure to a mix of selected PAHs. *Ecotoxicol Environ Saf* 72,1296–1302.

Krinsky, N. I. and Johnson., E.J. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* 26(6), 459-516.

Kumarappan, C.M., Vijayakumar, E., Thilagam, E., Balamurugan, M and Thiagarajan, M. 2011. Hepatoprotective and curative effects of polyphenolic extracts from *Ichnocarpus frutescens* leaves on experimental hepatotoxicity by carbon tetrachloride and tamoxifen. *Ann.Hepatol.* 10, 63-72.

Lagrost, L., Gambert, P., Dangremont, V., Athias, A., and Lallemant, C. 1990. Role of cholesteryl ester transfer protein (CETP) in the HDL conversion process as evidenced by using anti-CETP monoclonal antibodies , *J.Lipid Res* 31, 1569 - 1575.

Law, M. 2000. Plant sterol and stanol margarines and health. *B.M.J,* 320, 861-864

Lee , A., Thurnham, D.I and Chopra, M. 2000. Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. *Free Radic BiolMed* 29,1051–1055.

Leger, C.L. 2003. L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine , in lipides et corps gras alimentaires. Collection sciences & techniques agroalimentaires. Edition Tec & Doc. 80-101.

Lian, F., and Wang, X.D. 2008. Enzymatic metabolites of lycopene induce Nrf2-mediated expression of phase II detoxifying/antioxidant enzymes in human bronchial epithelial cells. *Int J Cancer* 123(6), 1262-8.

Lian, F., Smith, D.E et al. 2007. Apo-10'-lycopenoic acid inhibits lung cancer cell growth in vitro, and suppresses lung tumorigenesis in the A/J mouse model in vivo. *Carcinogenesis* 28(7), 1567-74.

Lindqvist, A., and Andersson, S. 2002. Biochemical properties of purified recombinant human beta-carotene 15,15'-monooxygenase. *J Biol Chem* 277(26) 23942-8.

Lopez-Varela, S., Sanchez-Muniz, F.J and Cuesta, C. 1995. Decreased food efficiency ratio, growth retardation and changes in liver fatty acid composition in rats consuming thermally oxidized and polymerized sunflower oil used for frying. *Food Chem Toxicol* 33,181–189.

Loussert, R., and Brousse, G. 1978. L'olivier. Edition Maisonneuve et Larose 335-364.

Ibrahim, H.S., Ahmed, L.A., and El Din, M.M.E. 2008. The functional role of some tomato products on lipid profile and liver function in adult rats. *J Med Food* 11,551–559.

Maiani, G., Caston, M.J., Catasta, G., and Toti, E. 2009. Cambrodon IG, Bysted A, et al., Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res* 53,194–218.

Markovits, N., Ben Amotz, A., and Levy, Y. 2009. The effect of tomato-derived lycopene on low carotenoids and enhanced systemic inflammation and oxidation in severe obesity. *Israel Med Assoc J* 11,598–601.

Mata, P., Varela, O., Alonso, R., Lahoz, C., and de Oya Mand Badimon, L. 1997. Monounsaturated and polyunsaturated n-6 fatty acid-enriched diets modify LDL oxidation and decrease human coronary smooth muscle cell DNA synthesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17,2088–2095.

Milde, K., Elstner, E.F., and Grassmann, J. 2007. Synergistic effects of phenolics and carotenoids on human low-density lipoprotein oxidation. *Mol Nutr Food Res* 51,956–961.

Mondet, A., and Laurent, M. 1978. Séparation de l'insaponifiable des corps gras. *Rev. Fr. Corps. Gras* 25, 245 - 246.

Monnier, L., El-Boustani, S., Descomps, B., and Mendy, F., 1989. Aspect du métabolisme des acides gras polyinsaturés chez des sujets témoins et diabétiques. Implications nutritionnelles. *R.F.C.G* 36 , 3 – 10.

Morrison, W. R., and Smith, L.M. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res* 5, 600-608.

Moussa, M., Landrier, J.F., et al. 2008. Lycopene absorption in human intestinal cells and in mice involves scavenger receptor class B type I but not Niemann-Pick C1-like 1. *J Nutr* 138(8), 1432-6.

Nahum, A., Hirsch, K., et al. 2001. Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27(Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes. *Oncogene* 20(26), 3428-36.

Nakbi, A., Tayeb, W., Grissa, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Chargui, I., Ellouz, M., Miled, A., and Hammani, M. (2010). Effect of olive oil and its fractions on oxidative stress and liver's fatty acid composition in 2, Dichlophenoxyacetic rats. *Nutr. Metab.* 7, 80-82.

Naziroglu, M., Kilinc, F.U., guz A.C., Celik, O., Bal, R., Butterworth, P.J., et al. 2010. Oral vitamin C and E combination modulates blood lipid peroxidation and antioxidant vitamin levels in maximal exercising basketball players. *Cell Biochem Funct* 28,300–305.

Nestlel, P.J. 1986. Fish oil attenuate the cholesterol induced rise in lipoprotein cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr* 43, 752-757.

Olamide E. Adebisi^{*} and Mathew O. Abatan 2013. Protective Effects of Enantia chlorantha Stem Bark Extracts on Acetaminophen Induced Liver Damage in Rats. *Jordan Journal of Biological Sciences.* 6, 284 – 290.

Omoni, A.O., and Aluko, R.E. 2005. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: A review. *Trends Food Sci Technol* 16,344–350.

Opara, E.C. and Rockway, S.W. 2006. Antioxidants and micronutrients. *Dis Mon* 2(4), 151-63.

Oulad-Ali, A., Kirchner, V., Lobstein, A., Weniger, B., Anton, R., Guillaume, D., and Charrouf, Z. 1996. Structure elucidation of three triterpene glycosids from the trunk of *Argania spinosa*. *Journal of Natural Products*, 59, 193- 195.

Owen, R.W., Giacosa, A., Hull, W.E., Haubner, R., Wurtele, G., Spiegelhalder, B., et al. 2000. Olive-oil consumption and health: The possible role of antioxidants. *Lancet Oncol* 1,107–112.

Packard, C.J. and Shepherd, J. 1999. Physiology of the lipoprotein transport system : an overview of lipoprotein metabolism, London : Arnold, Hodder Headline Group, 17 - 30.

Pereira, J.J., Mercaldo-Allen, R., Kuropat, C., Luedke, D., and Sennefelder. G. 1993. Effect of cadmium accumulation on serum vitellogenin levels and hepatosomatic and gonadosomatic indexes of winter flounder (*Pleuronectes americanus*). Arch Environ Contam Toxicol 24,427–431.

Perrin, J.-L. 1992. Les composés mineurs et les anti oxygènes naturels de l'olive et de son huile. Revue Française des Corps Gras 39 (1), 25-32.

Plat, J., and Mensink, R.P. 2001. Effect of plant sterols and stanols on lipid metabolism and cardiovascular risk. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 11, 31-40.

Pollet, S., Ermidou, S., Le Saux, F., Monge, M., and Baumann, N. 1978. Microanalysis of brain lipids: multiple two-dimensional thin-layer chromatography. J Lipid Res 19(7), 916-921.

Pool-Zobel, B.L., Bub, A., Muller, H., Wollowski, I., and Rechkemmer, G. 1997. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: First results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. Carcinogenesis 18, 1847–1850.

Pownall, H., and Gotto, A.M. 1999. Structure and dynamics of human plasma lipoproteins, New York : Oxford University Press Inc, 3 - 15.

Psyllakis, N., Miros, L., and Kirella, A. 1980. Caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive et les facteurs qui influent sur ses caractéristiques. COI, 553-565.

Publio, V., and Mirella, A. 1987. L'huile d'olive et la santé. COI, 36p.

Rahmani, M. 1989. L'huile d'argan : un produit alimentaire et diététique de qualité. In. Formation forestière continue, thème «L'arganier». Station de recherche forestière. Rabat, 13-17 Mars.

Rao, A.V. and Rao, L.G. 2007. Carotenoids and human health. Pharmacol Res 55(3), 207-16.

Rao, A.V., Ray, M.R., et al. 2006. Lycopene. *Adv Food Nutr Res* 51, 99-164.

Rao, A.V., Newmark, H.L., and Reddy, B.S. 1998. Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. *Carcinogenesis* 19, 287 - 290.

Redgrave, T.G. 1999. Chylomicrons, London: Arnold, Hodder Headline Group, 31-54.

Riccioni, G. 2009. Carotenoids and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 11(6), 434-439.

Richard, C., Couture, P., Desroches, S., Charest, A., and Lamarche, B. 2011. Effect of the Mediterranean diet with and without weight loss on cardiovascular risk factors in men with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 21, 628–635.

Richter, E., Fichtl, B., and Schafer, S.G. 1982. Effects of dietary paraffin, squalene and sucrose polyester on residue disposition and elimination of hexachlorobenzene in rats. *Chem. Biol. Interact* 40, 335-344.

Saedisomeolia, A., Wood, L.G., et al. 2009. Lycopene enrichment of cultured airway epithelial cells decreases the inflammation induced by rhinovirus infection and lipopolysaccharide. *J Nutr Biochem* 20(8), 577-85.

Sanchez-Muniz, F.J., Lopez-Varela, S., Polonio, G.C.M., and Cuesta, C. 1998. Dietary effect on growth, liver peroxides and serum and lipoprotein lipids in rats fed a thermooxidised and polymerised sunflower oil. *J Sci Food Agric* 76,364–372.

Sangare, M.M., Bayala, B., Ategbro, J.M., Loko, F., and Dramane, K.L. (2012). Effets de l'extrait aqueux de gomphrena celosioides (amaranthaceae) sur les enzymes hépatiques. *Afrique science*. 08 (3), 107-115.

Saxena, P.N, Rathor, S., Mahour, K., Saxena, N., and Bajaj, P. 2010. Alterations in hepatosomatic index and behavior under stress of arsenic trioxide and their modulation by *Curcuma aromatica* plant extract in albino rats (Berkenhout). *Pharmacol online* 1,243–251.

Scislowski, V., Durand, D., Gruffat-Mouty, D., Motta, C., and Bauchart, D. 2004. Linoleate supplementation in steers modifies lipid composition of plasma lipoproteins but does not alter their fluidity. *Br. J. Nutr* 91, 575 - 584.

Seifried, H. E., Anderson, D.E., et al. 2007. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem* 18(9), 567-79.

Sies, H., and Stahl, W. 2004. Carotenoids and UV protection. *Photochem Photobiol Sci* 3(8), 749-52.

Sindhu, E.R., Firdous, A.P., Preethi, K.C., and Kuttan, R. 2010. Carotenoids lutein protects rats from paracetamol, carbon tetrachloride and ethanol induced hepatic damage. *J. Pharm. Pharmacol.* 62, 1054-1060

Shinitzky, M. 1984. Membrane fluidity in malignancy adversative and recuperative. *Biochem Biophys Acta* 738, 251-261.

Shinitzky, M., and Barenholz, Y. 1978. Fluidity parameters of lipid regions determined by fluorescence polarisation. *Biochem. Biophys. Acta* 515 , 367 - 394.

Shinitzky, M., and Inbar, M. 1976. Microviscosity parameters and protein mobility in biological membranes. *Biochem. Biophys. Acta* 433, 133 - 149.

Sluijs, I., Beulens, J.W., et al. 2009. Dietary carotenoid intake is associated with lower prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and elderly men. *J Nutr* 139(5), 987- 92.

Smith, T.J., Yang, G.Y., Seril, D.N., Liao, J., and Kim, S. 1998. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. *Carcinogenesis* 19, 703 - 706.

Sola, R., Baudet, M., Motta, C., Maillé, M., Bargallo, M., Richard, J., and Jacotot, B. 1993. Dietary monounsaturated fatty acids enhance cholesterol efflux from fibroblasts. Relation to fluidity, phospholipid fatty acid composition, overall composition and size of HDL3. *Arterioscler Thromb* 13, 958 - 966.

Sola, R., Baudet, M.F., Motta, C., Maille, M., Boisnier, C., and Jacotot, B. 1990. Effects of dietary fats on the fluidity of human high-density lipoprotein: influence of the overall composition and phospholipid fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 1043, 43-51.

Spady, D.K. 1993. Regulatory effects of individual w6 and w3 polyunsaturated fatty acids on LDL transport in the rat. *J. Lipid . Res*, 34, 1337-1345.

Stahl, W., and Sies, H. 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med* 24, 345–351.

Stahl, W., von Laar, J., et al. 2000. Stimulation of gap junctional communication: comparison of acyclo-retinoic acid and lycopene. *Arch Biochem Biophys* 373(1), 271-4.

Stark, A.H., and Madar, Z. (2002). Olive oil as a functional food : epidemiology and nutritional approaches. *Nutr.Rev.* 60, 170-176.

Stubbs, C.D., Kouyama, T., Kinoshita, K.J., and Ikegami, A. 1981. Effect of double bonds on the dynamic properties of the hydrocarbon region of lecithin bilayers. *Biochemistry* 20, 4257- 4263.

Talmud, P.J., Edwards, K.L., Turner, C.M., Newman, B., Palmen, J.M., Humphries, S.E., and Austin, M.A. 2000. Linkage of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene to LDL particle size: use of a novel tetranucleotide repeat within the CETP promoter , *Circulation* 101, 2461-2466.

Tall, A. R., Costet, P., and Wang, N. 2002. Regulation and mechanisms of macrophage cholesterol efflux. *J.Clin.Invest* 110, 899 - 904.

Tapiero, H., Townsend, D.M., et al. 2004. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother* 58(2), 100-10.

Tietz, N.W., Rinker, A.D., and Shaw, L.M. 1983. International Federation of Clinical Chemistry. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 5. IFCC method for alkaline phosphatase (orthophosphoric-monoester phosphohydrolase, alkaline optimum, EC 3.1.3.1). IFCC Document Stage 2, Draft 1, 03 with a view to an IFCC Recommendation.

Titov, V.N., 1999. Fatty acid transport in the blood by lipoproteins as macromolecules: facts and a hypothesis. *Usp. Fiziol .Nauk* 30, 23 - 37.

Uchida, K., Mizuno, H., Hirota, K., Takeda, K., Takeuchi, N., and Ishikawa, Y. 1983. Effects of spinasterol and sitosterol on plasma and liver cholesterol levels and biliary and fecal sterol and bile acid excretions in mice. *Jpn. J. Pharmacol* 33, 103 -112.

Valko, M., Leibfritz, D., et al. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39(1), 44-84.

Varela, G., and Ruiz-Rosso, B. 1998. Influence of the frying process in the real fat intake. *Grasas y Aceites* 49, 366–369.

Vasquez-Roncero, A. 1978. Les polyphénols de l'huile d'olive et leur influence sur les caractéristiques de l'huile. *Revue Française des Corps Gras* 25, 21- 26.

Villasenor, I.M., and Domingo, A.P. 2000. Anticarcinogenicity potential of spinasterol isolated from squash flowers. *Tetragenes Carcinog Mutagen* 20, 99 -105.

Virtanen, K. A., Lidell, M.E., et al. 2009. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med* 360(15), 1518-25.

Voutilainen, S., Nurmi, T., Mursu, J., and Rissanen, T.H. 2006. Carotenoids and cardiovascular disease. *AmJ Clin Nutr* 83, 1265–1271.

Wolf, J.P. 1982. Manuel d'analyse des corps gras d'origine marocaine. Azoulay, 3311.

Yamaguchi, T., Nakagawa, M., Hidaka, K., Yoshida, T., Sasaki, T., and Kuwano, M. 1985. Potentiation by squalene of antitumor effect of 3-[(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl]-1-(2-chloroethyl)-nitrosourea in a murine tumor system. *Jpn. J .Cancer. Res* 76, 1021-1026.

Yen, F.T., Deckelbaum, R.J., Mann, C.J., Marcel, Y.L., Milne, R.W., and Tall, A.R. 1989. Inhibition of cholesteryl ester transfer protein activity by monoclonal antibody. Effects on cholesteryl ester formation and neutral lipid mass transfer in human plasma , *J.Clin.Invest* 83,2018 - 2024.

Zhang, H., Kotake-Nara, E., et al. 2003. A novel cleavage product formed by autoxidation of lycopene induces apoptosis in HL-60 cells. *Free Radic Biol Med* 35(12), 1653-63.

Young, A.J., and Lowe, G.M. 2001. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys* 385(1), 20-7.

Zarrouck, K. 1987. Etude de corps gras d'origine marocaine. Thèse doctorat es science. Université Aix en Provence, France.

Zarrouck, K., Smoughen, S., and Maurin, R. 1987. Etude de la pulpe du fruit de l'arganier (*Argania spinosa*) du Maroc : matière grasse et latex. Actes. Inst. Agro. Vet. Rabat 7, 17-22.