

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du Diplôme de Master II
Option: Biosignalisation Moléculaire et Cellulaire; Immunologie

Thème

Etude des relations morpho-fonctionnelles des cellules de soutien et des pinéaloctes de la glande pinéale du dromadaire "*Camelus dromedarius*"

Réalisé par :
Mlle HAMEG Sabiha

Soutenu le 29/10/2015

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme BELMESKINE H	MAA	Blida I/BPC
Examineur : Mme SAYAD M	MAA	Blida I/BPC
Promotrice : Mme DJAZOULI-ALIM F,Z	MCA	Blida I/BPC

Promotion 2014/2015

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab, Blida 1



Faculté de Science de la nature et de vie
Département de biotechnologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en science de la nature et de la vie
Spécialité : Biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques et des produits naturels

THEME :

Caractérisation organoleptique et physicochimique des huiles d'olives issues des oliveraies de différentes régions d'Algérie

Présentée par :

BOUTEBAL Nacera

date de soutenance le : 28 /10/2015

Devant le jury composé de :

Mer BENDALIA	U.S.D.B	MAA	Président
Mme GHANAI. R	U.S.D.B	MAA	Examinatrice
Mme MOUMANE. S	U.S.D.B	MCB	Examinatrice
Mme HAMICHE. A	U.S.D.B	MCB	Promotrice

2014 /2015

Remerciements

A Madame BELMESKINE H vous me faites l'honneur de présider cette thèse. Merci pour votre dynamisme et vos qualités humaines.

A Madame SAYAD M, Qui me fait l'honneur de juger ce travail, et de nous faire bénéficier de son expérience. Veuillez madame trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon plus profond respect.

Je tiens tout d'abord à remercier Dr.DJAZOULI-ALIM F.Z, ma directrice de mémoire, pour m'avoir proposé cette aventure, pour avoir toujours été là pour me soutenir et me guider dans ce travail, pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, la guidance que vous m'avez apporté durant cette année, ainsi que pour vos précieux conseils, vos encouragements et votre disponibilité lors de la réalisation de ce mémoire.

Je souhaite aussi remercier Pr LEBAILI N de m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche physiologie animal.

Ma profonde gratitude et mes plus sincères remerciements vont également à Dr kouchkar Amel qui m'accueille au sein du laboratoire d'anatomie pathologique du CPMC et la mise à notre disposition des réactifs pour l'immunomarquage, sans oublier sa gentillesse, ses encouragements et ses conseils.

J'adresse un grand merci à Pr Abd El Aali et Dr yahia du service de cytopathologie : centre hospitalo universitaire Nafissa : HAMMOUD ex-parnet qui a nous accueilli et facilité la prise des photos sous microscope.

Je remercie aussi tous les membres du service d'anatomo pathologique de CHU de blida qui a mis à notre disposition les appareils du laboratoire et a permis la réalisation la coloration histologique HE.

J'ai le plaisir aussi de remercier Mme AISSANI R pour sa gentillesse, ses précieux conseils, ses encouragements, pour les discussions fructueuses et le soutien moral.

Je tiens à remercier chaleureusement à ma meilleur amie HALEL Sarah qui a partagé les moments les plus durs pendant ce travail et su me supporter dans tous les sens du terme.

.Je remercie également tous mes professeurs et spécialement ceux de la spécialité de biologie moléculaire et cellulaire.

Enfin, je remercie mes camarades de promotion pour ces trois années passées ensemble. Sans oublier mes ami(e)s de loin ou de proche qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce mémoire.

J'exprime aussi ma gratitude à mes parents, mes sœurs et mon frère.

Dieu merci.

Dédicaces

Avant tout, je remercie DIEU pour m'avoir facilité le chemin à parcourir et qui m'a donné le courage, la volonté, la patience et l'opportunité de réaliser ce travail que je dédie à :

Ma mère, pour sa compréhension et sa générosité. Tu as toujours su faire de mon environnement de vie un endroit agréable et propice à la réussite. Sans toi, je ne serai pas la femme que je suis aujourd'hui.

Mon père, pour son soutien moral. Dès mon jeune âge, tu as su me transmettre ton goût pour les sciences et c'est en grande partie grâce à toi que j'ai fait ce cheminement de carrière. Merci pour ton aide.

Mes soeurs Mouna et Ahlem et mon frère Mohamed ainsi qu'à mes cousines Meriem, Farah, Nabila, Houria, Sarah , Feriel , Ikram , Amina et toute grande famille.

Mes amie Hala et Fatiha pour leurs encouragements et pour l'ambiance agréable tout au long de cette année et en particulier à ma chère amie intime Sarah pour sa présence dans les moments difficiles et grâce à qui j'ai passé d'excellents moments.

Tous ceux qui me sont chers et proches : Sabrina, Hania pour tous les bons moments passés ensemble et pour leur soutien. Une pensée notamment pour les anciens du lycée Romaisa, Asma et Hadjer.

Ma promotrice Madame Dr DJAZOULI-ALIM F.Z.,sa compétence ,son dynamique ,son expériences , ses qualités scientifiques et humaines., sens du devoir qu' ont énormément marqués ont suscité un profond respect à son égard j'ai eu un grand plaisir de travailler sous sa direction .

Dédicaces

A mes très chers parents

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.

Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements. Que dieu les protège.

Toute la promotion master 2 BPAM Appliquée 2015. Ainsi qu'à tous mes proches amis qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles

A toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

A mes très chères sœurs : Mounira, Samira, Soumia, Fatima Zohra et Wissam.

A toute ma famille

Enfin, je remercie tous ceux qui ont attribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Surtout l'ingénieur de labo chimique département de biotechnologie.

Nacera

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la volonté pour bien mener ce travail.

Toute ma reconnaissance va à ma promotrice Mme HAMICHE A. pour son encadrement ainsi que pour l'encouragement, sa patience, son aide et ses précieux conseils dont j'ai eu la chance d'en profiter, ainsi que pour sa disponibilité tout le long du travail jusqu'à l'élaboration de ce document.

Mes vifs remerciements vont à Mr BENDALI A. qui me fait l'honneur de présider le jury. Je tiens également à remercier Mme GHENAI R, et Mme MOUMANE qui a accepté de participer à ce jury et d'examiner ce mémoire.

Mes profondes remerciements à tous mes enseignants qui ont assuré ma formation la technicienne de laboratoire de recherche sur les plantes médicinales et aromatiques de pour sa gentillesse, son aide, son encouragement, et sa disponibilité.

****Merci****

À ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail, je les remercie du fond du cœur.

قال الله تعالى في كتابه العزيز

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ مِثْلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا
مِصْبَاحٌ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ
يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ
زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ نُورٌ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ
لِنُورِهِ مَنْ يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ

عَلِيمٌ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ 35



RESUME

Notre travail consiste à l'étude des caractéristiques pomologiques des deux variétés d'olives les plus répandues dans le centre Algérien qui sont la Chemlal et l'Azeradj. Il a été noté une différence entre elles en termes de poids, de dimensions, de teneur en eau et de leur contenu en polyphénols. L'analyse quantitative des extraits de la pulpe d'olive a révélé une richesse des drupes en polyphénols pour les deux variétés testées. Avec une teneur de 1053,88 mg pour l'Azeradj et 923, 69 mg pour 100g de matière sèches pour la Chemlal.

La caractérisation des huiles d'olives provenant de 06 régions différentes du Centre-Est d'Algérie a porté sur l'étude des caractéristiques organoleptiques, physico-chimiques ainsi que l'étude des polyphénols totaux. Les résultats obtenus et comparés aux normes commerciales du Conseil Oléicole International, montrent que :

Les échantillons d'huiles issus de Sétif et de Bejaia sont les plus riches en polyphénols avec 461,92 mg/kg et 429,23 mg/kg respectivement. Cependant la plus faible concentration est observée dans l'échantillon de Tipaza avec 185mg/kg. Tous les échantillons présentent des attributs positifs suivants : Fruité, Amer et Piquant à des intensités variant entre 2 et 8 à l'exception de celui de Tipaza qui possède un attribut vineux d'une intensité de 3/10 et un attribut rance d'une intensité de 5/10. Le taux d'acidité, l'indice d'acide et l'indice de peroxyde sont plus élevés pour l'huile d'olive de Tipaza avec 4.51%, 9,25 mg/g et 24,5 meq g d'O₂/Kg respectivement. Suite aux résultats obtenus, l'huile d'olive de Bejaia est classée comme huile d'olive vierge extra. Par contre celle de Tipaza est considérée comme huile d'olive vierge lampante. Les huiles provenant de Blida (Bougara et larbaa), de Médéa et de Sétif sont des huiles d'olive vierges courantes.

Mots clés : huile d'olive, Polyphénols, caractéristiques organoleptiques, caractéristiques physico-chimiques.

المخلص

يتكون عملنا في دراسة الخصائص البمولوجية لصفين من أنواع الزيتون الأكثر شيوعا في وسط الجزائر شمالا وأزيراج. لوحظ وجود فرق بينهما من حيث الوزن والحجم والمحتوى المائي ومحتواها من مادة البوليفينول. وكشف التحليل الكمي لمستخلص لب الزيتون أن الصنفين غنيين بمادة البوليفينول مع محتوى 1053.88 ملغ لأزيراج و 923، 69 ملغ لشمالا لكل 100 غرام من المادة الجافة

ركز تصنيف زيت الزيتون لسنة مناطق مختلفة من وسط شرق الجزائر على الدراسة الحسية، الفيزيائية والكيميائية وكذلك دراسة البوليفينول الكلي. النتائج المتحصل عليها تمت مقارنتها مع معايير المجلس الدولي للزيتون، وتبين ما يلي:

عينات الزيوت لبجاية وسطيف هي الأغنى بمادة البوليفينول مع 461.92 ملغ / كغ و 429.23 ملغ / كغ على التوالي. وكذلك، لوحظ أن أقل تركيز وجد في عينة تيبازة مع 185 ملغ / كغ. جميع العينات لديها السمات الإيجابية التالية: بطعم الفواكه والمر واللذاعة بشدة تتراوح بين 2 و 8 إلا أن عينة تيبازة تحتوي على سمة خميرية بكثافة 03/10 وسمة زنخية بكثافة 05/10. الحموضة، مؤشرات الحمض و البيروكسيد هي الأعلى لزيت زيتون تيبازة مع 4.51٪، 9.25 ملغ / غ و 24.5 مكافئ غ O₂/كغ على التوالي. بعد النتائج التي المتحصل عليها، صنف زيت الزيتون بجاية مثل زيت الزيتون البكر الممتاز. مقابل أن تيبازة يعتبر زيت الزيتون البكر الوقاد. زيوت البلدية (بوقرة والأربعاء)، المدية وسطيف كزيوت الزيتون البكر المشتركة.

كلمات البحث: زيت الزيتون، بوليفينول، الخصائص الحسية، و الخصائص الفيزيائية والكيميائية.

ABSTRACT

Our work consists in studying pomological characteristics of both olive varieties most common in the Algerian center are Chemlal and Azeradj. It was noted a difference therebetween in terms of weight, size, water content and their content of polyphenols. The quantitative analysis of extracts from olive pulp revealed a wealth drupe polyphenols for both varieties tested. With a content of 1053.88 mg for Azeradj and 923, 69 mg for Chemlal per 100 g of dry material.

The characterization of olive oils from 06 different regions of the Centre-East of Algeria focused on the study of the organoleptic, physical-chemical as well as the study of total polyphenols. The results obtained was compared with the business standards of the International Olive Council, show that:

The samples of oils from Bejaia and Setif are the richest in polyphenols with 461.92 mg / kg and 429.23 mg / kg, respectively. However, the lowest concentration was observed in the sample of Tipaza with 185mg / kg. All samples have the following positive attributes: Fruity, bitter and pungent at intensities ranging between 2 and 8 except that Tipaza has a vinous attribute of a 3/10 intensity and an attribute of a rancid intensity of 5/10. The acidity, the acid value and peroxide value are higher for olive oil Tipaza with 4.51%, 9.25 mg / g and 24.5 g meq O₂ / kg respectively. Following the results obtained, olive oil Bejaia is classified as extra virgin olive oil. As against that of Tipaza is considered to be lampante virgin olive oil. The oils from Blida (Bougara and Larbaa), Medea and Setif are common virgin olive oils.

Keywords: olive oil, polyphenols, organoleptic, physico-chemical characteristics.

Résumé

Dans les systèmes neuroendocrines, les cellules gliales participent de façon importante au processus de neurosécrétion. Ces cellules sont diverses et se présentent sous différents aspects. Ainsi au niveau de la glande pinéale ; structure neuroendocrine responsable de la régulation des rythmes biologiques, deux types de cellules gliales co-existent : les astrocytes et les microgliocytes. L'objectif de cette étude est de démontrer l'organisation cellulaire de la glande pinéale en ciblant certaines molécules afin de comprendre à travers leur distribution, l'intérêt des relations cyto-morphologiques de cette glande chez un animal saharien, connu pour ses caractéristiques physiologiques particulières d'adaptation au désert : le dromadaire (*Camelus dromedarius*). Pour cela, des approches histologiques et immunohistochimiques ciblant de trois molécules l' α -actine muscle lisse, la vimentine et la S-100 β ont été effectuées. Les résultats histologique nous ont permis d'une part de montrer l'hypervascularisation de la glande pinéale avec la présence de deux types cellulaires : cellule à grand et petit noyau d'autre part les résultats immunohistochimique nous ont permis d'observer une distribution de la vimentine au niveau du parenchyme de la glande pinéale. D'autres parts la S-100 β et l' α actine ont été intensément présentées à la périphérie des amas cellulaires et autour des vaisseaux sanguins. La différence de l'intensité et de la distribution de l' α actine muscle lisse, vimentine et de la S100 indiquent une forte activité dynamique dont la modulation impliquerait des interactions paracrines entre les pinéalocytes et les astrocytes probablement par l'activation de différents facteurs astrocytaires. Il serait également probable qu'il existe des indices de la présence d'une barrière astrocytaire au niveau de la glande pinéale du dromadaire.

Mots clés : Dromadaire ; Glande pinéale ; Pinéalocyte ; Cellule gliales ; α actine muscle lisse ; Vimentine ; S-100 β .

Abstract

In neuroendocrine systems, glial cells contribute significantly to neurosecretion process. These cells are different and have various aspects. Thus at the pineal gland; a neuroendocrine structure responsible for the regulation of biological rhythms, two types of glial cells co-exist: astrocytes and microglia. The aim of this study is to demonstrate the cellular organization of the pineal gland by targeting certain molecules, to understand through their distribution, the interest of cyto-morphological relationships of this gland in a Saharan animal, known for its physiological characteristics especially his adaptation to the desert: the dromedary (*Camelus dromedarius*). In order to do this, histological and immunohistochemical approaches, targeting three molecules: α - smooth muscle actin, vimentin and S-100 β , were performed. The histological results allowed us firstly, to determine the hypervascularity of the pineal gland with the presence of two cellular types: cell with a large and a small nucleus. In the other hand the immunohistochemical results allowed us to observe a distribution of vimentin in the parenchyma of the pineal gland. Secondly, the S-100 β and smooth muscle α actin were extensively present in the periphery of the cell aggregates and around blood vessels. The difference in the intensity and distribution of the smooth muscle α actin, vimentin and S100 indicate a strong dynamic activity. The modulation of this activity involves paracrine interactions between pinealocytes and astrocytes probably by activating different astro-glial factors. It is also likely that there are indications of the presence of astrocytic barrier at the pineal gland dromedary.

Keywords: Dromedary; Pineal gland; Pinealocyte; Glial cell; Smooth alpha actin ; vimentin ; S-100 β .

ملخص

في الأنظمة العصبية الهرمونية، الخلايا الدبقية تساهم اسهاما كبيرا في عملية الافراز العصبي كما ان هذه الخلايا كثيرة ومتعددة وتظهر في اشكال مختلفة. ففي الغدة الصنوبرية؛ مسؤولة عن تنظيم دورة و انسجام الوظائف البيولوجية، كم ان هناك نوعين من الخلايا الدبقية : الخلايا النجمية والخلايا الدبقية الصغيرة.

الهدف من هذه الدراسة هو تقديم البنية المجهرية التنظيم الخلوي و استهداف الجزيئات الخاصة بالخلايا الدبقية لمحاولة لفهم اهمية العلاقات بين البنية الخلوية لهذه الغدة لدى حيوان صحراوي معروف و متميز بخصائص فيزيولوجية جعلته يتكيف مع قساوة الصحراء:- الا و هو الإبل *Camelus dromedarius*.

ولهذا قمنا باستخدام تقنيات نسيجية ومناعية تسمى لاستهداف ثلاث جزيئات: α actine العضلات الملساء , vimentine و $S-100\beta$.

النتائج المستخلصة سمحت لنا من جهة بمراقبة توزع vimentine على مستوى الغدة الصنوبرية، من جهة أخرى $S-100\beta$ و α actine العضلات الملساء متواجدين بكثافة على سطح التكتلات الخلوية وحول الاوعية الدموية. التفاوت في كثافة وتوزيع α actine العضلات الملساء، vimentin و $S-100\beta$ تشير إلى النشاط الديناميكي القوي المتواجد بين الخلايا الصنوبرية و الخلايا النجمية من خلال تأثير عوامل الخلايا النجمية المختلفة.

ومن المرجح أيضا أن هناك دلائل على وجود حاجز نجمي دموي عصبي في الغدة الصنوبرية للإبل.

الكلمات الدالة: إبل، الغدة الصنوبرية؛ خلية افرازية. الخلايا الدبقية، α actine العضلات الملساء، vimentine و $S-100\beta$.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	les cellules de soutien dans le système nerveux central	2
02	Représentation schématique de l'interaction entre cellule neuronale -astrocyte	5
03	Schéma représentant la forme particulière et la densité des pieds astrocytaires contactant la paroi microvasculaire au niveau des capillaires cérébraux formant la BHE.	6
04	Représentation schématique du système nerveux central	8
05	N-acétyl-5-méthoxytryptamine ou mélatonine	12
06	Voie de biosynthèse de la mélatonine dans la glande pinéale des mammifères	13
07	Représentation schématique de la voie polynéuronale rétino-hypothalamo-pinéale, impliquée dans la synthèse de la mélatonine chez les mammifères.	14
08	Diagramme illustrant l'interaction paracrine entre les pinéalocytes et les astrocytes dans la modulation de la synthèse de la mélatonine par le glutamate.	16
09	Le dromadaire (<i>Camelus dromedarius</i>)	18
10	Dromadaires dans la salle d'abattage	20
11	Vue d'ensemble du cerveau du <i>Camelus dromedarius</i>	21
12	principe de la méthode indirecte de l'immunomarquage	24
13	Coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire colorées à hématoxyline éosine.	32
14	coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marqué à l'actine muscle lisse.	33
15	coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marqué à l'actine muscle lisse.	34

16	coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marqué à l'actine muscle lisse.	35
17	Coupes histologiques de la glande pinéale du <i>Camelus dromedarius</i> marquée au S-100 β .	36
18	Coupes histologiques de la glande pinéale marquée au vimentine, G \times 100, G \times 400, G \times 1000.	37

LISTE DES ABREVIATIONS

AANAT	Arylalkylamine N-acétyl-Tranférase
Ac	Anti-Corp
Ag	Antigène
AMPA	Alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor
ATP	Adénosine Tri Phosphate
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor
BHE	Barrier hémato-encéphalique
DAB	Di-Aminobenzidine
FS	Folliculostellaire
GABA	Acide GAMA -Aminobutyrique
GCS	Ganglions Cervicaux Supérieurs
GDNF	Glial Derived Neurotrophic Factor
GFAP	Glial Fibrillary Acide Protein
H₂O₂	Eau oxygénée
HCRT	Hypocrétine
HE	Hématoxyline-Eosine
HIC	Immunohistochimie
HIOMT	Hydroxyindole-O-Méthyltransférase
IML	colonne intermédiolatérale
NH	Neurohypophyse

IGF-1	Insulin Growth Factor 1
IL-1	Interleukine-1
MEL	Mélatonine
mGluR5	metabotropic Glutamate Receptor 5
NF-κB	Nuclear Factor –Kappa B
NH₃	Ammoniaque hydrogène
nM	nanomolaire
NMDA	N-Methyl-D-aspartic acid or N-Methyl-D-aspartate
NPV	neuropeptide Y
P2Y1	Purinoceptor 1
PBS	Phosphate Buffered Saline
pH	potentiel Hydrogène
PVN	Noyaux paraventriculaires
SNC	Système nerveux central
S100	Protéines Solubles dans 100% de sulfate d'ammonium
SNP	Système Nerveux Périphérique
TLR-4	Toll Like Receptor 4
TNF α	Tumor Necrosis Factor Alpha
TNFR1	Tumor Necrosis Factor Alpha Receptor 1
Tp	Tampon
TPH	Tryptophane hydroxylase
VIP	Vasoactive intestinal polypeptide

Liste des abréviations

CEE : Communauté économique européenne.

C O I : Conseil oléicole international

D.O : Densité optique

EAG/g.MS : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

H% : Humidité

Ii : indice d'iode

ISO : International Organisation For Standardisation

MeOH : méthanol

mg : milligramme

µg : microgramme

min : minute

ml : millilitre

Meq : Mille équivalents

MS : La matière sèche

MST: Matières sèches totales

nDt : l'indice de réfraction

nm : nanomètre

PP : Polyphénol

ppt : polyphénols totaux

s : Seconde

t : Temps

UV : Ultra-Violets

v/v : Rapport volume par volume

% : Pourcentage

Liste des figures

Figure 1 : carte oléicole mondiale (COI, 2013).....	03
Figure 2 : Présentation de l'oléiculture en Algérie (Saraoni, 2006).....	05
Figure 3 : Coupe longitudinale de l'olive (anonyme a, 2010).....	07
Figure 4 : Procédés général d'extraction dès l'huile d'olives.....	13
Figure 5 : L'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état (COI, 2010).....	15
Figure 6 : L'huile de grignons d'olive (CIO, 2010)	16
Figure 7 : Carte oléicole des zones d'échantillonnage.....	23
Figure 8 : Fruits et feuilles des variétés d'olive.....	28
Figure 09 : Procédure suivie pour la préparation des échantillons d'olives destinés à l'extraction des polyphénols.	29
Figure 10 : Schéma qui représente la procédure suivie pour l'extraction des polyphénols d'olive.....	30
Figure 11 : Evaporation sous vide par rotavapor de type Heidolph.....	31
Figure 12 : Extraction liquide- liquide (par solvants organiques).....	33
Figure 13 : Aspect de couleur de l'huile d'olive étudiés.....	35
Figure 14 : résultat de l'acidité (virage de la coulure vers rose claire).....	36
Figure 15 : Taux d'humidité et de matière sèche des variétés d'olive Chemlal et Aziradj.....	45
Figure 16 : Extrait des polyphénols de la pulpe d'olive (Chemlal et Azeradj).....	45
Figure 18 : Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique.....	46
Figure 19 : Teneurs en polyphénols des extraits d'olive des deux variétés Azeradj et Chemlal.	47

Figure 19 : Résultats des teneurs en polyphénols chez les six échantillons d'huile étudiés...	48
Figure 20 : Résultats de l'acidité des différents échantillons d'huile analysés.....	50
Figure 21 : Présentation graphique des résultats d'indice d'acide.....	51
Figure 22 : Présentation graphique des résultats d'indice de peroxyde.....	52
Figure 23 : Présentation graphique des résultats d'indice d'iode.....	53
Figure 24 : Présentation graphique des résultats d'indice de réfraction.....	54
Figure 25 : Présentation graphique des résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 232 nm.....	55
Figure 26 : Présentation graphique des résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 270 nm.....	56
Figure 27 : Structures chimiques des Polyphénols identifiés dans les fruits, les feuilles et les huiles d'olive classées par ordre alphabétique (Omar, S.H., 2010)..... (Annexe 08)	

Liste des tableaux

Tableau 01: Principales variétés d'olivier cultivées dans le monde (Grati Kamoun N., 2007)	(Annexe 1)
Tableau 02: Orientations variétales de l'olivier en Algérie (Loussert et Brousse 1978).	(Annexe 2)
Tableau 03 : Composition chimique de l'olive. (Maillard R, 1975)	08
Tableau 04 : Composition en acide gras de l'huile d'olive (COI, 2010)	18
Tableau 05: Caractérisation des olives des variétés Chemllet et Aziradj d'origine de Blida..	44
Tableau 06 : Taux d'humidité et de matière sèche des variétés d'olive Chemlal et Aziradj	(Annexe 6)
Tableau 07 : Composition en poly phénols totaux mg EAG/100g MS exprimés en acide gallique.....	(Annexe 6)
Tableau 08 : Composition en polyphénols totaux mg/kg exprimés en acide gallique	(Annexe 6)
Tableau 09 : Résultats de la dégustation des huiles d'olives étudiées.....	49
Tableau N°10: Résultats portant sur l'aspect et la couleur des différentes huiles étudiées	49
Tableau 11 : Résultats de l'acidité des huiles d'olives étudiées.....	(Annexe 6)
Tableau 12 : Résultats de l'indice d'acide des huiles d'olives étudiées.....	(Annexe 6)
Tableau 13 : résultats de l'indice de peroxyde des huiles d'olives étudiées.....	(Annexe 6)
Tableau 14 : résultats de l'indice d'iode des huiles d'olives étudiées.....	(Annexe 6)
Tableau 15 : Résultats de l'indice de réfraction des huiles d'olives étudiées.....	(Annexe 6)
Tableau 14 : Résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 232 nm des huiles d'olives étudiées.....	(Annexe 6)

Tableau 15 : Résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 270 nm des huiles d'olives étudiées.....	(Annexe 6)
Tableau 18 : Classification des huiles d'olive vierges étudiées.....	57

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	page
1	Nature, sources et dilution des anticorps utilisés	24

SOMMAIRE

CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1. les cellules gliales.....	2
1.1. Macroglie et microglie.....	3
1.1.1 La microglie	3
1.1.2 La macroglie	3
1.1.2.1. Les oligodendrocytes.....	3
1.1.2.2. Les astrocytes.....	4
1.1.2.3. Fonctions des astrocytes.....	4
1.2. Les cellules de soutien dans le système endocrine	6
1.3. Les cellules de soutien dans le système neuroendocrine	7
1.4. Les fonctions des cellules de soutien dans les différents systèmes.....	7
2. Histo-cytologie de la glande pineale	8
2.1. Description Morphologique de la glande pinéale.....	8
2.2. L'origine embryologique de la glande pinéale.....	11
2.3. Composition cellulaire de la glande pinéale.....	9
2.3.1. Le pinéalocyte.....	9
2.3.1.1. pinéalocyte de type 1.....	10
2.3.1.2. pinéalocyte de type 2.....	10
2.3.2. Les cellules neurogliales.....	10
2.4. Fonction de la glande pinéale.....	11
2.4.1. Rôle des pinéalocytes.....	11
2.4.2. le produit de sécrétion du pinéale :La mélatonine.....	12
2.4.3. La régulation de synthèse de la mélatonine.....	14
2.4.4. Le rôle de la mélatonine	15
2.4.5. Rôle des cellules neurogliales.....	15
2.5. Interaction entre les pinéalocytes et des cellules neurogliales.....	15
3. Le dromadaire et ses particularités adaptatives.....	17
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	18
1. lieu de réalisation des étapes expérimentales	18
2. materiel biologique	18
2.1. Milieu naturel du dromadaire	19
2.2. Écophysiologie de l'animal	19
3. Methodes expérimentales	20
3.1. Prélèvement.....	20
3.2. techniques histologiques	21
3.3. Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (HE)	22
3.4. Technique d'immuno-Histochimie	22
3.4.1. Déparaffinage	26
3.4.2. Prétraitement de tissu.....	26
3.4.2.1. Démasquage antigénique	26
3.4.2.2. Bloquage des peroxydases endogènes	27
3.5. Immunomarquage et révélation	27
3.6. Contre cooration à l'Hématoxyline éosine	28
3.7. Montage des coupes	28
3.8. Analyse microscopique et aquisition d'image	29
CHAPITRE III. RESULTATS.....	30

CHAPITRE IV. DISCUSSION	38
CONCLUSION	43

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

Table des matières

Introduction	1
---------------------------	----------

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Histoire et expansion de l'olivier.....	3
2. Situation de l'oléiculture dans le monde.....	3
2.1. Variétés d'olivier de par le monde.....	4
3. L'oléiculture en Algérie.....	4
3.1. Les variétés locales les plus cultivées en Algérie.....	5
4. Caractéristiques botanique	6
4.1. La classification de l'olivier.....	6
4.2. Description et morphologie de l'olive.....	7
4.3. Composition chimique de l'olive.....	8
5. Les exigences pédoclimatiques de l'olivier.....	9
5.1. Le climat.....	9
5.1.1. Les températures.....	9
5.1.2. La pluviométrie.....	9
5.1.3. L'hygrométrie.....	9
5.1.4. La lumière.....	10
5.1.5. Le vent.....	10
5-2- Le Sol.....	10
6. Fabrication de l'huile de l'olive	11
6.1. Maturation des olives	11
6.1.1. La floraison.....	11

6.1.2. La nouaison	11
6.1.3. La véraison	11
6.1.4. La lipogenèse	11
6.2. Récolte des olives ou olivaison.....	12
6.3. Différentes méthodes de cueillette.....	12
6.3.1. Traditionnelle.....	12
6.3.2. Mécanisée.....	12
6.4. Le lavage, le broyage, le malaxage.....	12
6.4.1. Broyage.....	13
6.4.2. Malaxage.....	13
6.4.3. Séparation des phases.....	13
6.4.4. Décantation.....	13
6.4.5. L'huile d'olive est immédiatement stockée dans les meilleures conditions	13
6.5. Procédés de fabrication de l'huile d'olive.....	14
6.5.1. Procédé discontinu ou système à presse	14
6.5.2. Procédé continu ou système à centrifugation.....	14
7. Dénomination et définition dès l'huile d'olive.....	14
7.1. L'huile d'olive.....	14
7.1.1. L'huile d'olive vierge.....	15
a) L'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état.....	15
b) L'huile d'olive vierge non propre à la consommation en l'état.....	15
7.1.2. L'huile d'olive raffinée.....	15
7.1.3. L'huile d'olive.....	15

7.2. L'huile de grignons d'olive.....	16
8. Composition chimique de l'huile d'olive	16
8.1. Fraction saponifiable	16
a) Glycérides	16
b) Acides gras.....	17
8.2. Fraction insaponifiable.....	17
a) Tocophérols.....	17
b) phénols.....	18
c) Substances aromatiques	19
d) Stérols.....	19
e) Hydrocarbures.....	19
f) substance colorée.....	19
9. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive	19

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

1. Lieux et durée de stage.....	22
2. Matériel	22
2.1. Matériel végétal.....	22
2.1.1. Présentation de la zone d'étude	22
2.1.1.1. Présentation de la wilaya de Bejaïa.....	23

a. Situation géographique.....	23
b. Le climat.....	24
2.1.1.2. Présentation de la wilaya de Blida.....	24
a. Situation géographique	24
b. Le climat.....	24
2.1.1.3. Présentation de la wilaya de Médéa.....	25
a. Situation géographique.....	25
b. Le climat.....	25
2.1.1.4. Présentation de la wilaya de Sétif.....	25
a. Situation géographique.....	25
b. Le climat.....	25
2.1.1.5. Présentation de la wilaya de Tipaza.....	26
a. Situation géographique.....	26
b. Le climat.....	26
2.2. Matériel de laboratoire	27
2.3. Echantillonnage	27
3. Méthodes.....	27
3.1. Etude sur les olives.....	27
3.1.1. Caractérisation physique ou pomologique des olives.....	27
3.1.1.1 Détermination du poids, la largeur et la longueur moyenne des échantillons d'olives.	27
3.1.1.2. Taux d'humidité ou teneur en eau.....	28

3.1.2. Extraction des polyphénols de pulpe d'olive.....	29
3.1.3. Le taux de polyphénols des olives	31
3.1.3.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin Ciocalteu).....	31
3.2. Méthodes d'analyses ayant porté sur l'huile.....	32
3.2.1. Teneur en polyphénols d'huile d'olive.....	32
3.2.2. Les analyses organoleptiques.....	33
3.2.2.1. Dégustation.....	33
3.2.2.2. Détermination de l'aspect et de la couleur à + 20°C pendant 24h.....	34
3.2.3. Détermination des critères physico-chimiques.....	36
3.2.3.1. Détermination de l'acidité libre.....	36
3.2.3.2-Détermination de l'indice d'acide.....	38
3.2.3.3. Détermination de l'indice de peroxyde.....	38
3.2.3.4. Détermination l'indice d'iode.....	40
3.2.3.5. Indice de réfraction.....	41
3.2.3.6. Détermination de l'absorbance spécifique en rayonnement ultraviolet.....	42

CHAPITRE III

RESULTATS

1. Etude sur les olives

1.1. Détermination du poids, la largeur et la longueur moyenne des échantillons d'olives	
1.2. Taux d'humidité (Teneur en eau).....	44
1.3. Teneurs des olives en polyphénols.....	45
2. Les analyse sur les huiles.....	47

2.1. Teneur en polyphénols dans les différents échantillons l'huile.....	47
2.2. Analyses organoleptiques.....	48
2.2.1. Dégustation.....	48
2.2.2. Aspect et couleur.....	49
2.3. Analyses physico-chimiques.....	50
2.3.1. Acidité.....	50
2.3.2. Indice d'acide.....	51
2.3.3. Indice de peroxyde.....	52
2.3.4. Indice d'iode.....	52
2.3.5. L'indice de réfraction.....	53
2.5.6. Absorbance spécifique au rayonnement ultraviolet	54
A- Absorbance à une Longueur d'onde 232 nm.....	54
B- Absorbance à la Longueur d'onde 270 nm.....	55
3. Classification des huiles d'olive vierge étudiées.....	56

CHAPITRE VI

DISCUSSION

1- Discussion des résultats portant sur l'étude réalisée sur les olives.....	58
1.1. Caractérisation pomologique des olives.....	58
1.2. Taux d'humidité.....	58
1.3. Teneur en polyphénols des drupes.....	59
2. Discussion portant sur la qualité des huiles étudiées	60
2.1. Teneur en polyphénols	60
2.2. Discussion portant sur les analyses organoleptiques de l'huile.....	60

2.3. Discussion portant sur les analyses physico-chimiques de l'huile.....	61
2.3.1. Acidité.....	62
2.3.2. Indice de peroxyde.....	62
2.3.3. Indice d'iode.....	63
2.3.4. Indice de réfraction.....	63
2.3.5. Absorbance.....	64

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....65

REFERANCE BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXE

Depuis des siècles, l'olivier est compagnon de la vie des hommes. L'huile d'olive, elle, est la plus ancienne huile alimentaire connue. De nos jours, de nombreuses études scientifiques confirment l'importance d'une alimentation saine sur la santé. C'est pourquoi, l'huile d'olive, pilier du régime méditerranéen **(Stéphanie, 2003)**.

Dans le Coran (**souret « El Nour », la Lumière**), Dieu évoque les bienfaits et les bénéfices de cet arbre.

L'huile d'olive est une des principales composantes du régime dit « méditerranéen », connu pour son action bénéfique sur la santé. Elle est caractérisée par sa composition particulière en acides gras, en composés mineurs appartenant à la fraction insaponifiable des huiles végétales. Ses caractéristiques physicochimiques et organoleptiques sont définies par la norme commerciale du Conseil Oléicole International **(COI, 2010)**.

L'effet bénéfique de l'huile d'olive sur la santé humaine est attribué, entre autres, à sa teneur en composés phénoliques. Ces derniers ne cessent de prendre une importance croissante à cause de leurs vertus sur la santé. Leur pouvoir antioxydant naturel suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. L'intérêt croissant aux composés phénoliques de l'huile d'olive a été renvoyé au fruit (olives) **(Romero et al., 2004)**

Plusieurs études épidémiologiques et travaux expérimentaux ont établi que l'alimentation méditerranéenne traditionnelle est la meilleure alternative pour une meilleure santé, le bénéfice santé de cette alimentation est lié à sa composition principalement d'olive et d'huile d'olive, comme source d'au moins de 30 composés phénoliques, dont un bon nombre ont des propriétés antioxydantes et considérés comme des éléments clés cardioprotecteurs. Ainsi, ils permettent une baisse de la cholestérolémie et protègent contre la lipoxydation et contre d'autres facteurs de risque de maladies chroniques dégénératives **(El-Boustani et al., 2004)**.

La qualité commerciale de l'huile d'olive vierge est définie, par la norme du Conseil oléicole international et par celle du Codex Alimentaire. Ces normes distinguent quatre types de qualité de l'huile d'olive : « extra », « vierge », « vierge courante » et « vierge lampante ». Ces divers types de qualité sont définis en fonction de critères physico-chimiques (l'acidité libre, l'indice de peroxydes, l'absorbance dans l'UV) et de critères organoleptiques. Ainsi, en

termes de stabilité, l'huile d'olive est très connue pour sa résistance aux différents mécanismes de l'oxydation. Ceci est strictement lié à faible teneur en acides gras polyinsaturés (**Velasco et al ., 2002**) et à sa composition en antioxydants naturels, notamment les orthodiphénols, les polyphénols et les tocophérols qui piègent les radicaux libres de l'oxygène et préservent la qualité, et la stabilité de l'huile durant sa conservation. (**Idrissi et al., 2012**)

La superficie oléicole mondiale serait de l'ordre de 10 millions d'hectares dont 95 % se situent autour du bassin méditerranéen (**Perez-lopez et al., 2007**). Le verger algérien d'oliviers occupe une superficie de 310.000 ha et le nombre d'oliviers est estimé à 32 millions d'arbres. Avec une production moyenne en huile de 33.000 tonnes et en olives de table de 46.000 tonnes par année (**Bensemmane, 2009**).

La filière d'huile d'olive en Algérie accuse un retard de développement en amont et en aval. Le savoir-faire dans ce domaine mais aussi les structures d'appui font défaut d'une façon dramatique. L'absence de laboratoires spécialisés et d'unité de conditionnement font que l'huile algérienne ne peut rivaliser avec les productions des pays concurrents. (**Bensemmane, 2009**).

L'objectif de ce travail consiste dans un premier temps à étudier certaines caractéristiques de deux variétés d'olive les plus cultivées en Algérie à savoir la Chemlal et l'Azeradj. Dans ce contexte, il est réalisé ; la caractérisation pomologique, l'extraction des polyphénols et leur caractérisation quantitative. Dans un second temps il est mené une étude sur les caractéristiques qualitatives de six échantillons d'huiles d'olives algériennes dans le but de savoir si nos huiles répondent aux normes internationales. Celles-ci concernent la teneur en polyphénols de ces huiles, leurs caractères organoleptiques tels que l'aspect et la couleur et la mise en évidence de leurs attributs positifs et négatifs par le biais de la dégustation. Elles concernent aussi les critères physico-chimiques résumés dans l'acidité, l'indice d'acide, l'indice de peroxyde, l'indice d'iode, l'indice de réfraction et l'absorbance dans l'ultraviolet.

Notre travail débute par une étude bibliographique sur l'olivier et sur l'huile d'olive. Le matériel d'étude et les méthodes utilisées sont traités dans le deuxième chapitre. Les résultats concernant l'étude sur les olives et sur l'huile sont présentés dans le troisième chapitre. Le quatrième chapitre est consacré aux discussions. Une conclusion générale termine ce travail suivie par des perspectives.

Introduction

La glande pinéale ou l'épiphyse c'est une structure neuroendocrine située à proximité de grandes zones intégratrices d'informations environnementales entre les deux hémisphères cérébraux et le cervelet. En relation étroite avec le système nerveux centrale, Elle est impliquée dans l'intégration d'informations environnementales pour synchroniser les fonctions circadiennes et saisonnières de l'organisme (**Simonneaux et Ribelayga, 2003**).

La glande pinéale est composée de deux types cellulaires : les pinéalocytes et les cellules gliales (**Bhatnagar ,1992 ; Karasek et Reiter, 1992**). Les pinéalocytes manifestent une évidence morphologique en ce qui concerne leur activité fonctionnelle, avec un développement considérable des organelles impliquées dans la synthèse protéinique. Le développement des cellules gliales est similaire à celui des pinéalocytes. Le tropisme vasculaire observé, suggère que ces cellules à part leur fonction classique de support pourraient également jouer un rôle plus important comme barrière sélective dans l'échange de substances entre le parenchyme et les vaisseaux sanguins (**Franco et al ,1997**).

Dans le système neuroendocrine les cellules gliales jouent des rôles multiples. Certaines études réalisées sur des modèles animaux comme le rat et la souris montrent que les cellules gliales influencent la sécrétion hormonale par la libération de facteurs de croissance et/ou de molécules bioactives, mais aussi par des remaniements structuraux qui modulent l'accès direct des terminaisons nerveuses des hormones aux capillaires, régulant ainsi l'efficacité du passage des neuro-hormones entre les terminaisons nerveuses et le sang (**Prevot, 2002**).

Dans notre étude, nous avons voulu explorer la composante neurogliale de la glande pinéale chez le dromadaire, un animal saharien exposé pendant le jour à un ensoleillement contenu et connu pour son exceptionnelle résistance et adaptation dans des situations physiologiques extrêmement rudes en particulier à la déshydratation (**Peyer 1989**).

En menant notre étude nous avons pu soulever la problématique suivante pour essayer de comprendre l'organisation et les relations cellulaires de la glande pinéale chez le dromadaire:

(i) Quelle est l'organisation morpho-fonctionnelle des cellules gliales et des pinéalocytes ?

(ii) Existe –il une barrière hemato-gliale au niveau de cette glande ?

Pour cela nous avons ciblé par immunomarquage certains marqueurs de cellules gliales comme la protéine S-100 β et des molécules du cytosquelette synthétisés par les cellules gliales comme la vimentine et l'actine du muscle lisse.

1. Histoire et expansion de l'olivier

Selon des études archéologiques et paléobotanique, on pense que la domestication de l'olivier aurait pris naissance, comme celle de plupart des espèces fruitières, au proche orient au quatrième millénaire avant notre ère (**Inra, 2006**).

Sa dissémination se serait ensuite étendue à l'occident sur les deux virages de la méditerranée ou elle fit l'objet d'une sélection continue, source d'amélioration et de diversification (**Argenson et al., 1999**).

2. Situation de l'oléiculture dans le monde

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (**Benhayoun et Lazzeri, 2007**). (Figure 1)



Figure 01 : Carte oléicole mondiale (COI, 2013)

2.1. Variétés d'olivier de par le monde

L'olivier (*Olea europaea. L*), espèce caractéristique du paysage méditerranéen, compte de nombreuses variétés ayant une diversité phénotypique importante (**Grati Kamoun, 2007**). Les origines de ces variétés demeurent imprécises.

Divers travaux ont suggéré que l'inter-fertilité entre les formes cultivées et /ou les formes sauvages soit à l'origine de la diversification de l'olivier cultivé. Actuellement, on recense des centaines de variétés dans chacun des principaux pays oléicoles méditerranéens où sont encore cultivées de très anciennes variétés (**Loussert et Brousse, 1978 ; Idrissi et Ouazzani, 2006**).

Les variétés d'olivier se divisent en trois catégories :

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

Les principales variétés d'olivier cultivées dans le monde représenté dans le tableau 1 (annexe n°1).

3. L'oléiculture en Algérie

La culture de l'olivier en Algérie remonte à la plus haute antiquité, elle constitue une source de revenu significative pour la population rurale. Cette culture représente plus de 50% du verger arboricole national (**Abercane, 1992**).

Elle occupe traditionnellement le Nord Centre et Nord Est du pays pour l'olive à huile et le nord-ouest pour l'olive de table. Depuis quelques années, elle se répand plus au Sud et même dans les régions sahariennes (**Bisset, 2011**). L'oliveraie algérienne génère environ 1% des produits oléicoles dans le monde.

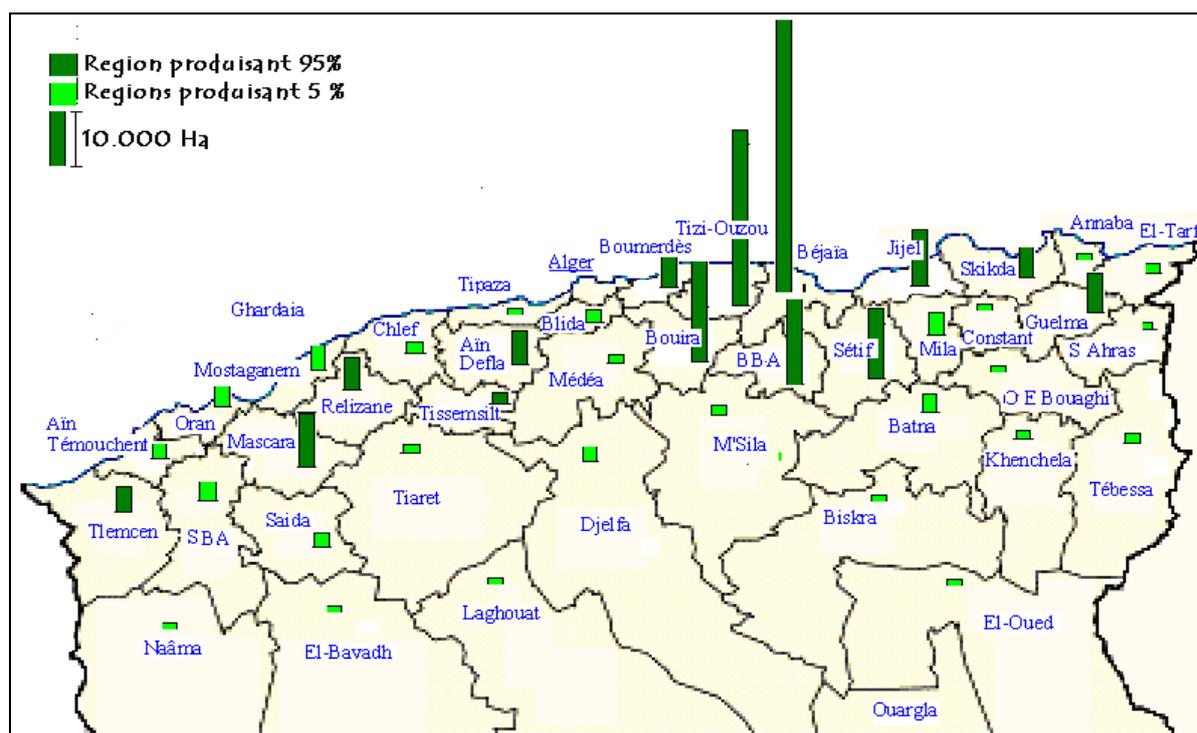


Figure 02 : Présentation de l'oléiculture en Algérie (Saraoni, 2006).

3.1. Les variétés locales les plus cultivées en Algérie

-Chemlal: C'est la variété la plus dominante en Algérie, elle représente près de 45% du patrimoine oléicole nationale (Mendil et Sebai, 2006).

-Sigoise : C'est une variété auto-fertile, elle représente 20% du verger oléicole national. Généralement, elle se localise à l'Ouest du pays allant de Oued Rhiau jusqu'à Tlemcen. C'est une variété à deux fins.

-Azeradj et Bouchouk: Elles accompagnent généralement les peuplements de Chemlal dont Azeradj améliore la pollinisation. Elles présentent un gros fruit destiné à la conserverie et même à la production d'huile.

-Limli : représente 8% du verger oléicole national, elle se rencontre dans la région d'Oued Soummam.

-Rougette de Mitidja : C'est une variété à huile installée dans la plaine de Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude.

-Rougette de Guelma et blanquette de Guelma : Elles se trouvent en association dans la région Est du pays. (Mendili et Sebai, 2006). Les autres variétés qui sont moins connus sont présentées dans le tableau 2 (annexe n°2).

4. Caractéristiques botanique

4.1. Classification de l'olivier

L'olivier appartient à la famille des oléacées qui comprend à 29 genres, dont les plus importantes sont : (Liustrum (troéne), Syringa (lilas), Olea (olivier) ainsi que le genre des jasinoïdes (jasmin)) (Flahault, 1997). Certains genres comporte jusqu'à 30 espèces et sous espèces. La seule espèce portant des fruits comestibles est *Olea europaea* (Alim et Zouambia, 2007).

Selon Loussert et Brousse (1978), l'espèce *oles europaea* se subdivise en trois grandes sous espèces :

- ❖ *_Euromediterrania.*
- ❖ *_Laperrini.*
- ❖ *_Cuspidata.*

La sous espèces *Euromediterrania* se subdivise en deux sous espèces :

- ❖ *Oleaster*
- ❖ *sativa*

D'après Argenson et al., (1999), la systématique de l'olivier peut être résumée comme suit :

Embranchement : Phanérogames

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Série : Terbiithales

Ordre : Ligustrales

Famille : Oléacées

Genre : Olea

Espèce : Europaea

Sous espèce : Sativa

4.2. Description et morphologie de l'olive

Les olives sont des drupes ovoïdes, à sommet arrondi ou pointu, de 1 à 3 cm de long sur 1 à 1,5 cm de large et pesant de 2 à 6 g. Ses dimensions sont très variables suivant les variétés. La paroi de ce fruit est constituée :

-de l'épicarpe (épiderme ou peau) solidement attaché à la pulpe. A maturation, l'épicarpe passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante) puis à la coloration noirâtre (olive noire).

-du mésocarpe (pulpe ou chair), charnu, riche en huile.

-de l'endocarpe (noyau), scléreux, constitué par un noyau fusiforme, très dur. A l'intérieur du noyau se trouve une seule graine contenant embryon et albumen (Alim et Zouambia, 2007).

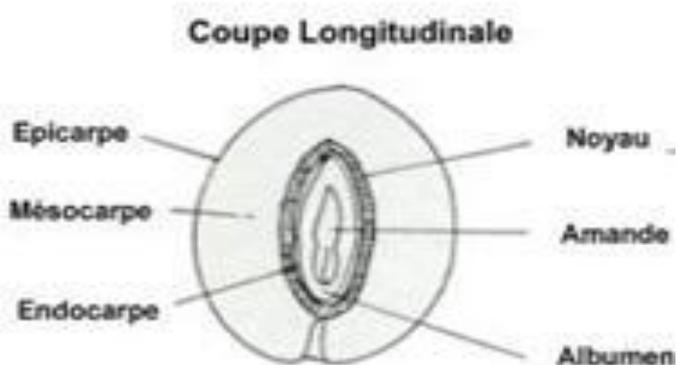


Figure N°3: Coupe longitudinale de l'olive (anonyme a, 2010).

4.3. Composition chimique de l'olive

La composition chimique de l'olive (Tableau 03) est fonction de plusieurs paramètres dont la variété, le climat et les conditions culturales (**Maillard R, 1975**).

Tableau N°3 : Composition chimique de l'olive.

Constituants(%) Partie anatomique	Eau (%)	Lipides (%)	Protides (%)	Glucides (%)	Cendres (%)
Pulpe (épicarpe + mésocarpe)	24,2	56,40	6,8	9,9	2,66
Coque du noyau	4,2	5,25	15,6	70,3	4,16
Amande	6,2	12,26	13,8	65,6	2,16

(**Maillard R, 1975**)

Les vitamines A, B1, B2, PP et E sont synthétisées durant la période de maturation du fruit. L'olive renferme aussi les constituants suivants :

- mannitol (dans les olives non mûres)
- un pigment rouge : l'oléacyanine
- un glucoside amer appelé oleuropéside ou oleuropéine
- acide oléanolique
- du glutathion
- des diastases : oléase et émulsive active sur l'oleuropéine
- une cire et une résine excrétée par l'épicarpe.

5. Exigences pédoclimatiques de l'olivier

5.1. Le climat

Bien que l'olivier fût introduit dans les quatre coins du monde, sa culture et ses exigences sont associées à la zone méditerranéenne, cette dernière est caractérisée par un hiver doux et humide et un été sec et chaud.

Comme l'olivier ne peut pas résister à des températures inférieures à -15°C , cette isotherme délimite sa zone de culture en latitude (entre 22° et 45° dans l'hémisphère nord et de l'équateur au 37^{ème} parallèle dans l'hémisphère sud) (**Baldy, 1990**).

5.1.1. Les températures

L'olivier est un arbre thermophile caractéristique des régions chaudes, malgré son aptitude à supporter les températures élevées de l'été (avec alimentation hydrique), les températures supérieures à 40°C causeront des brûlures endommageant l'appareil foliacé ainsi que la chute des fruits (**Lousert et Brousse, 1978**).

L'olivier ne supporte pas beaucoup le froid, en effet les températures négatives (-5 à -6°C) peuvent être dangereuses, surtout survenant brutalement au court du repos végétatif. Les dégâts se manifestent suite à l'impuissance du système racinaire à pomper l'eau ainsi que les nutriments vers la partie aérienne ce qui provoquerait le dessèchement de cette partie (**Baldy, 1990**).

5.1.2. La pluviométrie

Pour une croissance et un développement favorable de l'olivier, la pluviométrie se situe entre 450 et 600 mm bien répartie dans le temps. Cependant, la période chaude et sèche de l'été caractérisant le climat méditerranéen coïncide avec la sclérisation du noyau exigeant des besoins élevés en eau, ce qui nécessite un apport externe par irrigation pour faire augmenter la quantité et améliorer la qualité de production (**Hannachi H et al., 2007**).

5.1.3. L'hygrométrie

Les fortes humidités de l'air peuvent être néfastes pour la croissance de l'arbre. Aussi, elles favorisent les maladies cryptogamiques comme elles gênent la pollinisation anémophile ; c'est pour cette raison que cette culture est à éviter à proximité immédiate de la

mer.toutfois, la variété Hamra est assez tolérante à l'excès d'humidité (**Lousert et Brousse, 1978**).

On note que les fortes hygrométries, la grêle et les gelés printanières sont autant des facteurs défavorables à la floraison ainsi qu'à la fructification.

5.1.4. La lumière

Avec une bonne exposition au soleil, l'olivier donne des meilleurs rendements. Par ailleurs, les coteaux bien exposés au soleil (versant sud) présentent un meilleur développement.

La lumière est un facteur déterminant au cours de la floraison. Selon **Daoudi (1994)**, l'évolution florale est inhibée sur les arbres qui ne reçoivent pas assez de lumière.

5.1.5. Le vent

La pollinisation chez l'olivier est essentiellement anémophile. De ce fait, le vent joue un rôle primordial dans la production.

Malgré son importance, l'olivier craint les vents chauds qui peuvent causer des brûlures sur les arbres et le dessèchement des stigmates au moment de la floraison ce qui engendrerait la destruction de la récolte.

5.2. Le Sol

L'olivier connu pour sa plasticité, est cultivé dans toutes sortes de types de sol, le plus souvent dans des terrains pauvres là où les autres cultures n'auraient pas pu être envisagées. Néanmoins, il préfère les sols légers à texture sableuse permettant le développement en profondeur et en largeur des racines. Selon **Lousert et Brousse (1978)**, la profondeur du sol nécessaire à l'arbre doit être au minimum 1 à 1,5 m; C'est la structure et la texture du sol qui détermine la perméabilité, la capacité de rétention ainsi que la dynamique de l'eau dans le sol et son aération.

L'olivier supporte jusqu'à 2g de Chlorure/kg de terre sèche en sol lourd et 1g/kg de terre sèche en sol léger (**Amrouche, 1999**). Aussi cette sensibilité au sel varie selon les variétés.

Pour les composants chimiques et d'après **Pansiot et Rebour, (1960) in Lousert et Brousse, (1978)** un verger de 100 à 200 arbres/ha doit contenir :

-P₂O₅ : Avec moins de 10 % de calcaire : 0,6 ‰ à 0,65 ‰ de P₂O₅.

Avec plus de 10 % de calcaire : 0,7 ‰ à 0,75 ‰ de P₂O₅.

-K₂O : Pour tous terrains : 0,4 ‰ de K₂O.

-N : 1 à 1,5 ‰ d'azote total avec un taux de matière organique de 2 à 3 %.

6. Extraction de l'huile de l'olive :

C'est à partir de la pulpe très charnue que l'on obtient l'huile d'olive.

6.1. Maturation des olives :

La maturation des olives passe par quatre étapes:

6.1.1. La floraison :

Elle s'effectue d'avril à juin. Très peu de fleurs seront fécondées; seules 5 fleurs sur 100 donneront un fruit.

6.1.2. La nouaison :

Le noyau durcit ordinairement dans la première quinzaine d'août, c'est ce que l'on nomme la nouaison.

6.1.3. La véraison :

Le moment où la couleur de l'olive passe du vert acide au vert tendre se nomme la véraison. Jusqu'à ce stade, il n'y a pas d'huile dans l'olive, mais un mélange d'acides gras organiques et de sucres. La transformation des protides et des glucides en lipides va débiter par la suite. En septembre, on peut récolter les olives vertes destinées à être directement consommées (**Ricordel , 1999**).

6.1.4. La lipogénèse :

Le phénomène de transformation en huile des acides et des sucres du fruit se nomme la lipogénèse. Cette transformation de l'huile débute dans le fruit, de très bonne heure, car le microscope décèle déjà, dès le printemps, dans les éléments cellulaires, des gouttelettes huileuses très fines (**Scotto, 1995**).

6.2. Récolte des olives ou olivaison

Elle s'effectue de différentes manières suivant la variété cultivée et les régions. Ainsi, les olives destinées à la table sont cueillies avant celles destinées à l'huilerie qui doivent attendre un degré de maturation plus avancé. La date exacte de la récolte correspondant au juste degré de maturité reste difficile à déterminer. Elle peut varier d'une région à l'autre et d'une année à l'autre (**Uzzan, 1992**).

6.3. Différentes méthodes de cueillette :

6.3.1. Traditionnelle

Il s'agit de la cueillette à la main, méthode qui donne entière satisfaction du point de vue de la qualité des fruits récoltés. Les olives sont cueillies une à une, au rythme de 7 à 10 kg par heure.

En Corse, des filets sont tendues entre les oliviers et les olives se détachent d'elles-mêmes et tombent directement dans les filets. C'est la récolte la plus tardive et par conséquent elle produit une huile au goût très particulier.

Ce procédé est parfois complété par le gaulage des fruits les plus hauts situés, à l'aide de longues perches. Aujourd'hui, on peigne encore les rameaux en détachant les olives à l'aide d'un râteau (**Ricordel, 1999**).

6.3.2. Mécanisée

Actuellement, la mécanisation totale de la cueillette, par vibration au niveau du tronc ou des branches, est de plus en plus envisagée bien qu'elle ne puisse pas s'adapter à tous les vergers. Le rendement de cette technique peut atteindre 20 à 25 kg d'olives par heure et par ramasseur ce qui explique que les recherches agricoles vont dans le sens de la modernisation qui présente l'avantage de la rapidité de la récolte permettant ainsi d'améliorer la qualité de l'huile produite (**Ricordel, 1999**).

6.4. Le lavage, le broyage, le malaxage :

Les différents procédés utilisés pour l'extraction de l'huile d'olive peuvent employer des techniques et des instruments divers mais tous suivent un même principe de base (Figure 04).

Après la cueillette, les olives destinées à la fabrication de l'huile sont triées pour éliminer les brindilles et les feuilles, puis lavées à l'eau froide.

6.4.1. Broyage:

L'huile est contenue dans de minuscules vacuoles dans les cellules des olives. C'est en brisant la paroi de ces vacuoles que l'on peut la récupérer. A l'issue du broyage, on obtient une pâte.

6.4.2. Malaxage:

La pâte est malaxée pour libérer une quantité d'huile maximale

6.4.3. Séparation des phases

Elle permet de dissocier la phase solide (appelée grignon) de la phase liquide qui renferme l'huile et les eaux de végétation.

6.4.4. Décantation

Elle consiste à séparer l'huile des eaux de végétation appelées margines

6.4.5. L'huile d'olive est immédiatement stockée dans les meilleures conditions

En effet, même si l'huile d'olive résiste assez bien à l'oxydation, elle absorbe facilement les odeurs et les saveurs de son environnement. Ses qualités organoleptiques peuvent alors être modifiées d'où l'utilisation de cuves en inox généralement (Breger, 2001).

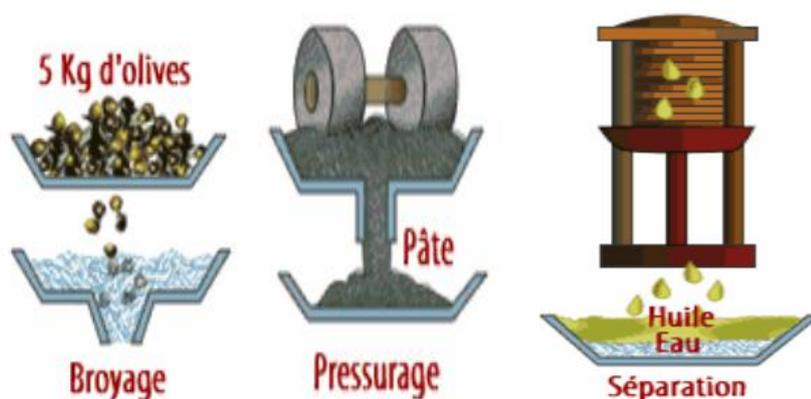


Figure N°4 : Procédés général d'extraction dès l'huile d'olives

6.5. Procédés de fabrication de l'huile d'olive

Deux procédés de fabrication de l'huile d'olive sont généralement utilisés: un procédé discontinu et un procédé continu.

6.5.1. Procédé discontinu ou système à presse

Ce procédé est le système le plus répandu. Le broyage est réalisé par des meules en pierre de granit, qui tournent dans un bac dont le sol est également en pierre.

Les meules utilisées pour le broyage sont ensuite légèrement décentrées par rapport à l'axe de rotation. Elles dérapent donc légèrement sur le socle lorsqu'elles tournent ce qui permet de malaxer la pâte.

La phase liquide s'écoule dans un bac de réception; le grignon reste accroché aux scourtins.

Enfin, des centrifugeuses permettent de séparer l'huile d'olive des margines.

6.5.2. Procédé continu ou système à centrifugation

Le broyage est réalisé par des broyeurs mécaniques agissant comme des «presse purée ». Ces broyeurs peuvent travailler en continu, la pâte étant obtenue presque instantanément.

Ensuite, la pâte est amenée dans un bac en inox, dans lequel tourne une spirale ou une vis sans fin, également en inox.

La pâte malaxée est injectée par une pompe dans une centrifugeuse dont l'axe est horizontal.

La dernière étape est identique au procédé précédent: des centrifugeuses permettent de séparer l'huile d'olive des margines (Roeilly, 2002).

7. Dénomination et définition de l'huile d'olive

7.1. L'huile d'olive

L'huile d'olive est le lipide alimentaire le plus ancien. Elle a toujours été l'un des plus importants du régime méditerranéen (Flahault, 1997).

D'après le (**conseil oléicole international, 2010**) (COI), cette appellation concerne l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*olea europea L.*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par procédé de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

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

7.1.1. L'huile d'olive vierge

L'huile d'olive vierge est l'huile obtenue du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques notamment, qui n'entraînent pas l'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

a) L'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état

L'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état comporte trois types (figure 05).

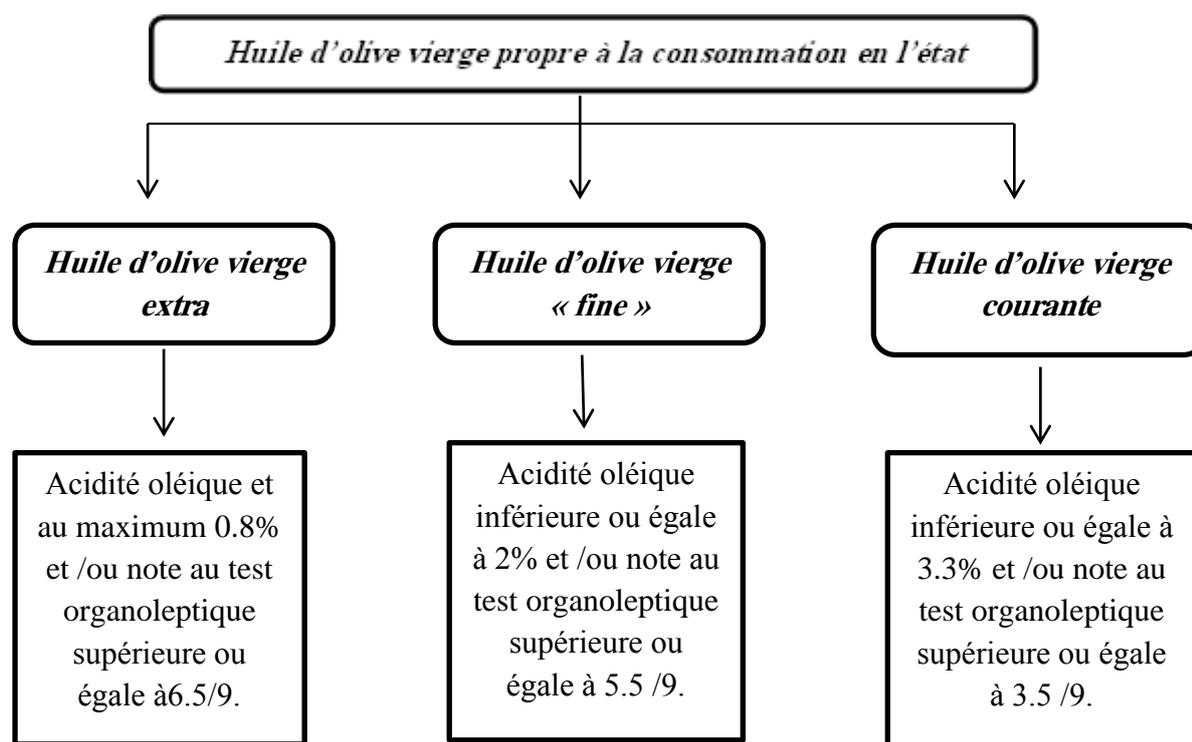


Figure N°5: L'huile d'olive vierge propre à la consommation en l'état (COI, 2010)

b) L'huile d'olive vierge non propre à la consommation en l'état

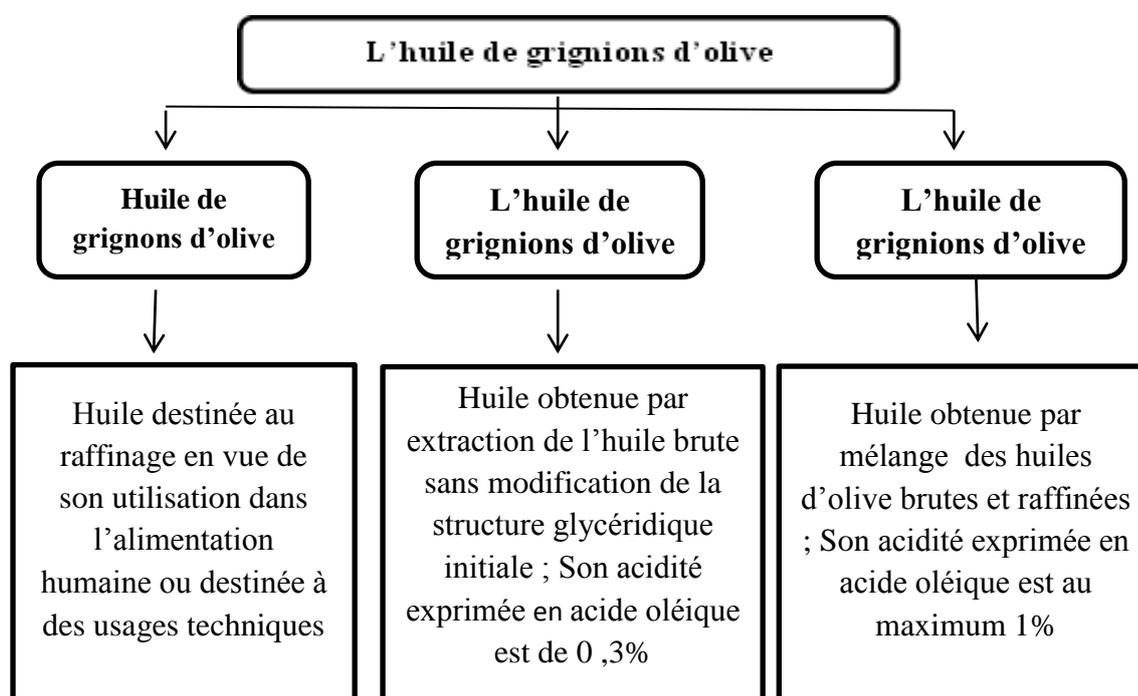
Elle est dénommée huile d'olive vierge lampante. C'est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3.3% et /ou une note au test organoleptique supérieure ou égale à 3.5/9.

7.1.2. L'huile d'olive raffinée

L'huile d'olive raffinée est l'huile d'olive obtenu des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas de modification de la structure glycérique initiale ; son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3%.

7.2. L'huile de grignons d'olive

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



FigureN°6 : L'huile de grignons d'olive (CIO, 2010)

8. Composition chimique de l'huile d'olive

Sous l'angle chimique, l'huile d'olive est constituée pour près de 98-99% par un mélange de triglycérides. Ces molécules sont des esters d'acides gras et de glycérol qui constituent la partie saponifiable de l'huile d'olive ; La fraction non triglycérique (0,5-1,5%), à savoir l'insaponifiable, comporte de nombreuses substances (stéroïdes, vitamines, cires, hydrocarbures, composés phénoliques...) (**Grati Kamoun, 2007**).

8.1. Fraction saponifiable

a) Glycérides

L'huile d'olive renferme près 98-99% de triglycérides. Les mono glycérides et di glycérides représentent respectivement 0,1 à 0,2% et 2 à 3% (**Alim et Zouambia, 2007**) les acides gras sont distribués dans les triglycérides de l'huile d'olive en position 1 et 3 au hasard. Les triglycérides prédominants sont palmitoyloleïne (POO) (18,4%), Stéaryloleïne (SOO) (5,1%), palmitoyloleïne linoléoyloleïne (POL) (5,9%), trioléïne (OOO) (43,5%), Linoléoyloleïne (LOO) (6,8%) (**Fedeli, 1977**).

b) Acides gras

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 (70 à 80%), le deuxième est l'acide linoléique (4 à 15%) est doublement insaturé (**Publio et Mirella, 1987**).

Les limites de la composition en acides gras fixées par le conseil oléicole international (2010) sont représentées dans le tableau 04 :

Tableau N°4 : Composition en acide gras de l'huile d'olive

Acide gras	Nombre de carbone : Nombre de doubles liaisons	% D'acide gras
Ac. Myristique	C14: 0	<0.1
Ac. Palmitique	C16: 0	7.5-20
Ac. Palmitoléique	C16: 1	0.3-3.5
Ac. Heptadécanoïque	C17: 0	≤0.3
Ac Heptadécénoïque	C17 :1	≤0.3
Ac. Stéarique	C18: 0	0.5-5
Ac. Oléique	C18: 1	55-83
Ac. Linoléique	C18: 2	3.5-21
Ac. Linoléinique	C18: 3	<1.5
Ac. Arachidique	C20: 0	<0.8
Ac. Gadoléique	C20: 1	traces
Ac. Béhénique	C22: 0	≤0.2
Ac. Lignocérique	C24: 0	≤0.2

(COI, 2010)

8.2. Fraction insaponifiable

a) Tocophérols

Dans l'huile d'olive il y a des tocophérols α , β , δ , γ ; dont le plus grand pourcentage est représenté par le α -tocophérol (88,5%), β - γ -tocophérol (9,9%), et δ -tocophérol (1,6%) (**Fedel, 1977**). Tous les tocophérols représentent l'action de la vitamine E qui s'accroît de δ -tocophérol jusqu'à α -tocophérol. Les tocophérols, hors leur action biologique (vitamine E) présentent des actions anti oxydantes qui protègent l'huile de la rancidité causée par l'oxygène (**Psyllakis et al., 1980**).

b) phénols

La présence de différents phénols dans l'huile est importante et leur rôle est de protéger la qualité de l'huile, car elles constituent des substances naturelles anti-oxydantes. Les

teneurs en phénol des huiles d'olives sont cent mille fois plus faibles que celles des margines (**Perrin, 1992**).

c) Substances aromatiques

Les substances aromatiques qui existent dans l'olive sont liées à l'odeur et au goût particulier de l'huile (**Psyllakis et al., 1980**).

d) Stérols

Les stérols sont des alcools supérieurs monovalents ; les principaux stérols dans l'huile sont : le Beta-sitostérol «I», le stigmastérol « II» et le campe stérol (**Alim et Zouambia, 2007**).

e) Hydrocarbures

Il existe dans l'huile d'olive des hydrocarbures tri terpénique poly-insaturés dont le squalene ($C_{30}H_{50}$) précurseur de la biosynthèse des stérols est le principal composé de la fraction hydrocarbure (1,5 mg /kg) ; les autres hydrocarbures aromatiques polycycliques sont : Phénanthréne, pyrène, flaurantréne, 1,2 Benzentracène, criséne et periténe dans l'huile d'olive .leur concentration en mg/kg sont respectivement :0.2, 0.27, 0.14 ,0.7 ,0.05 et 0.12 (**Fedeli, 1977**).

f) substance colorée

On rencontre principalement les chlorophylles «a» et «b», les carotènes, les caroténoïdes, les anthocyanes et d'autres .L'action des chlorophylles est caractérisée, sauf leur influence sur la couleur, par le fait qu'elles accélèrent les réactions avec l'oxygène comme catalyseur quand elles sont exposées à la lumière .la teneur en chlorophylle dans l'huile est liée au degré de maturité du fruit et au contenu en feuilles pendant leur élaboration (**Perrin, 1992**).

9. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile d'olive

L'huile d'olive a un impact sur le plan nutritionnel par la présence dans sa composition d'un acide gras mono-insaturé : l'acide oléique et de composants mineurs qui sont à des teneurs plus élevées dans une huile vierge.

L'utilisation de l'huile d'olive en médecine date depuis les époques les plus anciennes.

La forte teneur de l'huile d'olive en acide oléique constitue un réel atout d'un point de vue intérêt nutritionnel.

Les auteurs (**Keys et al., 1986 ; Jacotot , 1999 et Kratz et al., 2002**) ont montré qu'un régime riche en acides gras mono-insaturés, réduisait le cholestérol total et le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL) sans affecter le cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL). Par rapport à un régime riche en acides gras polyinsaturés, le régime riche en acides gras mono-insaturés augmente le cholestérol des lipoprotéines de haute densité , le régime riche en acides gras mono-insaturé réduit le cholestérol total et les triglycérides.

Les acides gras mono-insaturés ont une influence sur le métabolisme des lipoprotéines de haute densité qui ont un effet protecteur contre l'athérosclérose. En effet, ces lipoprotéines sont impliquées dans la captation du cholestérol cellulaire.

Les propriétés digestives de l'huile d'olive ont conduit à son utilisation dans le traitement des troubles gastriques, biliaires, et de la constipation. La motricité gastrique est stimulée par les acides gras mono-insaturés comparativement à des acides gras saturés.

En fait, les principaux effets digestifs de l'huile d'olive portent sur le fonctionnement biliaire : stimulation de la sécrétion hépatique de la bile par le foie (cholérétique) et des propriétés cholagogue (stimule la vésicule biliaire à se contracter et à déverser dans le duodénum la bile indispensable à la digestion des lipides. (**Jacotot, 1999**).

Les auteurs cités ci-dessus ont montré que l'absorption de l'huile d'olive abaisse considérablement l'acidité gastrique, c'est également un laxatif doux, et présente donc des effets bénéfiques sur les gastrites hyper chlorhydrique et les ulcères gastroduodénaux.

Des études épidémiologiques **Motard-Bélangier et al., 2008** ont montré que l'alimentation méditerranéenne traditionnelle, dans laquelle l'huile d'olive a une place importante, jouait un rôle majeur dans la prévention des facteurs de risques des maladies cardiovasculaires, telles que dyslipidémies, hypertension et diabète.

L'huile d'olive améliore de manière significative l'utilisation du glucose par les cellules et réduit les niveaux de triglycérides dans le sang

Différentes études épidémiologiques ont également permis de démontrer que l'huile d'olive a un effet protecteur contre certains types de tumeurs malignes (sein, prostate, endomètre, tractus digestif, etc.) (**Benrachou, 2012**).

Par ailleurs, l'huile d'olive joue un rôle important dans l'augmentation de l'espérance de vie à cause de sa richesse en vitamine E qui joue un rôle biologique positif pour déplacer les radicaux libres, molécules impliquées dans certaines maladies chroniques et dans le processus de vieillissement La consommation d'huile d'olive protège les individus contre la détérioration des fonctions cognitives provoquée par le vieillissement et contre la perte de mémoire liée à l'âge (**Benrachou , 2012**).

L'huile d'olive est aussi très conseillée pour la friture à cause de sa composition en acides gras mono insaturés qui la rendent plus résistante à la chaleur. C'est pourquoi elle peut être réutilisée pour la friture sans subir d'hydrogénation ou d'isomérisation, processus qui annulent les effets positifs sur le métabolisme des lipides. C'est l'huile la plus légère et la plus savoureuse pour la friture des aliments (**Terdazi et al., 2010**).

Certains chercheurs ont montrés que l'huile d'olive a aussi des bienfaits sur la tension artérielle et indiquent que l'emploi de l'huile d'olive permet de réduire les doses quotidiennes d'antihypertenseurs, probablement en raison des niveaux supérieurs d'oxyde nitrique favorisés par les polyphénols de l'huile d'olive (**Olle et Furon, 1988**).

1. Etude sur les olives

1.1. Détermination du poids, la largeur et la longueur moyenne des échantillons d'olives

La caractérisation pomologique des olives revêt une grande importance pour l'identification des différentes variétés et leur classification selon l'usage en agroalimentaire (Variété d'olive pour l'extraction d'huile, variété d'olive de table ou variété à double fin).

Les résultats de la caractérisation des deux variétés d'olive étudiées sont mentionnés dans le tableau 05.

Tableau 05: Caractérisation des olives des variétés Chemlal et Azeradj d'origine de Blida

Variété D'olive	Couleur et Forme	Poids moyen (g)	Longueur (cm)	Largeur (cm)
Variété Azeradj (A)	Noire, allongée	3,92±0,07	2,28±0,26	1,72±0.16
Variété Chemlal (C)	Noire, allongée	1,81±0,11	1,70±0,15	1,25±0.09

Les deux variétés ou cultivars d'olives Chemlal (C) et Azeradj (A) sont noirs à maturité. L'olive de la variété Azeradj (A) est caractérisée par un poids moyen de 3,92±0,07g supérieur à celui de la variété Chemlal (C) (1,81±0,11g) (Tableau 5).

L'Azeradj avec une longueur moyenne de 2,28±0,26 cm et une largeur moyenne de 1,72±0.16 cm possèdent des olives plus grandes que celle de la variété Chemlal qui est caractérisée quant à elle par des fruits de petites dimensions.

1.2. Taux d'humidité

1.2. Taux d'humidité (Teneur en eau) et la matière sèche

Les taux d'humidité (H%) et de matière sèche (MS%) des olives des deux variétés étudiées sont calculés et rapportés dans le tableau 06 (Annexe 06) et les histogrammes ci-dessous (Figure 15).

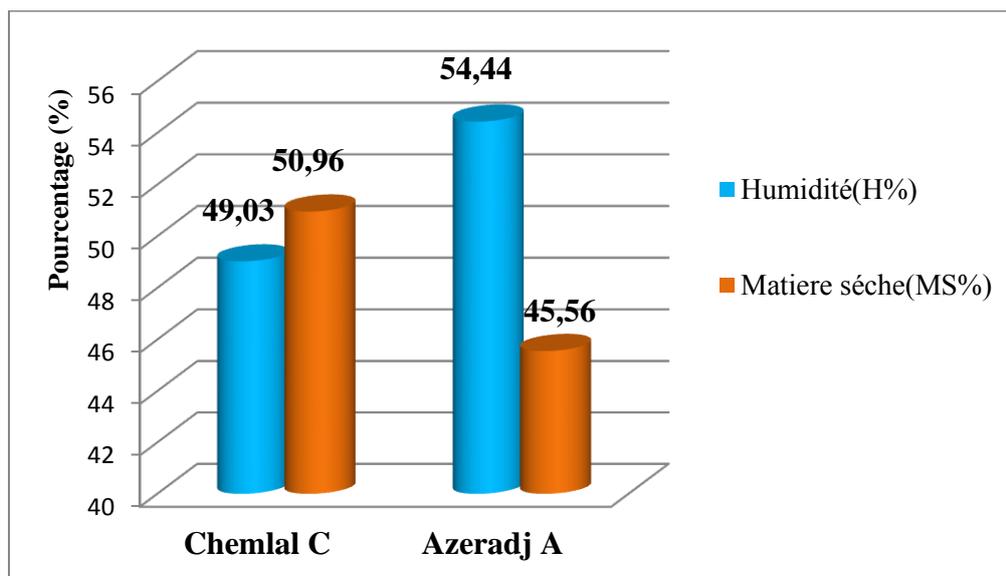


Figure 15: Taux d'humidité et de matière sèche des variétés d'olive Chemlal et Azeradj.

Au regard des résultats obtenus, il ressort que les olives de la Chemlal sont constituées de presque la moitié de leur poids en eau (49,03%). L'autre moitié est constituée de matière sèche (50,96%). Les olives d'Azeradj sont caractérisées par un taux d'humidité supérieur soit 54,44% et par conséquent d'un pourcentage de matière sèche moins important avec 45,56% (Figure 15).

1.3. Teneurs des olives en polyphénols

L'extraction des polyphénols à partir du broyat de la pulpe séchée d'olives des deux variétés (Chemlal et Azeradj) a permis d'obtenir des extraits de couleur marron foncé, qui sont conservés au frais dans des flacons ombrés jusqu'à leur utilisation (Figure 16).

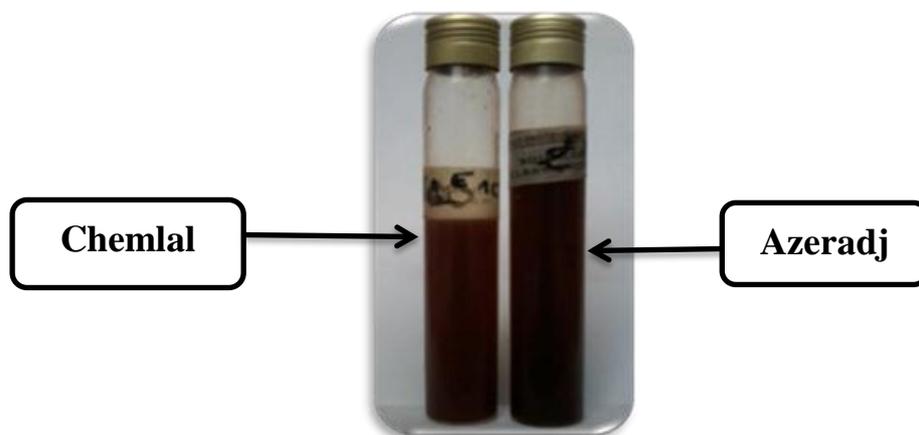


Figure 16 : Extrait des polyphénols de la pulpe d'olive (Chemlal et Azeradj).

Le dosage des polyphénols dans les extraits des deux variétés (Chemlal et Azeradj) est réalisé par la méthode du Folin-Ciocalteu à l'aide d'une gamme d'étalonnage établie avec différentes concentrations d'acide gallique (Figure 17). La quantité de polyphénols totaux (ppt) est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG)/g de matière sèche totale (MST).

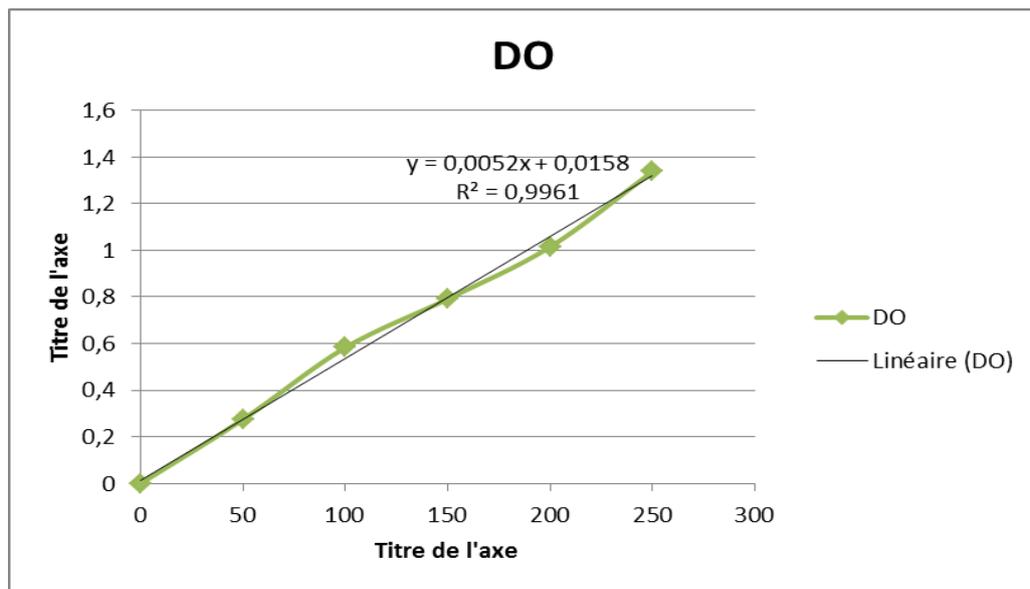


Figure 17: Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique

Les résultats de la composition en polyphénols totaux notés dans le Tableau 07 (Annexe 06) et présenté par la figure 18.

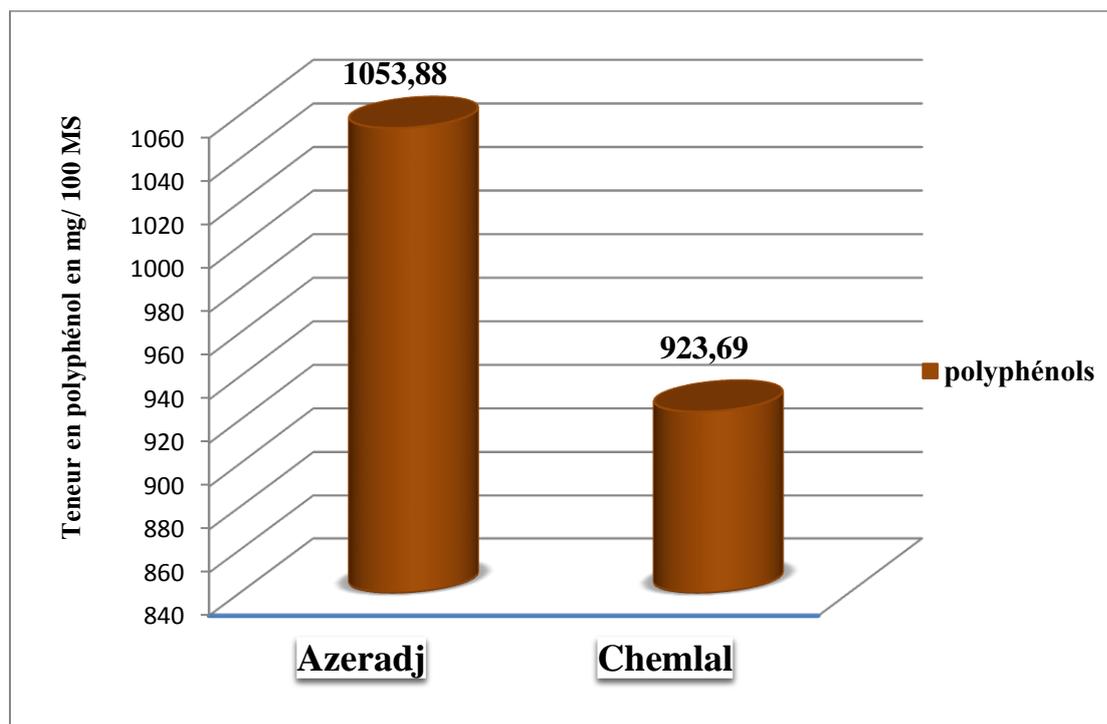


Figure 18 : Teneurs en polyphénols des extraits d'olive des deux variétés Azeradj et Chemlal.

A la lumière des résultats des teneurs en polyphénols rapportés dans la figure 18, il ressort que les deux cultivars algériens d'olives sont riches en polyphénols. En effet, les deux variétés possèdent des teneurs en polyphénols de l'ordre de 1053,88 mg et 923,69 mg pour 100g de matière sèches respectivement pour Azeradj et Chemlal.

2. Les analyses sur les huiles

2.1. Teneur en polyphénols dans les différents échantillons d'huile

Les résultats de la composition en polyphénols totaux des six échantillons d'huile sont présentés dans le Tableau 08 (Annexe 06) et la figure 19.

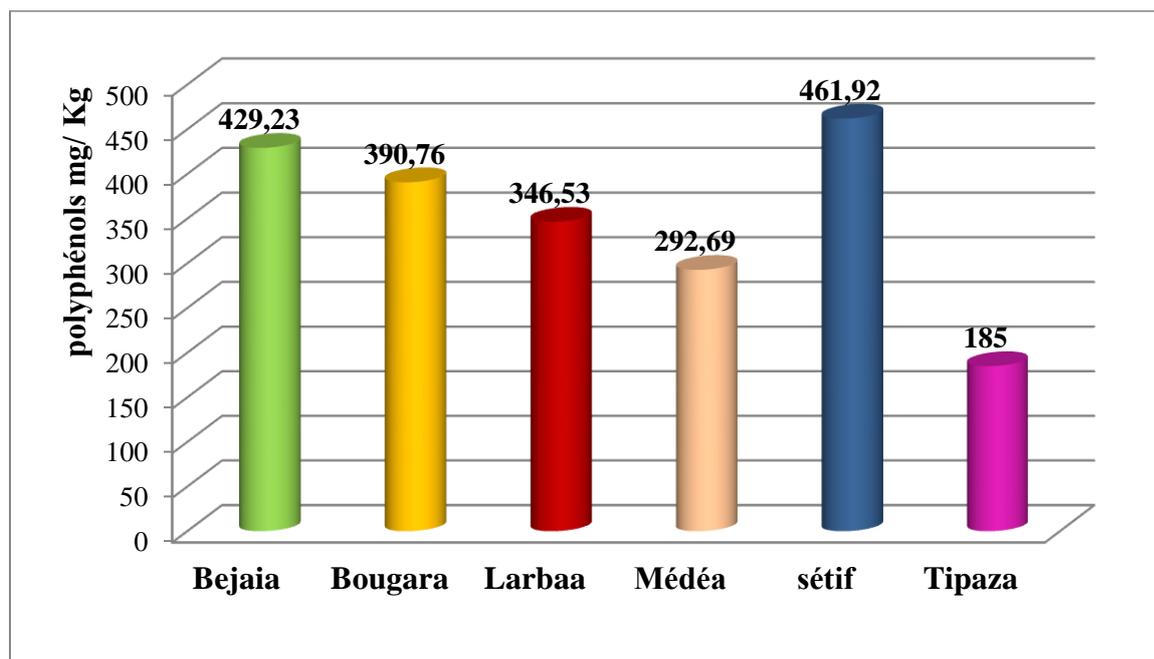


Figure 19 : Résultats des teneurs en polyphénols chez les six échantillons d'huile étudiés.

L'huile d'olives issue des six variétés provenant des différentes régions du pays contient des quantités appréciables en composés phénoliques. Ces résultats révèlent que l'huile d'olive de Sétif renferme une quantité plus élevée en polyphénols totaux soient 461,92 mg/kg exprimés en acide gallique. Elle est suivie par l'huile de Bejaia avec 429,23 mg/kg. Cependant la plus faible concentration est observée dans l'échantillon de Tipaza avec 185mg/kg.

2.2. Analyses organoleptiques

Les attributs positifs et négatifs mis en évidence par la dégustation ainsi que ceux relatifs à l'aspect et à la couleur des huiles sont présentés dans ce paragraphe.

2.2.1. Dégustation

Les attributs positifs et négatifs de nos huiles d'olive analysées sont mentionnés dans le tableau 09.

Tableau 09 : Résultats de la dégustation des huiles d'olives étudiées

Echantillons	Attributs négatifs				Attributs positifs		
	Chômé	Moisi	Vineux	Rance	Fruité	Amer	Piquant
Bejaia	-	-	-	-	8/10	4/10	5/10
Bougara	-	-	-	-	5/10	5/10	3/10
Larbaa	2/10	-	-	-	5/10	-	2/10
Médéa	-	-	-	-	2/10	3/10	-
Sétif	-	-	-	-	7/10	5/10	4/10
Tipaza	-	-	3/10	5/10	-	7/10	-

(-) : absence des attributs étudiés

D'après les résultats obtenus, on constate que les attributs négatifs sont quasiment absents, sauf pour l'échantillon de Larbaa qui présente un attribut chômé avec une intensité de 2/10 et celui de Tipaza avec un attribut vineux d'une intensité de 3/10 et un attribut rance d'une intensité de 5/10. Le reste des échantillons présentent des attributs positifs suivants : Fruité, Amer et Piquant à des intensités variant entre 2 et 8.

2.2.2. Aspect et couleur

Les résultats des observations visuelles de nos huiles sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10: Résultats portant sur l'aspect et la couleur des différentes huiles étudiées

Echantillons	Aspect	Couleur	Norme (COI, 2010)
Bejaia	Limpide	Jaune clair	Limpide Jaune-verte
Bougara	Limpide	Jaune verdâtre	
Larbaa	Limpide	Jaune verdâtre	
Médéa	Limpide	jaune	
Sétif	Limpide	Jaune clair	
Tipaza	Limpide	Jaune verdâtre	

Les résultats mis en évidence dans le tableau 10 montrent que l'ensemble de nos huiles présentent un aspect limpide et une couleur qui varie du jaune clair au jaune verdâtre qui

sont inclus dans la fourchette de la norme préconisée par le COI, 2010 pour les huiles d'olive vierges propres à la consommation en l'état.

Les résultats des analyses organoleptiques permettent de donner une première appréciation sur la qualité des huiles mais celles-ci doivent être complétées par les analyses physico-chimiques.

2.3. Analyses physico-chimiques de l'huile

Les résultats concernant les analyses chimiques à savoir l'acidité, l'indice d'acide, l'indice de peroxyde et l'indice d'iode et ceux relatifs aux analyses physiques qui consistent à la mise en évidence de l'indice de réfraction ainsi que l'absorbance spécifique en rayonnement ultraviolet sont présentés dans ce qui suit.

2.3.1. Acidité

La détermination de l'acidité en suivant la méthode CEE2568-1991 équivalente à la méthode ISO 660-1996, nous a permis d'obtenir les résultats notés sur le tableau 11 (Annexe 06) et présentés par la figure 20.

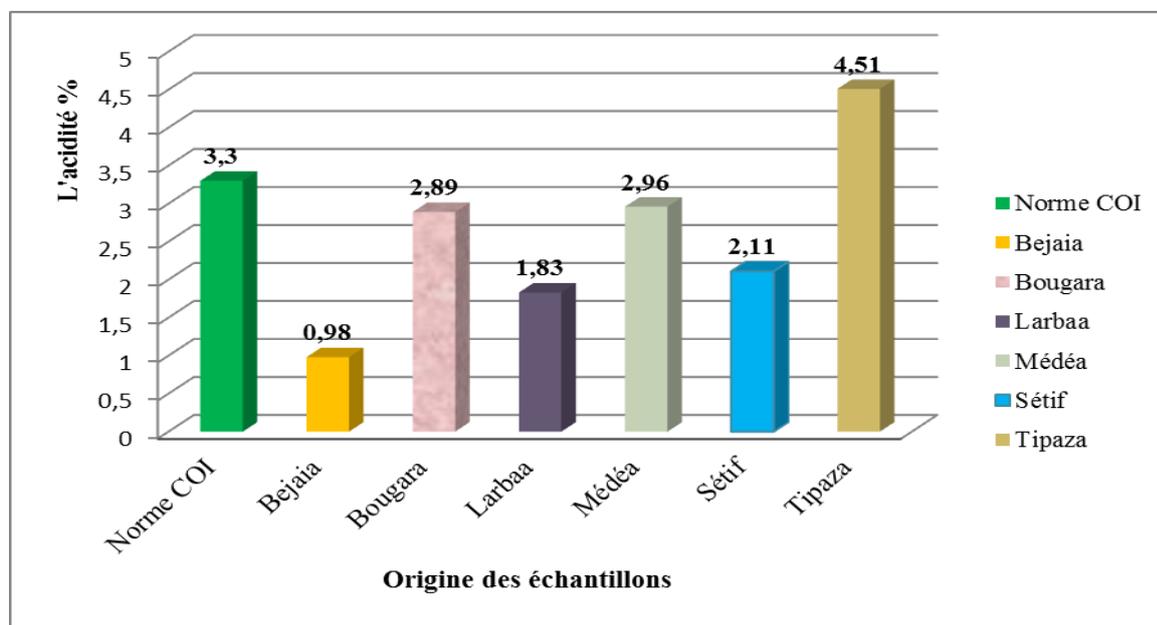


Figure 20 : Résultats de l'acidité des différents échantillons d'huile analysés

Le taux d'acidité, exprimé en pourcentage d'acide oléique, de nos échantillons, révèle que c'est l'huile de Tipaza, avec une valeur de 4,51% qui possède le pourcentage le plus élevé. En effet, elle dépasse les normes préconisées par le COI (conseil oléicole international) qui ne doivent pas dépasser les 3,3 % pour les huiles d'olives propres à la consommation en état.

Pour le reste des échantillons, l'acidité reste inférieure à 3,3%. Elle varie entre 0,98 et 2,96%. Ces valeurs sont donc conformes à la norme.

2.3.2. Indice d'acide

L'indice d'acide nous permet de déterminer les taux d'acide oléique résulte de l'hydrolyse des triglycérides. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 12 (Annexe 06) et la figure 21.

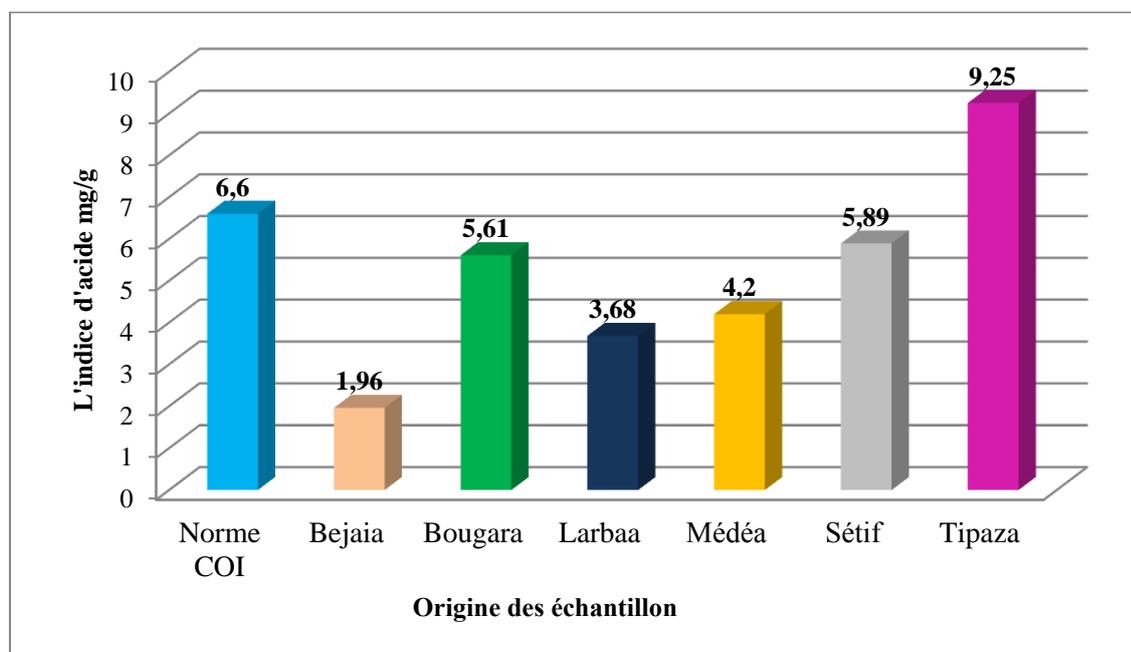


Figure 21 : Présentation graphique des résultats d'indice d'acide.

D'après les résultats obtenus, il est à remarquer que c'est l'huile de Tipaza, avec une valeur de 9,25 mg/g qui possède la valeur de l'indice d'acide la plus élevée. En effet, elle dépasse les normes préconisées par le conseil oléicole international qui ne doivent pas dépasser les 6,6 mg/g pour les huiles d'olives propres à la consommation en état.

Pour le reste des échantillons, l'indice d'acide reste inférieur à 6,6mg/g. Ses valeurs varient entre 1,96mg/g et 5,89 mg/g. Ces valeurs sont donc conformes à la norme.

2.3.3. Indice de peroxyde :

L'indice de peroxyde est très important, il nous informe sur l'état d'oxydation de l'huile d'olive. Les résultats d'analyse de ce paramètre sont présentés le tableau 13(Annexe 06) et la figure 22.

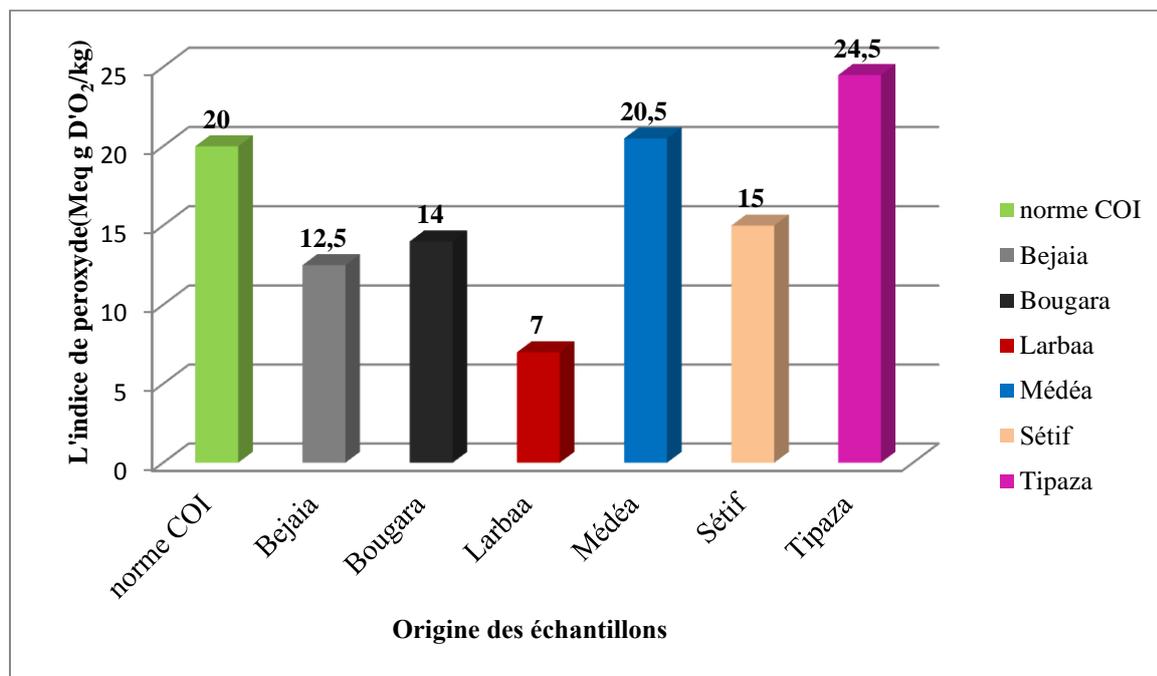


Figure 22 : Présentation graphique des résultats d'indice de peroxyde.

D'après ces résultats, les valeurs de l'indice de peroxyde de nos huiles varient entre 7 à 24 ,5 (meq g d'oxygène/Kg). Ces valeurs concernant les huiles de ; Bejaïa, Bougara, Larbaa et Sétif sont conformes à la norme qui est 20 milles équivalents grammes d'oxygène par kilogramme selon le COI, (2010) pour les huiles vierges propres à la consommation.

Par contre l'huile de Tipaza et celle de Médéa ont un indice de peroxyde légèrement élevé par rapport à la norme établie par le COI.

2.3.4. Indice d'iode

L'indice d'iode nous permet de déterminer le degré d'insaturation des acides gras contenus dans l'huile. Les résultats d'analyse de ce paramètre sont présentés le tableau 14 (Annexe 06) et la figure 23.

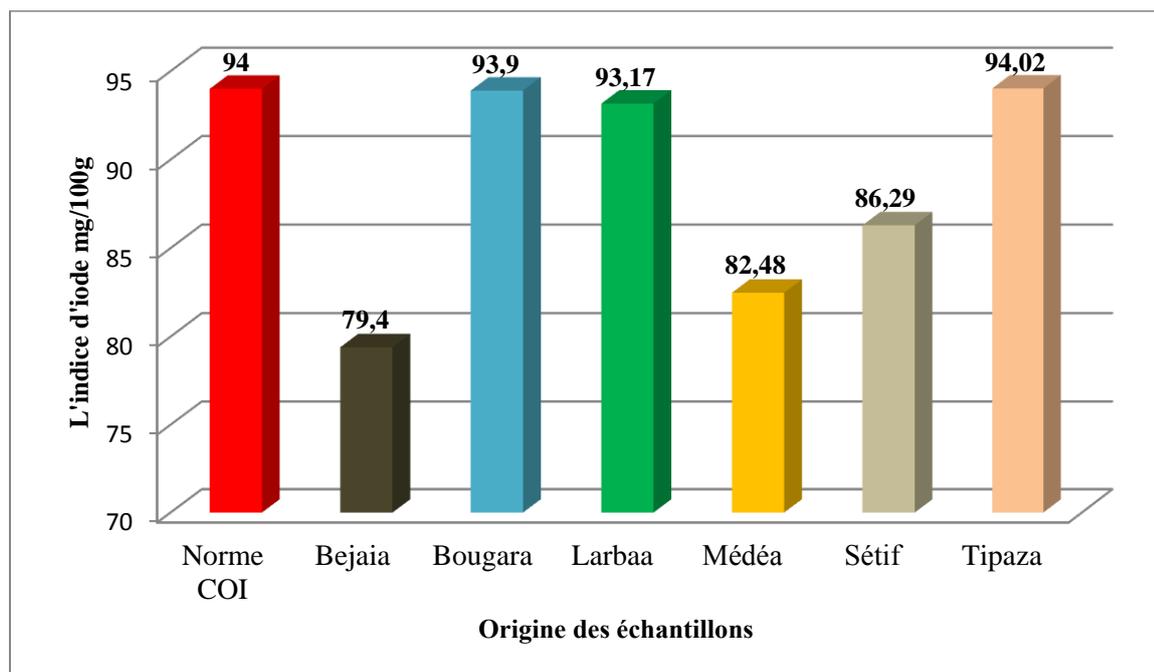


Figure 23: Présentation graphique des résultats d'indice d'iode.

A partir des résultats obtenus et représentés par la figure 23, il ressort que les valeurs de l'indice d'iode de nos huiles varient entre 79,40 et 94,02 mg pour 100 g d'huile. Elles sont donc conformes aux normes du COI pour les huiles vierge propres à la consommation.

2.3.5. L'indice de réfraction

Les résultats de l'indice de réfraction obtenu selon la méthode ISO 6320-1996 sont notés dans le tableau 15 (Annexe 06) et représentés par la figure 24

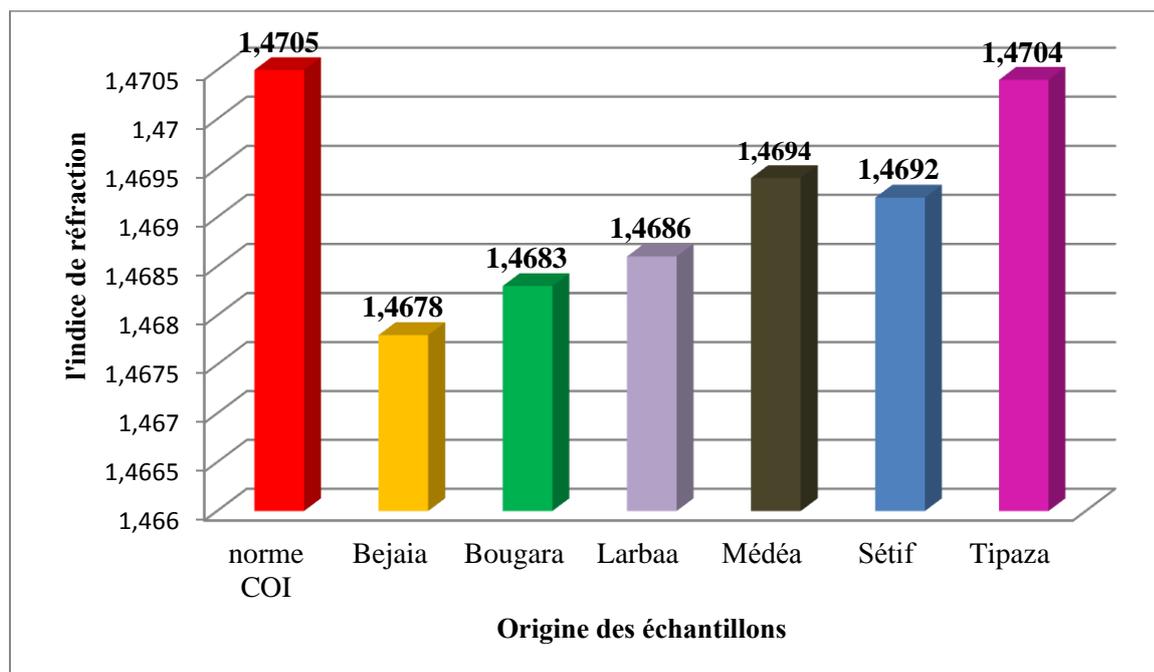


Figure 24 : Présentation graphique des résultats d'indice de réfraction.

Il ressort à partir de la figure 24, que les valeurs de l'indice de réfraction des huiles étudiées varient de 1 ,4678 à 1,4704. Ceci indique qu'elles sont conformes aux normes établies par le COI qui sont de 1,4677 à 1 ,4705.

2.3.6. Absorbance spécifique au rayonnement ultraviolet

L'absorbance à deux longueurs d'ondes différentes, soit 232 nm et 270 nm est étudiée.

A- Absorbance à une Longueur d'onde 232 nm

Les résultats obtenus pour l'absorbance à 232 nm nous renseignent sur l'état d'oxydation primaire. Ils sont illustrés dans le tableau 16 (Annexe 06) et par la figure 25

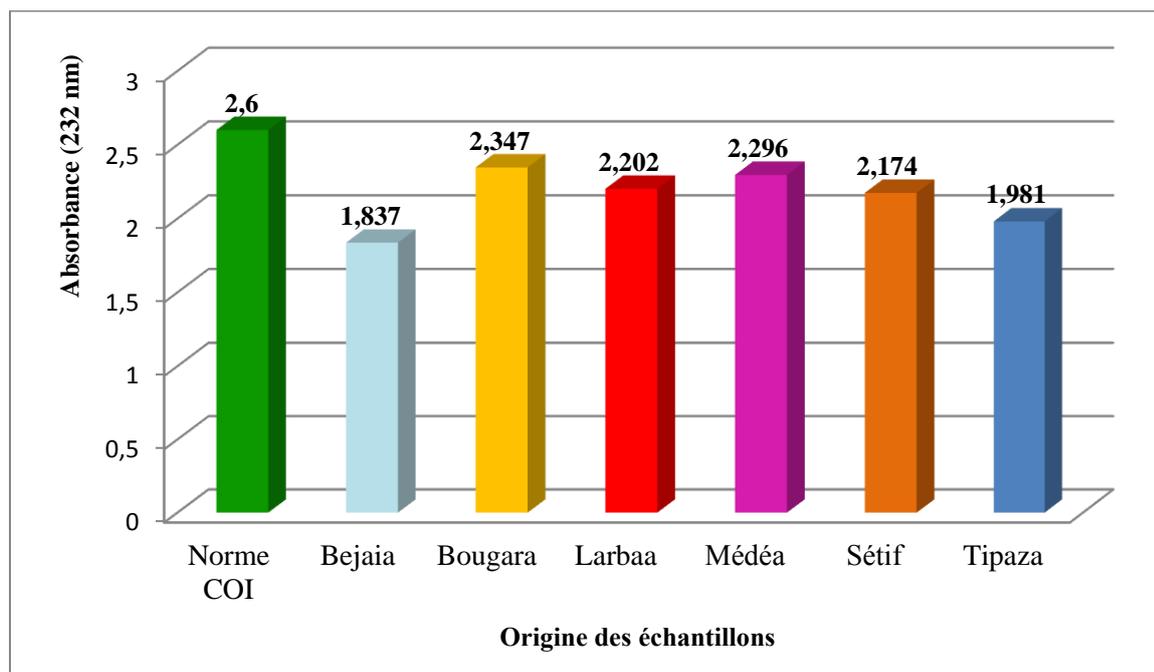


Figure 25 : Présentation graphique des résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 232 nm.

Nous constatons que l'ensemble des huiles étudiées sont conformes à la norme du COI(2010) qui est $\leq 2,6$.

B- Absorbance à la longueur d'onde 270 nm

La détermination de l'absorbance à 270 nm qui informe sur l'état d'oxydation secondaire, nous a fourni les résultats présentés dans le tableau 17 (Annexe 06) et la figure 26.

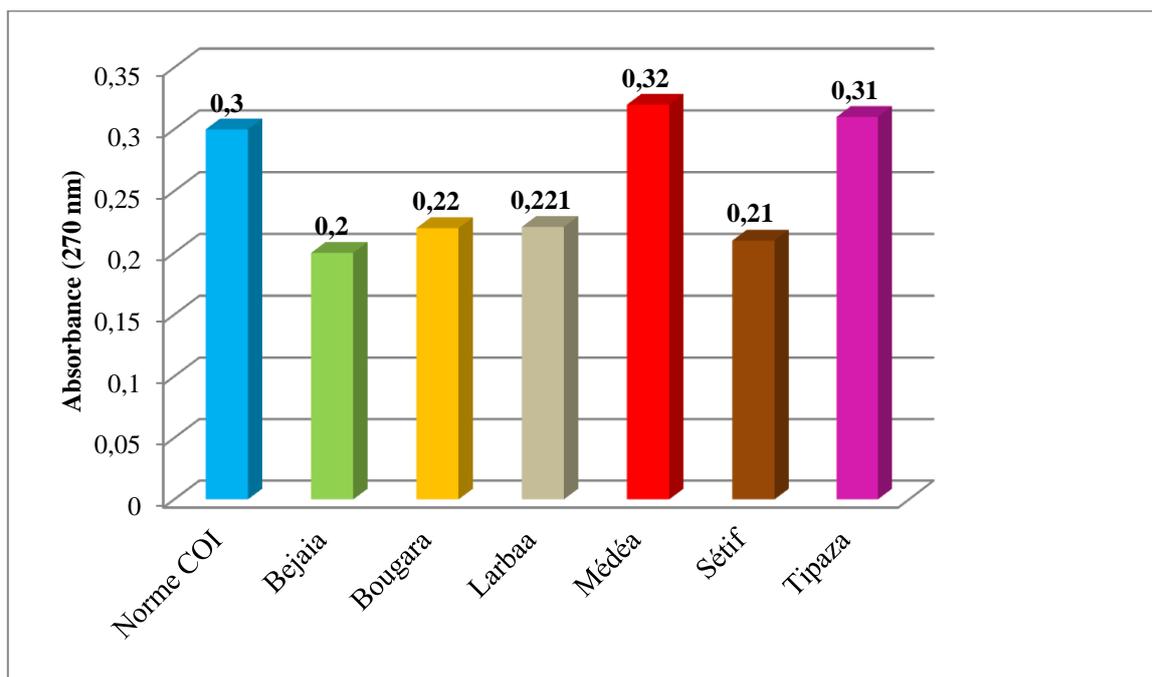


Figure 26: Présentation graphique des résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 270 nm.

Pour la longueur d'onde de 270 nm, dont les résultats sont mentionnés dans la figure 26, on constate que les huiles de Bejaia, Bougara, Larbaa et Sétif sont conformes à la norme du COI(2010) qui est $\leq 0,30$. Toutefois l'huile de Médéa et celle de Tipaza ont des valeurs légèrement supérieure à la norme.

3. Classification des huiles d'olive vierge étudiées

A la lumière des tous les résultats obtenus concernant les différents critères étudiés et selon les normes de classification des huiles d'olive vierges établies par le Conseil Oléicole International, la classification des huiles d'olive étudiées est résumée dans le tableau 18.

Ces résultats montrent que l'huile issue de la région de Bejaia est une huile vierge extra, celles issues de Bougara, de Larbaa, de Média et de Sétif sont des huiles vierges courantes mais celle de Tipaza est une huile vierge lampante.

Tableau 18 : Classification des huiles d'olive vierges étudiées

Echantillons		Bejaia	Bougara	Larbaa	Médéa	Sétif	Tipaza
Critères							
Acidité libre (%)		0,98	2,89	1,83	2,96	2,11	4,51
Indice de peroxyde (Meq g O2/g)		12.5	14	7	20.5	15	24.5
Absorbance dans l'UV à 232 nm		1,837	2,347	2,202	2,296	2,174	1,981
Absorbance dans l'UV à 270 nm		0,200	0,220	0,221	0,320	0,210	0,310
Analyses organoleptiques	Dégustation	Fruité Amer Piquant	Fruité Amer Piquant	Vineux Fruité Piquant	Fruité Amer	Fruité Amer Piquant	Vineux Rance Amer
	Aspect	Limpide	Limpide	Limpide	Limpide	Limpide	Limpide
	Couleur	Jaune clair	Jaune verdâtre	Jaune verdâtre	jaune	Jaune clair	Jaune verdâtre
Type de l'huile d'olive		Huile d'olive Vierge extra	Huile d'olive Vierge courante	Huile d'olive vierge lampante			

1- Discussion des résultats portant sur l'étude réalisée sur les olives

Dans cette partie, il est question de discuter les caractéristiques pomologiques des deux variétés d'olives les plus cultivées dans notre pays à savoir la Chemlal et l'Azeradj ainsi que la teneur de leurs fruits en polyphénols.

1.1. Caractérisation pomologique des olives

La caractérisation pomologique des olives est d'une grande importance pour l'identification des différentes variétés et leur classification selon l'usage en agroalimentaire (Variété d'olive pour l'extraction d'huile, variété d'olive de table ou variété à double fin).

La différence en poids, en longueur et en largeur paraît importante entre la variété Chemlal et la variété Azeradj. D'après **Loussert et Brousse (1978)**, les fruits de la Chemlal sont relativement petits pesant en moyenne 2,5g environ. Et ceux de l'Azeradj sont plus gros avec un poids avoisinant les 3,5g. Ce qui confère à cette dernière variété son utilisation aussi bien pour l'extraction de l'huile que pour la consommation comme olives de table. D'après la classification de **Del Rio et Caballero (1998)**, les variétés Chemlal et Azeradj appartiennent à la catégorie des variétés d'olive dont le fruit est de poids moyen entre 2 et 4 g. Ces deux variétés sont caractérisées par un poids moyens de fruit d'olives élevé par rapport aux deux principales variétés de l'oléiculture tunisienne, Chetoui et Chemlali Sfax qui ont des poids moyens de fruit de l'ordre de 1.7g et de 1g respectivement (**Lazzez et al.,2008**).

1.2. Taux d'humidité

En comparant les résultats relatifs aux taux d'humidité des fruits d'olives à ceux obtenus en Grèce par **Boskou et al.,(2006)**, il ressort que nos fruits sont plus riches en eau puisque ces auteurs notent une teneur en eau de l'ordre de 48 %. Un taux d'humidité élevé constitue un problème majeur lors de l'extraction d'huile d'olives. Les eaux résiduelles de végétation des olives appelées margines sont considérées comme polluants pour l'environnement et leur évacuation est coûteuse. Toutefois, ces margines sont aussi une source d'agents antioxydants très recherchés pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé. Ce qui nous interpelle pour la valorisation de ces eaux riches en polyphénols mais aussi des grignons d'olives qui peuvent être utilisés comme produits organiques fertilisants, combustibles et dans l'alimentation des animaux (**Nefzaoui, 1991**).

1.3. Teneur en polyphénols des drupes

Le dosage des polyphénols réalisé par la méthode du Folin-Ciocalteu (**Li et al., 2007**) à l'aide d'une gamme d'étalonnage établie avec différentes concentrations d'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche (mg EAG/100g MS). A la lumière des résultats obtenus, il est à remarquer que les deux cultivars algériens d'olive sont riches en polyphénols avec des teneurs respectives de 1053,88 mg pour Azeradj et 923,69 mg pour 100g de matière sèche pour Chemlal.

Plusieurs études se sont intéressées à la quantification des polyphénols dans les extraits d'olives. Il est à citer les travaux de **Benlarbi (2004)** dans le nord-ouest Algérien sur les olives de la variété Sigoise. Ces auteurs signalent des teneurs variant entre 431,6 et 2288 mg/100g de matière sèche.

Une étude similaire réalisée par (**Bisset, 2011**) a montré que les variétés d'olive de l'Est Algérien (Batna) possèdent un contenu en polyphénols de 1919,29; 2664,88 et 2931,86 mg/100g, des variétés Chemlali, Farhi, et Beskri respectivement.

Par ailleurs, les variétés d'olive de Grèce sont caractérisées par des teneurs en polyphénols se situant dans un intervalle de 82-171mg /100g de pulpe d'olive (**Boskou et al., 2006**). Les variétés portugaises ont quant à elles une teneur de 165,76 mg/Kg de poids frais d'olive (**Malheiro et al., 2011**). Au regard de ces données les extraits d'olive des variétés Azeradj et Chemlal peuvent être considérées comme riches en polyphénols.

Le profil polyphénolique des olives peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété, le climat, le degré de maturation (l'olive verte possède plus de polyphénols que l'olive noire) (**Benlarbi, 2004**). Il dépend aussi de la température et du solvant d'extraction. Selon **Sousa et al., (2008)**, la température élevée et le solvant constitué de 80% méthanol : eau permet d'obtenir un grand rendement en polyphénols. Le phénomène de la fermentation surtout lors des préparations des olives table est aussi considéré comme un facteur inducteur d'une réduction du contenu phénolique de 32 à 58%. Ceci est expliqué par leur diffusion dans la saumure entraînant une diminution des quantités de l'oleuropéine et de l'acide procatéchique avec une augmentation en hydroxytyrosol et en acide caféique (**Ben Othman et al., 2009**).

2. Discussion portant sur la qualité des huiles étudiées

2.1. Teneur en polyphénols

Le contenu en polyphénols dans l'huile d'olive est parmi les caractères pomologiques les plus importants, car cette caractérisation permet de faire une identification et /ou une distinction entre les différents variétés. Il est à noter l'importance de ses composés qui sont des métabolites secondaires de la plante dans la stabilité et la protection des huiles contre l'auto-oxydation. Ils jouent ainsi un rôle important dans la qualité nutritionnelle d'huile d'olive (**Ollivier et al., 2004**). Bien que ces substances ne soient pas encore des paramètres officiels de qualité, la classification d'une huile d'olive comme étant huile vierge est fortement liée à leur présence. Une huile d'olive de bonne qualité doit contenir plus de 200 ppm en polyphénols (**Perrin, 1992**).

Les polyphénols passent dans l'huile lors de son extraction. Les orthodiphénols (comme l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine) présents dans l'huile d'olive sont considérés comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation, ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant (**Tanouti et al., 2011 ; Ollivier et al., 2004**).

Les variations des teneurs en polyphénols observés peuvent être due à la différence du degré de maturité des olives avant trituration, mais dépend également de la variété et de la zone géographique. (**Garcia et al., 2003**)

Selon **Ocakoglu Derya (2008)**, les huiles d'oliveraie située en altitude se montrent plus riches en phénols que celle des oliveraies des plaines.

2.2. Discussion portant sur les analyses organoleptiques de l'huile

L'intensité de la couleur est généralement un caractère variétal, mais qui peut être influencée par le procédé d'extraction. La couleur jaune est due au broyage d'olive à complète maturité et la couleur verte des huiles est due à la présence de feuilles en trop grande quantité lors de l'extraction (**Alim et Zouambia, 2007**).

La couleur des huiles testées dans notre cas varie de jaune claire au jaune verdâtre ; ces résultats sont incluses dans la fourchette de la norme Conseil oléicole international, limité entre le jaune clair et le vert.

L'aspect limpide des huiles est un signe de leur pureté et cela est le résultat d'un bon effeuillage, lavage et séparation des phases, d'où l'élimination des impuretés susceptibles d'interférer dans l'aspect de l'huile extraite (**Almabouda et Khoumeri 2005**).

L'ensemble de nos échantillons présente l'aspect limpide préconisé par la norme.

La perception de la flaveur revête un intérêt particulier pour l'évaluation de la qualité de l'huile d'olive vierge. Deux groupes de constituants sont responsables de la flaveurs caractéristique de l'huile d'olive vierge :

-les composés volatiles tels que les aldéhydes, les alcools, les esters et les hydrocarbures qui sont à l'origine des sensations olfactives.

-Les polyphénols qui sont responsables des sensations gustatives (**Aberkane ,1992**).

D'après **Flahault (1997)**, l'hydroxytyrosol est un composé phénolique qui se trouve dans les huiles de bonne qualité, contrairement aux acides phénoliques et au tyrosol qui se trouve dans les huiles de mauvaise qualité.

Les résultats de la dégustation de nos différents échantillons montrant qu'appart les échantillons qui présentent des attributs positifs (fruité, Amer et piquant), les échantillons de Larabaa et Tipaza présentent des attributs négatifs (notamment les attributs rance, Vineux et chôme) à des intensités différentes. Solen **Bouchekkif (1999)**, les composés responsables de l'odeur rance sont produits au cours de la deuxième phase d'oxydation.

2.3. Discussion portant sur les analyses physico-chimiques de l'huile

Les différentes qualités des huiles d'olive vierges : «Extra vierge», «vierge», «vierge courante »et «vierge lampante», sont définies en fonction des critères physicochimiques (Acidité libre, Indice de peroxyde, Absorbance dans L'U.V) et des critères organoleptiques (**My Mustapha et al., 2006**)

2.3.1. Acidité

L'acidité libre des huiles d'olive qui résulte de l'hydrolyse des triglycérides est exprimée par le pourcentage d'acide oléique. Dans le cas présent l'échantillon de Tipaza présente une valeur de 4,51 % d'acide oléique. Ce taux est élevé par rapport aux normes préconisées par le COI 2010, qui se situent entre 1 à 3 % pour les huiles consommés directement. Les 5 autres échantillons ont un taux d'acidité compris dans les normes.

Almabouda et Khoumeri (2005), dans une étude portant sur trois échantillons d'huile d'olive, ont trouvé des taux d'acidité élevés de l'ordre de 5,56 ; 6,33 et 7,52 %.

Aberkane (1992) qui a analysé 26 échantillons d'huiles d'olive Algériennes, a souligné que 10 échantillons présentent des acidités largement élevées, atteignant parfois même les 10,8 à 13%.

D'après **Grati-Kamoun, (2007)** l'acidité est liée à plusieurs paramètres : au système et à la date de la récolte, à l'état sanitaire des olives, au mode de conservation des drupes et aux techniques d'extraction de l'huile. Elle dépend aussi de la teneur de l'huile en humidité et en impuretés. Cette acidité est le résultat de l'hydrolyse des triglycérides sous l'action des enzymes contenus dans le fruit de l'olivier. (Il semblerait qu'il existe deux types de lipases localisées dans l'endosperme et le mésocarpe) (**Bouchekkif, 1999**).

Les mêmes enzymes peuvent être synthétisées par des bactéries, des levures et des moisissures qui se développent lorsque des drupes sont endommagées et sont en mauvaise état de stockage. Ce phénomène d'altération aboutit à la formation de glycérol et d'acide gras libre et dans une moindre mesure d'acide gras à chaînes courtes (**Aberkan, 1992**).

Il est parfaitement admis que l'altération des olives entre la cueillette et la trituration est la principale cause de diminution de la qualité des huiles. Ceci se traduit pratiquement par une acidification et un rancissement. Cependant, le gaulage reste le moyen le plus utilisé lors de la cueillette des olives, bien que ce procédé soit le moins indiqué, en raison des dommages causés aux fruits et aux jeunes pousses (**Loussert et Brousse, 1978**).

2.3.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde estime l'état d'autoxydation de l'huile ; c'est un mécanisme lent mais inéluctable. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de

certaines facteurs (température élevée, eau, enzyme, trace de métaux Cu, Fe....) (**Tanouti et al., 2011**). En particulier, deux types d'oxydation peuvent être distingués : l'auto-oxydation et la photo-oxydation. Dans les deux cas, un radical libre se forme à partir d'un acide gras insaturé qui réagit avec une autre molécule d'oxygène provoquant la formation d'un radical peroxydique, ceci réagit avec une autre molécule d'acide gras et forme par la suite un hydroperoxyde (auto-oxydation). Dans le cas de la photo - oxydation, les radiations lumineuses (U.V) excitent une molécule du pigment (par exemple le chlorophylle) qui initie le processus de l'oxydation en présence d'oxygène (**Osawa et al., 2007**).

L'ensemble des huiles d'olive étudiées présentent des valeurs d'indice de peroxyde acceptables et ce malgré les variations observées. Celles-ci se traduisent par une faible teneur de peroxyde dans nos échantillons. **Flahault (1997)**, ceci pourrait s'expliquer par la présence de substances antioxydants naturelles tels que les polyphénols qui assurent à l'huile sa stabilité au rancissement.

Toutefois deux échantillons (celui de Médéa et de Tipaza) présentent des teneurs élevées en indice de peroxyde, et peuvent être expliquées par une phot-oxydation, sensibilisées par les pigments chlorophylliens, et conduit à la formation des hydro peroxydes. Ceci se traduit par l'apparition de défauts organoleptiques et une peroxydase plus élevée. (**My Mustapha et al, 2006**).

Le phénomène d'oxydation des acides gras conduit à l'apparition d'une saveur caractéristique « rance ». Il aboutit aussi à des modifications dans les propriétés organoleptiques chimiques et nutritionnelles de l'huile. Ces altérations affectent de ce fait la qualité marchande du produit (**Judde, 2004**).

2.3.3. Indice d'iode

L'indice d'iode nous donne des indications sur l'état d'insaturation de nos huiles (**Douzane, 2002**). Tous nos huiles présentent des valeurs presque identiques et conformes à la norme établies par le C.O.I. et qui sont comprises entre 74 et 94 (mg/100g).

2.3.4. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est une relation avec la composition chimique des constituants de l'huile (**Bouchkkif, 1999**). C'est également un critère important de pureté de l'huile. Il

augmente avec la longueur de la chaîne et avec l'augmentation de l'insaturation (ollé , 2002). Les valeurs de l'indice de réfraction, paramètre qui détermine le degré d'insaturation des acides gras entrant dans la composition des matières grasses (Talbot, 1983).

Nous huiles d'olive étudiés présentent des valeurs d'indice de réfraction acceptables qui se situent dans les normes.

2.3.5. Absorbance

L'absorbance à 232 nm de nos échantillons est conforme aux normes.

L'extinction à 270 nm est un critère qui nous permet de juger la présence des composés d'oxydation secondaire. L'absorbance à 270 nm de nos échantillons est conforme à la norme, sauf pour les échantillons de Médéa (0,320) et Tipaza (0,310) qui présentant des valeurs supérieurs à la norme qui est de 0,3.

Ces valeurs élevées sont due à la richesse de ces huiles en composés secondaires d'oxydation engendrés par les hydro-péroxydes lors d'une oxydation avancée. (Alim et Zouambia, 2007).

Conclusion :

Cette étude est réalisée pour connaître certaines caractéristiques de deux variétés d'olives et des huiles de quelques régions d'Algérie.

La description pomologique des olives des deux variétés étudiées ; Chemlal et Azeradj de point de vue morphologique, pondéral, ainsi que le taux d'humidité, a montré des différences qui sont la conséquence du patrimoine génétique mais aussi en rapport avec le site géographique. Généralement, les deux variétés Azeradj et Chemlal ont des fruits relativement petits avec des poids moyens qui oscillent entre 1,8g et 3,9 g. Ce sont des variétés à l'huile même si l'Azeradj est aussi utilisée comme variété de table.

La caractérisation quantitative des extraits phénoliques d'olive a révélé la richesse des olives étudiées en polyphénols. Dans ce contexte, il est trouvé que les variétés Azeradj et Chemlal sont caractérisées par des teneurs importantes de l'ordre de 1053,88 et 923,69mg EAG /100g respectivement.

- ✦ Un autre paramètre a été étudié, c'est la composition en polyphénols totaux des différents échantillons d'huile. Les résultats montrent que les huiles Bejaia, Blida (Bougara et Larbaa), Médéa et Sétif ont une teneur en polyphénols totaux plus élevée que l'huile de Tipaza. Les polyphénols qui passent dans l'huile lors de son extraction sont considérés comme des antioxydants naturels qui la protègent contre l'oxydation. Ils lui confèrent une meilleure stabilité lors du stockage, une saveur amère et une sensation de piquant.
- ✦ Les critères organoleptiques s'avèrent nécessaires pour classer les huiles d'olive. Ceci constituerait probablement un moyen pour distinguer les huiles d'olive selon leur origine, le moyen et les conditions de leur extraction.

Les caractéristiques physico-chimiques jouent un rôle prépondérant en mettant en évidence la qualité de toute huile d'olives. Les résultats obtenus pour nos échantillons varient d'un critère à un autre et dépendent aussi de la provenance des huiles ; de Bejaia, de Bougara, de Larbaa, de Médéa, de Sétif et de Tipaza. Il est noté respectivement pour:

- ✦ L'acidité % : (0,98 ; 2,89 ; 1,83 ; 2,96 ; 2,11 ; 4,51) ; où toutes les huiles ont des valeurs conformes à la norme.
- ✦ L'indice de peroxyde (meq g d'O₂/kg) : (12.5, 14, 7, **20.5**, 15, **24.5**) ; les huiles Médéa et de Tipaza présentent des valeurs supérieures à la norme.

CONCLUSION

✿ L'absorbance dans l'UV :

*K232 nm :(1,837 ; 2,347 ; 2,202 ; 2,296 ; 2,174 ; 1,981) ; toutes les huiles ont des valeurs conformes à la norme.

*K270 nm :(0,200 ; 0,220 ; 0,221 ; **0,320** ; 0,210 ; **0,310**) ; l'huile de Bejaia, de Bougara, de Larbaa et de Sétif sont conformes à la norme. Alors que celles de Médéa et Tipaza dépassent les valeurs préconisées.

✿ L'indice d'iode (mg/100g) : (79,40 ; 93,90 ; 93,17 ; 82,48 ; 86,29 ; 94,02) ; toutes les huiles ont des valeurs conformes à la norme.

✿ L'indice de réfraction : 1,4678 ; 1,4683 ; 1,4686 ; 1,4694 ; 1,4692 ; 1,4704) ; toutes les huiles ont des valeurs conformes à la norme.

Suite à ces analyses on a pu classer nos huiles comme ci-dessous :

- ✓ L'huile Bejaia est une l'huile d'olive vierge extra.
- ✓ Les huiles Blida (Bougara et larbaa), Médéa et Sétif sont des huiles d'olive vierges courantes.
- ✓ L'huile Tipaza est une l'huile d'olive vierge lampante.

Il en ressort que l'échantillon de Bejaia est le seul qui répond à toutes les conditions nécessaires pour classer une huile dans la catégorie de bonne qualité. Elle serait la plus intéressante pour la santé humaine et pourrait concurrencer d'autres huiles sur le marché international. Pour les autres huiles, même si elles peuvent être consommées sans danger, leur commercialisation et surtout leur exploitation reste impossible.

En perspective, il est intéressant de compléter notre travail par :

- ❖ Une analyse des sols des sites d'origine des huiles.
- ❖ Une étude approfondie des conditions de stockage, de trituration des olives pour mettre la lumière sur les causes de la détérioration de la qualité des huiles Algériennes.
- ❖ Détermination du profil des acides gras par chromatographie en phase gazeuse , pour les huiles d'olive.
- ❖ effectuer d'autres analyses, telles que les dosages des composés mineurs de fraction insaponifiable.
- ❖ L'évaluation in vitro de l'effet antioxydant des extraits phénoliques d'olive.

CONCLUSION

- ❖ Réalisation des analyses fines telle que la détermination de la teneur en cires et érythrodiol, le dosage des stérols des dialcools.

Introduction

Chapitre I :
Synthèse
Bibliographique

Chapitre II :

*Matériel et
méthodes*

Chapitre III :

Résultats

Chapitre VI :

Discussion

Conclusion

Et

Perspective

Références

Bibliographique

Annexes

1. Lieux et durée de stage

L'étude pomologique concernant les olives des deux variétés Azeradj et Chemlal est effectuée au moment de la récolte soit durant le mois de décembre 2014. L'extraction et l'identification des polyphénols des olives quant à elle est réalisée de mois de mars au mois de juin 2015. L'ensemble de ces étapes ont été faites au niveau de laboratoire de recherche sur les plantes médicinales et aromatiques du département de biotechnologie de l'université Blida 1. Les analyses physico-chimiques sont effectuées au niveau du laboratoire de chimie du département de biotechnologie de l'université de Blida 1 de mars à mai 2015.

2. Matériel :

Dans cette partie, le matériel végétal et sa provenance ainsi que le matériel de laboratoire sont présentés tour à tour.

2.1. Matériel végétal

Les échantillons d'olives utilisés dans cette étude ont été collectés durant le mois de décembre 2014 au niveau de la commune de Bougara (wilaya de Blida). Notre choix a été orienté vers deux variétés d'olives, la variété Chemlal (C), et Azeradj (A). Ces variétés sont utilisées initialement pour l'extraction d'huile mais aussi comme olives de table dans le cas de l'Azeradj.

Les six échantillons d'huiles d'olive, proviennent quant à eux des régions suivantes : Bejaia, Blida (Bougara et Larbaa), Médéa, Tipaza et Sétif. Tous les échantillons sont récupérés au niveau des huileries modernes à part celui de Bejaïa qui lui est issue d'une huilerie traditionnel.

L'échantillon d'huile de Bejaia est issu de la variété Limli, celui de Bougara de Chemlal et celui de Larbaa d'Azeradj. Les 3 autres échantillons appartiennent à un mélange variétal.

2.1.1. Présentation de la zone d'étude

Les régions dont les 06 échantillons d'huiles sont issus à savoir Bejaia, Blida, (Bougara et Larbaa), Médéa, Tipaza et Sétif sont représentées dans la Figure 7.

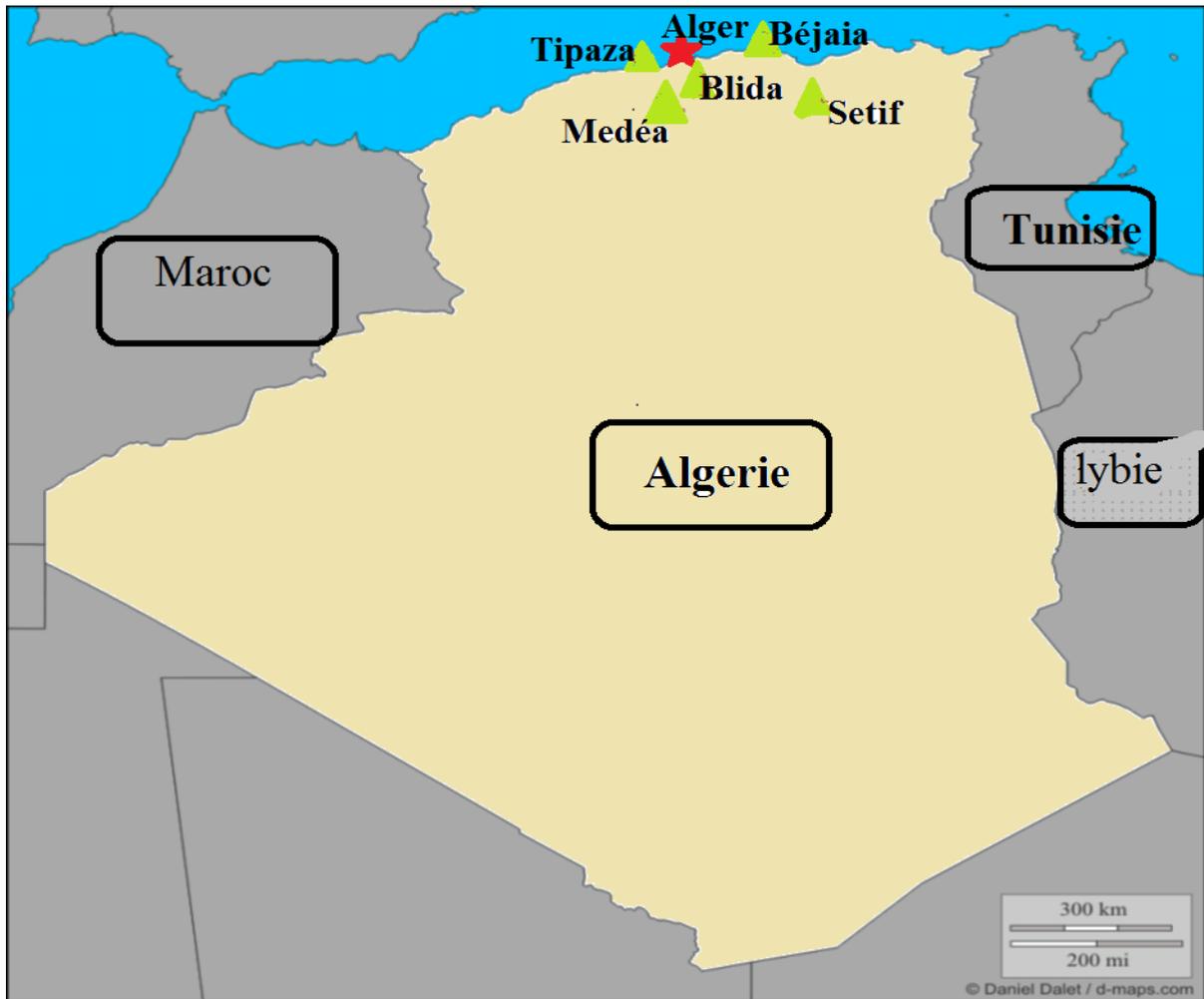


Figure 07 : Carte oléicole des zones d'échantillonnage.

2.1.1.1. Présentation de la wilaya de Bejaïa:

La situation géographique de Bejaïa ainsi que le climat qui la caractérise sont présentés dans ce qui suit.

a. Situation géographique:

La wilaya est située au nord-est du pays, sur le littoral méditerranéen. Elle est limitée par :

La mer méditerranée au Nord,

La wilaya de Jijel à l'Est,

Les wilayas de Sétif et Bordj-Bou-Argeridj au Sud,

Les wilayas de Tizi Ouzou et Bouira à l'ouest.

b. Le climat

Cette région située au niveau du littoral qui a un climat doux. Elle bénéficie des influences de la mer et reçoit en moyenne 800 à 1100mm de pluie par an.

L'oléiculture dans la wilaya de Bejaia occupe une place importante et représente 66% de la superficie arboricole de la région. Elle arrive en tête de classement dans la production d'huile d'olive.

2.1.1.2. Présentation de la wilaya de Blida

Dans cette région 2 communes à savoir Bougara et Larbaa sont concernées par l'échantillonnage de l'huile.

a. Situation géographique:

La wilaya de Blida est située dans le Tell central, elle est délimitée :

- au nord, par les wilayas d'Alger et de Tipaza ;
- à l'est, par les wilayas de Boumerdès et de Bouira ;
- à l'ouest, par la wilaya d'Aïn Defla ;
- au sud, par la wilaya de Médéa

b. Climat

L'Atlas tellien protège la wilaya de Blida des vents secs du sud en provenance des Hauts Plateaux. Cette protection permet à la région de bénéficier d'un climat méditerranéen propice à l'agriculture. La pluviométrie est généralement plus importante dans les montagnes que dans les plaines. Les précipitations sont plus importantes en mois de décembre, janvier et février. Elles avoisinent les 800 mm par année.

L'oléiculture à Blida occupe une place moins importante par rapport aux autres cultures fruitières.

2.1.1.3. Présentation de la wilaya de Médéa

a. Situation géographique:

La wilaya de Médéa est située dans le centre du pays au cœur de l'Atlas tellien, elle consiste une zone de transit et un trait d'union entre le Tell et le Sahara, et entre les Hauts Plateaux de l'Est et ceux de l'Ouest. Elle est délimitée :

- au nord, par la wilaya de Blida ;
- à l'ouest, par les wilayas d'Aïn Defla et Tissemsilt ;
- au sud, par la wilaya de Djelfa ;
- à l'est, par les wilayas de M'Sila et Bouira.

b. Climat

Le climat de Médéa se distingue par des caractéristiques dues à sa position sur les monts de l'Atlas tellien et son altitude qui atteint 1240 m ainsi qu'à son exposition aux vents et aux vagues de courants venant de l'Ouest.

2.1.1.4. Présentation de la wilaya de Sétif

a. Situation géographique

La wilaya de Sétif est située dans l'Est Algérien, dans la région des hauts plateaux. Elle est distante de la Capitale Alger de 300 Kms, et s'élève à 1100 m d'altitude.

La Wilaya est limitée par les wilayas suivantes :

Au Nord: par Jijel et Bejaia

A l'Est: par Mila

Au Sud: par Batna et Msila

A l'Ouest: par Bordj-Bou-Argeridj

b. Le climat

De nombreux facteurs interviennent pour déterminer le climat de la wilaya de Sétif, et qui sont:

L'altitude estimée à 1100 m, l'éloignement de 100 Kms de la mer méditerranée, sa situation sur les hauts plateaux de l'Est et le fait qu'elle soit, bien sûr, entourée de montagnes. La conjugaison de ces facteurs fait que la wilaya de Sétif jouit d'un climat continental semi-aride se caractérisant par des étés chauds et secs et des hivers pluvieux et froids. La région enregistre en hiver une importante pluviométrie, mais qui n'est pas uniforme pour toutes les zones, en effet, si la zone du Nord reçoit 700 mm annuellement, la zone des hauts plateaux ne reçoit que 400mm par an.

La wilaya de Sétif se caractérise par une oléiculture de montagne spécialisée dans la production d'huile d'olive, mais la production est très fluctuante d'une année à une autre.

2.1.1.5. Présentation de la wilaya de Tipaza

a. Situation géographique

La Wilaya est limitée par les wilayas suivantes :

La mer méditerranée au Nord,

A l'Est: par Alger

Au Sud: par Blida et Ain dafla

A l'Ouest: par Chlef

b. Le climat :

Tipaza, qui est soumis à l'influence conjuguée de la mer, du relief et de l'altitude, présente un climat de type méditerranéen est caractérisé par la rareté des précipitations estivales. Et reçoit une pluviométrie moyenne annuelle de 680 mm.

Les températures varient entre 33 °C pour les mois chauds de l'été (juillet, août), à 5,7 °C pour les mois les plus froids (décembre à février).

La majorité des surfaces oléicoles de cette wilaya se localisent dans des régions montagneuses.

2.2. Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé au laboratoire est représenté en Annexes.

- ✓ Verreries : annexe n°3
- ✓ Appareillages : annexe n°4
- ✓ Réactifs et solutions : annexe n°5

2.3. Echantillonnage

Les échantillons d'huiles ont été prélevés dans des flacons en verre fumé d'une capacité de 150 ml. Ces flacons ont été remplis à 9/10 de volume avec un étiquetage qui comporte les informations suivantes:

- ✓ Lieu de l'huilerie
- ✓ La date d'extraction de l'huile.
- ✓ La variété d'olivier et le mode d'extraction de cette huile.

Les échantillons sont placés dans un réfrigérateur à +4°C.

3. Méthode

3.1. Etude sur les olives

3.1.1. Caractérisation physique ou pomologique des olives

L'étude des paramètres pomologiques des olives a été réalisée dans le but de l'identification variétale, elle consiste à la détermination du poids moyen, de la largeur et de la longueur moyenne de ces drupes. Le taux d'humidité et la teneur en polyphénols des pulpes d'olive des deux cultivars ont été également étudiés.

3.1.1.1 Détermination du poids, la largeur et la longueur moyenne des échantillons d'olives

Des échantillons aléatoires de 50 fruits sont pesés pour déterminer le poids frais moyen, la largeur et la longueur moyenne sont obtenues à l'aide d'un pied –coulisse. La figure 08 illustre la différence entre les drupes des deux variétés.



Figure 8: Fruits et feuilles des variétés d'olive

3.1.1.2. Teneur en eau

Après le dénoyautage des olives à l'aide d'un mortier, il est déposé dans des boîtes de Pétri préalablement pesées, la pulpe d'olives (chaque variété dans une boîte). Ces boîtes sont ensuite recouvertes d'un film de papier aluminium résistant à des températures élevées. Les fruits seront séchés dans une étuve à 105°C pendant 42 heures.

Une fois que la pulpe sera sèche, on pèsera de nouveau les deux plateaux pour déterminer le poids sec de la pulpe. La teneur en eau est calculée par la formule suivante :

$$H\% = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

H% : Teneur en eau.

M1 : Poids frais.

M2 : Poids sec

Nous avons déterminé la moyenne des pourcentages d'eau après réaliser trois répétitions pour chaque variété dans les mêmes conditions.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$MS \% = 100 - H\%$$

3.1.2. Extraction des polyphénols de pulpe d'olive

Pour l'extraction des polyphénols de la pulpe d'olives, les fruits des deux variétés sont soumis à un dénoyautage et à un séchage à l'étuve à 40°C puis à un Broyage à l'aide d'un moulin à café de type Moulinex pour obtenir un échantillon grossièrement moulu (Figure09).

Le matériel végétal obtenu a été conservé dans des flacons ombrés, dans le congélateur pour les analyses ultérieures.

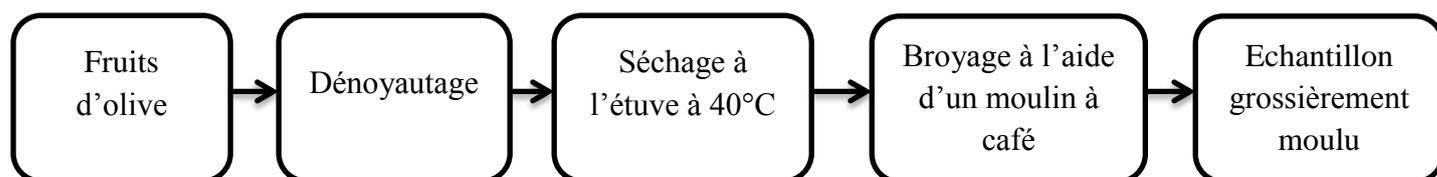
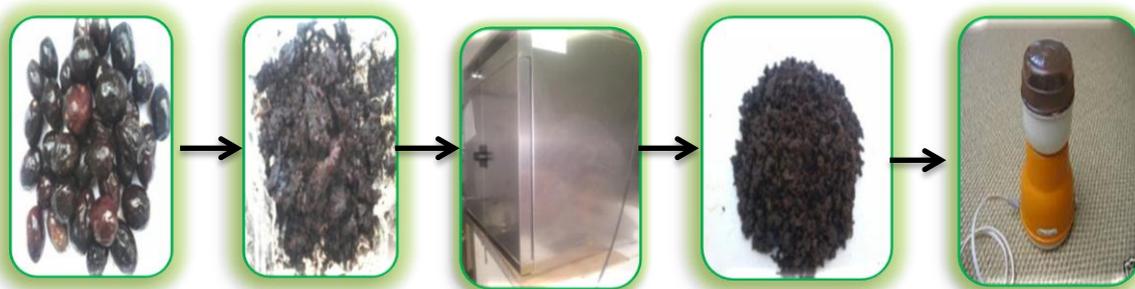


Figure 09 : Procédure suivie pour la préparation des échantillons d'olives destinés à l'extraction des polyphénols.

Pour une première extraction on ajoute à 25g de l'échantillon préparé comme mentionné précédemment 175ml du mélange MeOH-Eau : 80% (v/v), le mélange est soumis à une macération avec agitation à l'aide d'un vortex pendant 12 heures (Figure 10). Après une filtration sous vide effectuée à travers un entonnoir (N° 4), le filtrat1 est évaporé sous pression à l'aide d'un rotavapor de type Heidolph (figure 11) pour une élimination totale du méthanol et l'obtention d'un extrait aqueux 1. Le premier résidu a été récupéré pour une deuxième extraction hydrométhanolique (MeOH-Eau : 50% (v/v), puis le mélange a été agité par un vortex, pour une durée de 6 heures, le mélange obtenu a été centrifugé à une vitesse de 3000 g pendant 10 minutes. Le surnageant a été évaporé sous pression tout comme pour le filtrat1. Les deux extraits combinés ont été soumis ensuite à une délipidation par l'hexane.

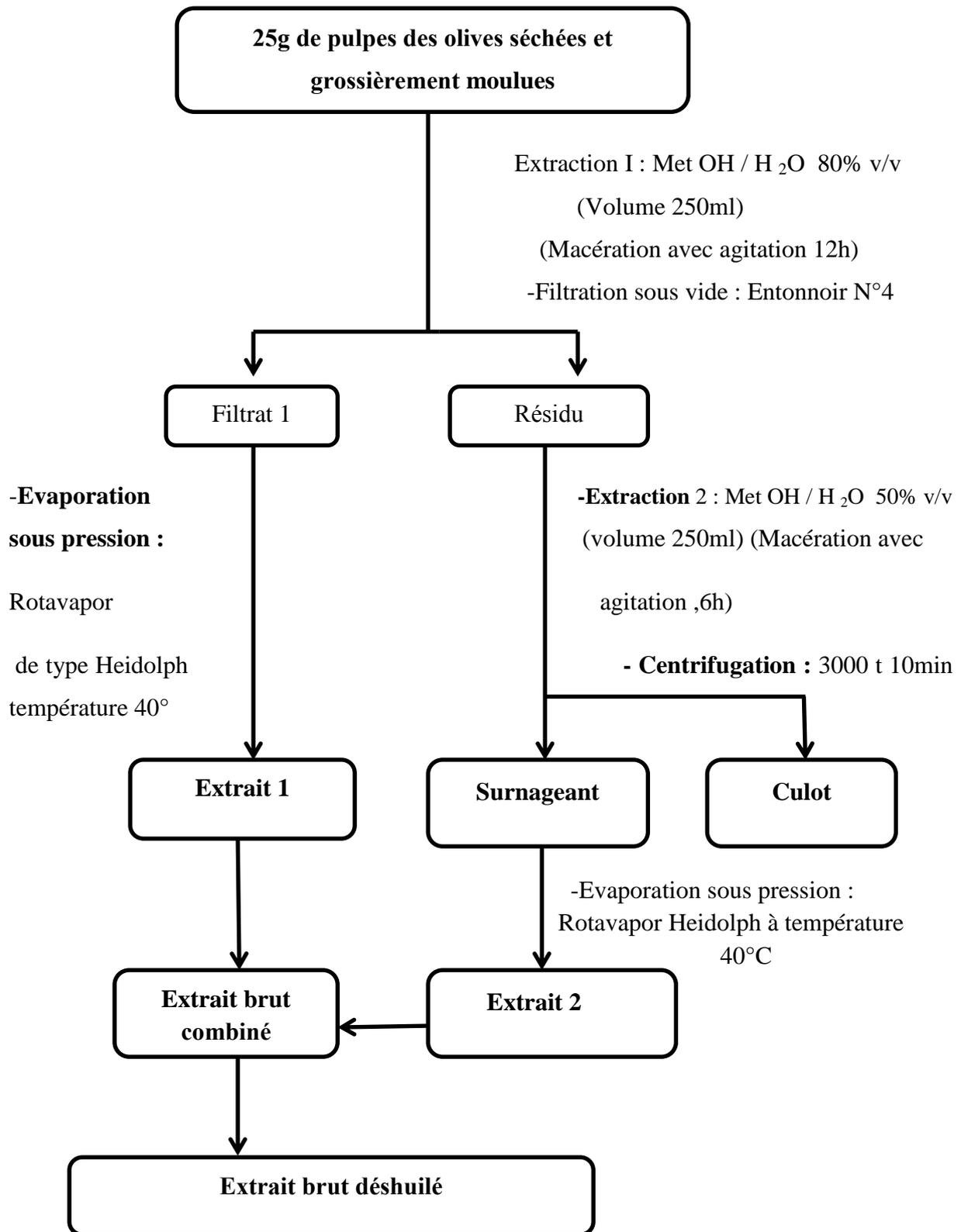


Figure 10: Schéma qui représente la procédure suivie pour l'extraction des polyphénols d'olive.



Figure 11 : Evaporation sous vide par rotavapor de type Heidolph

3.1.3. Le taux de polyphénols des olives :

3.1.3.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu)

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Dans le cas présent, 100 μ l de l'extrait brut méthanolique sont mélangés à 200 μ l du réactif de Folin et 3,16 ml de H_2O . Le mélange est incubé à température ambiante pendant 3 minutes. Ensuite 600 μ l de la solution carbonate de sodium (Na_2CO_3) anhydre 20 % sont ajoutés au mélange. Les composés phénoliques totaux sont déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre à UV (Ultra-Violet) visible après 2 heures d'incubation à température ambiante par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 765 nm. On prépare dans les mêmes conditions un témoin avec de l'eau distillée à la place de la solution de l'extrait brut. La quantification est faite selon une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 100 μ g/ml). Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique par ml d'extrait.

✓ **Courbe étalon :**

Pour préparer un courbe étalon, 0, 1, 2, 3, 5, et 10 ml de la solution courante d'acide gallique ont été ajoutés dans un ballon jaugé de 100 mL, puis le volume a été complété à 100 mL d'eau distillée. Ces solutions avaient des concentrations en phénol de 0, 50, 100, 150, 250, et 500 mg/l d'acide gallique.

✓ **Solution courante d'acide gallique ou acide 3, 4, 5-trihydroxybenzoïque**

Pour préparer cette solution, la procédure suivante a été effectuée. Dans un ballon jaugé de 100 mL, 0,5 g d'acide gallique sec ont été dissous dans 10 mL d'éthanol puis le volume a été complété avec de l'eau distillée. Il peut être ouvert quotidiennement, mais au magasin ils le maintiennent fermé dans un réfrigérateur jusqu'à deux semaines.

✓ **Solution de carbonate de sodium.**

200 g de carbonate de sodium anhydre ont été ajoutés dans 800 mL d'eau distillée puis la solution a été portée à ébullition. Après refroidissement, quelques cristaux de carbonate de sodium ont été ajoutés, et après 24 heures, la solution a été filtrée et son volume a été ajusté à 1 L.

Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par 100 g poids sec de la pulpe (mg EAG/100g). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

3.2. Méthodes d'analyses ayant porté sur l'huile

3.2.1. Teneur en polyphénols d'huile d'olive

Pour l'extraction des polyphénols de la fraction apolaire on précède à la méthode de **Vassiliki et al.,(2009)**, 1g d'huile est dissoudre dans 5ml d'hexane, puis 5ml du mélange méthanol/ eau (60 :40 , v/v) sont ajoutés. Une agitation par un vortex, ainsi qu'une centrifugation à 3500 t pendant 10 minutes est effectuée. On obtient deux fractions ; une couche apolaire et l'extrait polaire utilisé pour le dosage des polyphénols dans l'huile d'olive par la méthode colorimétrique du Folin- Ciocalteu.

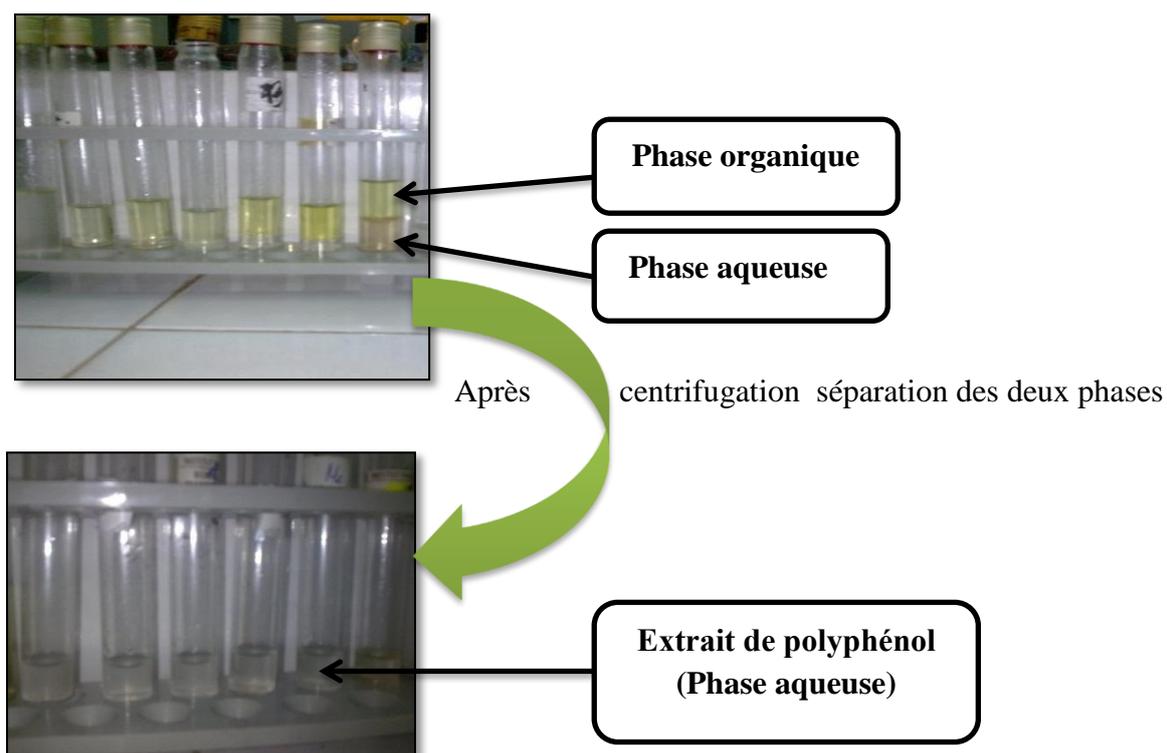


Figure 12 : Extraction liquide- liquide (par solvants organiques).

3.2.2. Analyses organoleptiques

3.2.2.1. Dégustation :

La dégustation des huiles d'olive est faite suivant la méthode prescrite par le C.O.I.T.20/Doc. n° 15/Revue 3 novembre 2010.

➤ Matériel

- Plaque chauffante ;
- Feuille de profil et un crayon ;
- Des tranches de pomme ou de l'eau.

➤ Conditions de l'essai

- Echantillon de l'huile à analyser est présenté dans des béchers en verres.
- Chaque bécher doit être marqué au moyen d'un système inodore, d'un code composé des chiffres ou des chiffres et de lettres pris au hasard.

- Déterminer des attributs positifs et négatifs de l'échantillon et les noter dans la feuille de profil (annexe 07). Cette dernière porte une échelle graduée de 1 à 10 présentant les intensités des différents attributs.

➤ **Critères olfactifs**

▪ **Principe**

Le dégustateur approchera l'ouverture du verre de son nez et pratiquera de brèves inspirations (environ trois fois) c'est le «flairage» qui augmente énormément le débit de l'air sur la muqueuse olfactive.

Le dégustateur renouvellera cette opération de «flairage »tant que la ou les odeurs dominantes ne sont pas bien identifiées.

➤ **Critères gustatifs**

▪ **Principe**

Après une ou deux minutes de repos, le dégustateur peut procéder à l'étape suivante consistant à analyser le produit en bouche.

▪ **Interprétation**

- les dégustateurs notent les résultats obtenus sur la fiche de profil.

3.2.2.2. Détermination de l'aspect et de la couleur à + 20°C pendant 24h :

L'aspect et la couleur sont déterminés selon la méthode prescrite par COI.20/DOC n°15

Ceci consiste à observer l'aspect de l'huile après une exposition de 24 heures à une température de + 20°C (Figure 13).

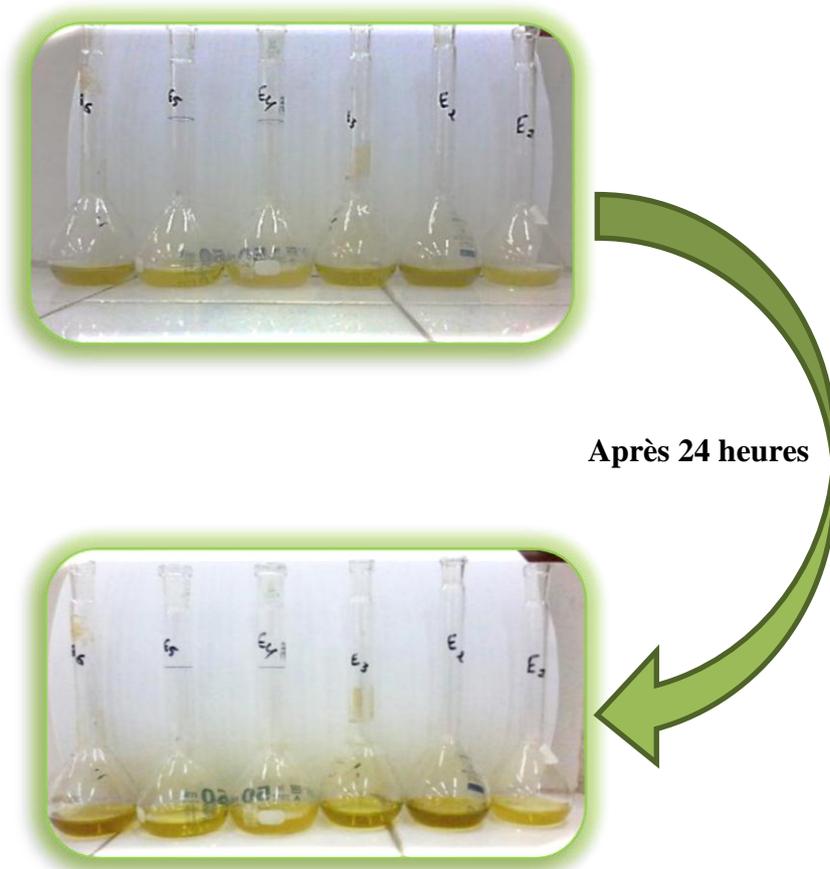


Figure 13: Aspect de couleur de l'huile d'olive étudiée

✓ **Mode opératoire**

- Peser 10g d'huile dans une fiole conique ou un bécher en verre transparent bien nettoyé et séché ;
- Laisser la fiole à une température de + 20°C à l'abri de la lumière pendant 24 heures.
- Après ce temps écoulé, noter l'apparence et la couleur en utilisant un arrière-plan blanc afin d'éviter toute interférence de la couleur du milieu avec la couleur réelle de l'huile.

3.2.3. Détermination des critères physico-chimiques :

3.2.3.1. Détermination de l'acidité libre:

La détermination de l'acidité s'est faite selon la méthode CEE 2568-1991 équivalente à la méthode ISO 660-1996.

➤ **But**

La détermination de l'acidité exprimée en pourcentage d'acide oléique présent dans l'huile, nous informe sur l'état d'hydrolase des triglycérides.

➤ **Principe**

Mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants (oxyde di-éthylique /éthanol). Puis titrage des acides gras libre présents à l'aide d'une solution d'Hydroxyde de potassium.



Avant

après

Figure 14 : résultat de l'acidité (virage de la couleur vers rose claire)

➤ **Mode opératoire**

-prélever dans une fiole conique une prise d'essai de $25\text{mg} \pm 1$ d'huile d'olive (pesée à l'aide d'une balance analytique) ;

-Dissoudre la prise d'essai dans 50 ml (25 :52 , v /v) du mélange Ether di-éthylique /Ethanol ($\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$), préalablement neutralisé ;

-Titrer en agitant avec la solution de Hydroxyde de potassium (KOH) à 0, 1 N en présence de quelques gouttes de phénolphtaléine ($\text{C}_2\text{OH}_{14}\text{O}_4$) jusqu'au virage de la coloration (apparition de la couleur rose, persistante durant au moins 10 secondes).

-Parallèlement à la détermination, effectuer un essai à blanc (Témoin) ;

-Effectuer deux déterminations sur le même échantillon.

➤ **-Expression des résultats**

L'acidité est exprimée en (%) de masse :

$$\text{L'acidité} = \frac{V.C.M.100}{1000.m} = \frac{V.C.M}{10.m}$$

Ou :

V : le volume en millilitres de la solution titrée de KOH utilisée ;

C : la concentration exacte en mole /litre de la solution titrée de KOH ;

M : la masse molaire, en gramme /mole de l'acide Oléique (282g /mole) ;

m : la masse en gramme de la prise d'essai.

-Prendre la moyenne arithmétique des deux déterminations comme résultat.

➤ **-Norme**

La norme de l'acidité, préconisée par le COI(2006) est de 3,3% pour les huiles d'olive vierges propres à la consommation en état.

3.2.3.2. Détermination de l'indice d'acide

➤ Principe

Le principe et le mode opératoire pour la détermination de l'indice d'acide sont les mêmes que ceux de l'acidité.

➤ Expression des résultats

-L'indice d'acide peut être calculé à partir des résultats obtenus pour la détermination de l'acidité.

-L'indice d'acide est exprimé en mg de KOH par gramme d'huile.

$$\text{L'indice d'acide} = 56,1 \times V \times C / m$$

-Ou

V, m et C ont les mêmes significations que l'équation d'expression de l'acidité.

56,1 est la masse molaire exprimé en gramme par mole de KOH

3.2.3.3. Détermination de l'indice de peroxyde

La détermination de l'indice de peroxyde s'est faite selon la méthode CEE 2568_1991 équivalente à la méthode ISO 3960_1989.

➤ But

La détermination de l'indice de peroxyde est très importante, il nous informe sur l'état d'oxydation de l'huile d'olive.

➤ Principe

Mettre la prise d'essai dans une solution d'acide Acétique et de chloroforme et traiter par une solution d'iodure de potassium. L'iode libéré est titré avec une solution de Thiosulfate de Sodium.

➤ **Mode opératoire**

-Peser 1,2 à 2 g d'huile d'olive dans un Erlenmeyer à col rodé de capacité de 250ml environ (muni d'un bouchon en verre rodé) ;

-Ajouter à la prise d'essai 10 ml de Chloroforme, dissoudre rapidement la prise en agitant ;

-Ajouter 15 ml d'acide acétique (C₂H₅O₂), puis 1 ml de solution Iodure de potassium.

-Boucher aussitôt le flacon, l'agiter pendant une minute et l'abandonner pendant cinq minutes à l'abri de la lumière.

-Ajouter 75 ml d'eau distillée. Titrer en agitant vigoureusement et en présence d'empois d'amidon comme indicateur, l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium (Na₂SO₄)0.01N.

-Effectuer sans le corps gras un essai à blanc.

-Effectuer deux déterminations pour le même échantillon.

➤ **Expression des résultats**

L'indice de peroxyde est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par KG d'échantillon :

$$\text{L'indice de peroxyde} = (V_2 \times V_1) \times 1000 \times T / M$$

Ou :

V₂ : le volume en ml de la solution de (Na₂SO₄)0,01 utilisée pour l'essai ;

V₁ : le volume en ml de la solution de (Na₂SO₄) utilisée pour l'essai à blanc ;

M : la masse de la prise d'essai en gramme ;

T : la normalité de (Na₂SO₄) 0.01N

-Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations effectuées.

➤ **Norme**

La norme de l'indice de peroxyde, préconisée par le COI(2006) est de **20Meq g d'O₂/Kg** pour les huiles d'olive vierges propres à la consommation en état.

3.2.3.4. Détermination l'indice d'iode

La détermination de l'indice d'iode s'est faite selon la méthode T60_203_1968.

➤ But

C'est le nombre de grammes d'halogène (iode) fixé par 100 g de matière grasse dans des conditions normalisées.

➤ Principe

L'indice d'iode mesure le degré d'insaturation des acides gras contenus dans une huile. Il peut être déterminé selon la méthode de WIJS.

➤ Mode opératoire

-Peser 0.25g d'huile d'olive dans un Erlenmeyer à col rodé de capacité de 250ml environ (muni d'un bouchon en verre rodé) ;

-Ajouter à la prise d'essai 15 ml de Chloroforme, dissoudre rapidement la prise en agitant, et 25 ml de réactif de WIJS.

- Boucher aussitôt le flacon et l'abandonner pendant 30 minutes à l'abri de la lumière.

-Ajouter 10 ml d'une solution d'iodure de potassium KI à 10% et de 100 ml d'eau distillée.

-Titrer par le thiosulfate de sodium 0.1 N en agitant énergiquement jusqu'à ce que la coloration jaune ait presque disparue.

-Ajouter 5 ml de solution d'amidon à 1% et continuer le titrage en agitant énergiquement en ajout goutte à goutte le thiosulfate de sodium à 0.1 N jusqu'à disparition de la coloration

Effectuer sans le corps gras un essai à blanc.

-Effectuer deux déterminations pour le même échantillon.

➤ Expression des résultats

$$\text{L'indice d'iode(Ii)} = (1.269(V_0 - V_1))/M$$

- V_0 = volume en ml de thiosulfate exigé par le témoin
- V_1 = volume en ml de thiosulfate exigé par l'essai
- M = poids (en g) de l'essai

➤ **Norme**

La norme de l'indice d'iode, préconisée par le COI(2006) est de 74 à 94 mg/100g pour les huiles d'olive vierges propres à la consommation en état.

3.2.3.5. Indice de réfraction

La détermination de l'indice de réfraction selon la méthode ISO 6320-1996.

➤ **But**

L'indice de réfraction est le rapport de la vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide à la vitesse dans l'huile.

➤ **principe**

Pour mesurer l'indice de réfraction des huiles, nous avons utilisé le réfractomètre d'ABBE convenable, de l'indice de réfraction de l'huile de l'olive à une température constante à 20°C.

➤ **Mode opératoire**

- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant du papier joseph.
- Etalonner l'appareil par de l'eau distillée dont l'indice de réfraction est égale à +1.333
- Nettoyer la lame du réfractomètre puis en déposer quelque goutte d'huiles et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié et effectuer la lecture des résultats en tenant compte de la température ambiante.
- Nettoyer la surface du prisme avec un chiffon doux puis avec l'hexane.

➤ **Expression des résultats**

Si la différence entre la température de mesure t_1 et T de référence t est inférieure à 3°C .

L'indice de réfraction n_D^t (à température de référence t) est donnée par la formule :

$$\text{Si } t_1 > T : n_D^t + (t_1 - T) F$$

$$\text{Si } t_1 < T : n_D^t + (T - t_1) F$$

n_D^t : l'indice de réfraction

t_1 : est la température de mesure

T : est la température de référence

F : est la facture de correction égale à 0,00035 pour $t : 20^\circ\text{C}$.

➤ Norme

La norme de l'indice de réfraction, préconisée par le COI(2006) est de 1,4677-1,4705 pour les huiles d'olive vierges propres à la consommation en état.

3.2.3.6. Détermination de l'absorbance spécifique en rayonnement ultraviolet

La détermination de l'absorbance spécifique en rayonnement ultraviolet s'est faite selon la méthode CEE 2568-1991 équivalente à la méthode ISO 3980-1995.

La présente norme décrit une spectrophotométrie en rayonnement ultraviolet dans un domaine spécifique de longueur d'onde 232 nm et 270 nm.

➤ But

La détermination de l'absorbance à 232 nm et à 270 nm nous renseigne sur l'état d'oxydation linoléique de l'huile d'olive.

➤ Principe

L'huile d'olive est dissoute dans de le cyclohexane ($5H_2O$), puis l'extinction de la solution déterminées aux longueurs prescrites par apport à l'hexane. Les extinctions spécifiques sont déterminées à partir des lectures spectrophotométriques.

➤ Mode opératoire

-Peser exactement 0,25 g de l'échantillon ainsi préparé dans une fiole jaugée de 25 ml, compléter avec le cyclohexane jusqu'à 25 ml et homogénéiser ;

-Remplir une cuve avec la solution obtenue et mesurer les absorbances en utilisant comme référence le cyclohexane pur, à des longueurs d'ondes de 232 nm et 270 nm.

➤ **Norme**

La norme de l'absorbance à une longueur d'onde de 232 nm est de 2.6, et à une longueur d'onde 270 nm est de 0.3.

DONNEES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. Les cellules gliales dans le SNC

Des éléments de soutien sont associés aux neurones, il s'agit des cellules de la névroglie qui sont dix fois plus nombreuses que les neurones. Dans le système nerveux central, les cellules gliales forment l'environnement des neurones et représentent environ 50 % du volume cérébral (Marie-Catherine, 2009).

Il existe divers types de cellules gliales (Fig 1), les astrocytes, des oligodendrocytes, et les microglies (Zigmond et al, 1999).

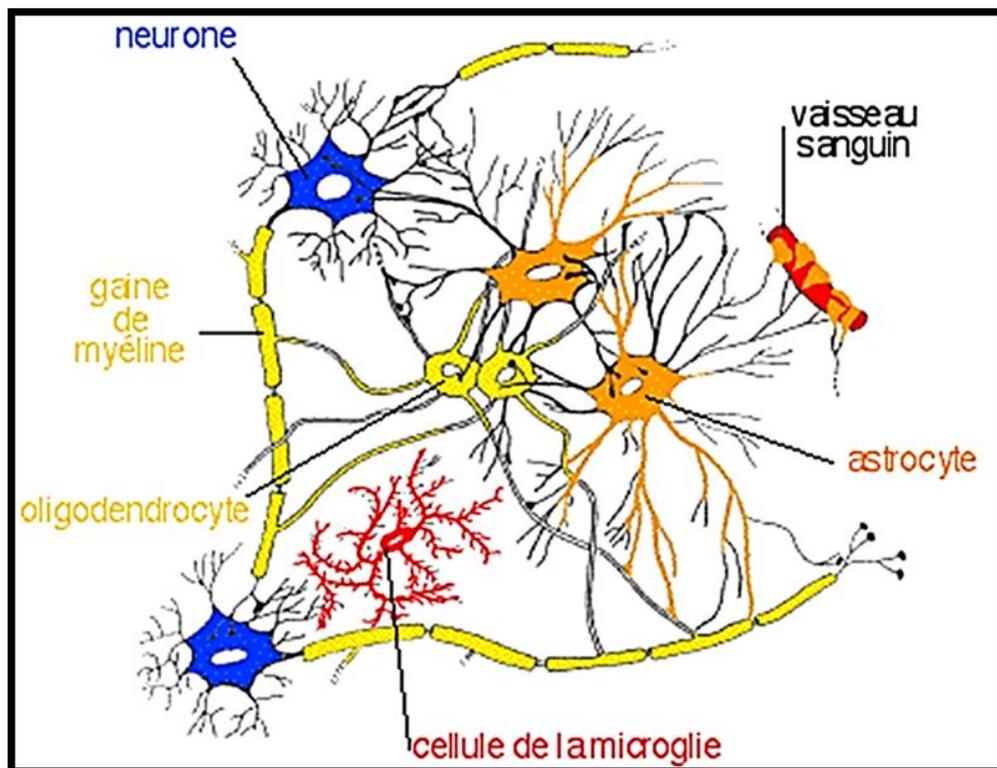


Figure 1 : Les cellules de soutien dans le système nerveux central (Dinh, 1998).

Pendant longtemps, la fonction principale des cellules gliales consiste à soutenir les neurones, à leur apporter des éléments nutritifs et à maintenir l'homéostasie du système nerveux pour protéger les neurones fragiles (Kandel et Schwartz, 1985). Cependant, des recherches récentes ont révélé leur rôle actif dans d'autres processus fondamentaux, tel que la neurotransmission et la plasticité synaptique (Yang et al, 2003 ; Araque et Perea, 2004).

1.2. Les cellules gliales de la microglie et la macroglie

Les cellules gliales sont classées en deux grandes catégories : la microglie et la macroglie. Comme leur nom l'indique, cette distinction est fondée sur une différence de taille entre ces deux types cellulaires.

1.2.1. Les cellules de la microglie

Les cellules microgliales ou microgliocytes sont considérées comme les principales cellules immunocompétentes résidentes dans le SNC. Elles possèdent la propriété de s'activer rapidement en réponse à des changements pathologiques dans le SNC (**Ladeby et al, 2005**).

Dotées de phagocytose, la microglie serait l'équivalent des macrophages dans le SNC. Lors d'une lésion au cerveau ou à la moelle épinière, son taux de prolifération augmente de façon significative (**Graeber et al, 1988**). Les cellules microgliales activées, migrent pour atteindre le lieu de la blessure et permettre sa réparation (**Kreutzberg, 1996 ; Streit 2000**). A la différence des cellules macrogliales (astrocyte et oligodendrocyte), qui dériveraient de l'ectoderme, la microglie proviendrait probablement des précurseurs des monocytes du sang et donc du mésoderme (**Streit, 2001**).

1.2.2 Les cellules de la macroglie

Il existe une grande diversité de cellules macrogliales, au niveau du système nerveux central (SNC), mais également dans le système nerveux périphérique (SNP), dont les deux principaux types sont les astrocytes et les oligodendrocytes.

1.2.1. Les oligodendrocytes

Les oligodendrocytes sont des cellules avec peu de prolongements. Ils sont plus petits que les astrocytes et possèdent des noyaux moins denses. Leur cytoplasme contient du réticulum endoplasmique rugueux (REG), des polyribosomes et des microtubules mais pas de glycogène ni de GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) ; leur rôle principal est la production de myéline qui isole les axones du SNC (**Verkhatsky et Butt, 2007**). Elles peuvent avoir un rôle trophique, en sécrétant des facteurs neurotrophiques comme le BDNF et le GDNF (Brain ou Glial Derived Neurotrophic Factor) et l'IGF-1 (Insulin Growth Factor 1) (**Bradl et Lassmann, 2009**).

Les oligodendrocytes possèdent de nombreux récepteurs aux neurotransmetteurs et répondent à l'activation de ces récepteurs par un signal calcique (**Butt, 2006**).

1.2.2. Les astrocytes

Les astrocytes sont les cellules macrogliales les plus abondantes dans le SNC. Elles sont très ramifiées, dont les prolongements sont souvent apposés aux vaisseaux sanguins (**Raine, 1999**).

Elles englobent deux groupes : les astrocytes en forme d'étoile. Le second groupe est formé par les cellules gliales radiaires qui sont des cellules bipolaires avec un corps cellulaire ovoïde et un long prolongement (**Verkhratsky et Butt, 2007**). En plus de ces deux grands groupes d'astrocytes, il existe de petites populations d'astrocytes spécialisés, localisés dans les régions spécifiques du SNC, et possédant pour la plupart de nombreux prolongements.

Les astrocytes forment en fait une matrice à travers un réseau de cellules connectées entre elles par des jonctions communicantes qui permettent le passage du calcium et d'autres petites molécules (**Saez et al, 2003**). Ils sont impliqués dans le maintien de l'homéostasie ionique et énergétique, mais interviennent également dans la synaptogenèse, la transmission neuronale et la plasticité synaptique (**Verkhratsky et Butt, 2007**).

Elles peuvent ainsi contrôler la vasoconstriction (**Koehler et al, 2006**) et constituent un élément clé de la barrière hémato-méningée (**Abbott, 2002**), frontière de nature physico-chimique qui restreint le passage des cellules immunitaires et la diffusion des molécules hydrosolubles entre la circulation sanguine et le SNC (**Ganong, 1977 ; Prat et al, 2001**).

1.2.3. Fonctions des astrocytes

1.2.3.1. Le maintien du métabolisme énergétique et de l'homéostasie ionique

Lors d'une activité neuronale, les besoins énergétiques pour le glucose sont augmentés, résultant en une augmentation du débit sanguin cérébral. Ce phénomène de couplage entre l'activité neuronale et le flux sanguin est qualifié d'hyperhémie fonctionnelle et est contrôlé par les astrocytes. Les astrocytes sont en effet en contact avec les vaisseaux sanguins (fig 2), au niveau de structures particulières : les pieds astrocytaires ou (périvasculaires). Au niveau de leurs pieds astrocytaires. Ces cellules sont capables de libérer des substances vasoactives, contrôlant ainsi le débit sanguin cérébral de manière locale (**Zonta et al, 2003 ; Magistretti, 2006 ; Petzold et Murthy, 2011**).

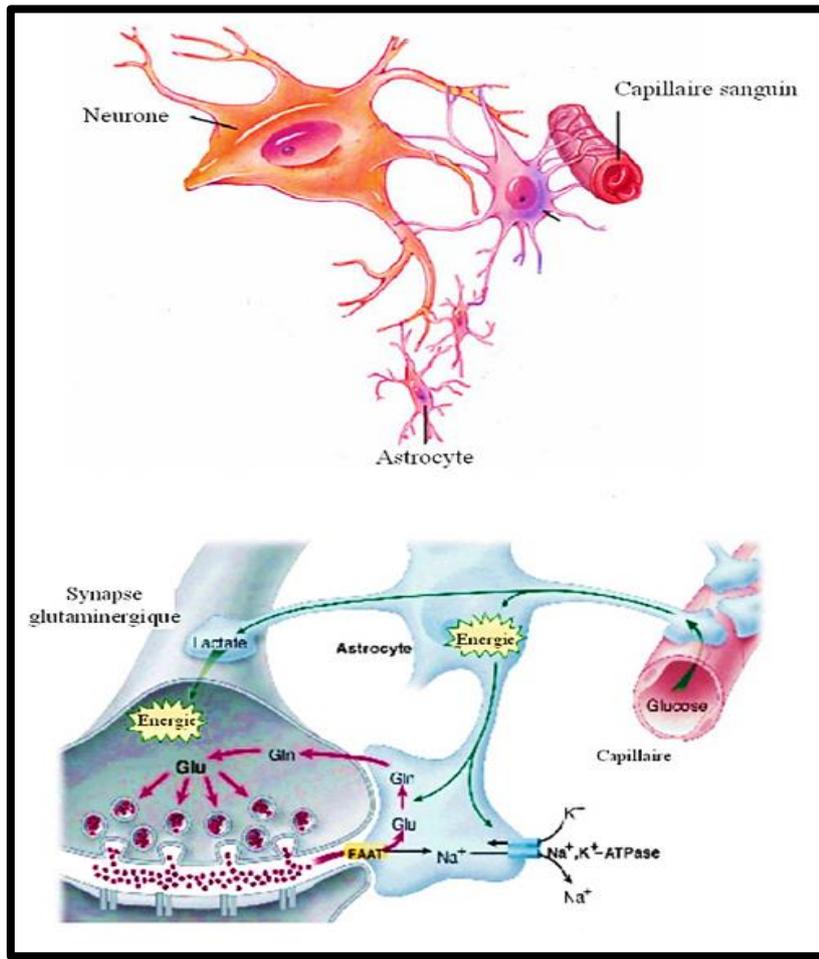


Figure 2 : Représentation schématique de l'interaction entre cellule neuronale -astrocyte. (D'après Tsacopoulos et Magistretti, 1996).

Outre la régulation du métabolisme énergétique, les astrocytes sont impliqués dans le maintien de l'homéostasie ionique, grâce à l'expression de différents transporteurs et canaux ioniques (Simard et Nedergaard, 2004). Le contrôle de la concentration ionique extracellulaire est primordial car toute modification affecte les propriétés membranaires et donc l'excitabilité des cellules.

1.2.3.2. Libération de gliotransmetteurs.

L'une des découvertes les plus récentes concernant les astrocytes est leur aptitude à libérer des gliotransmetteurs, capables de moduler l'excitabilité neuronale ou la transmission synaptique. Le premier gliotransmetteur mis en évidence a été le glutamate (Parpura et al, 1994), puis d'autres comme l'ATP (Wang et al, 2000) et la D-sérine (Mothet et al, 2000) ont suivi. Il a été plus récemment montré que les astrocytes sont également capables de libérer du GABA (Acide GAMA -Aminobutyrique) (Angulo et al, 2008 ; Heja et al, 2009 ; Lee et al, 2010) ou des neuropeptides.

1.2.3.3. Formation de la barrière hématoencéphalique (BHE)

Les astrocytes jouent un rôle clé dans la formation et le maintien de la BHE, qui est formée de cellules endothéliales reliées par des jonctions serrées, d'une membrane basale et des pieds astrocytaires (fig 3). Les astrocytes envoient des signaux induisant la formation des jonctions serrées qui déterminent les propriétés de perméabilité de la BHE (Janzer et Raff, 1987 ; Ballabh et al, 2004). Ainsi, la majorité des molécules hydrophiles du sang ne traversent pas la BHE spontanément et nécessitent des transporteurs.

Les astrocytes auraient aussi un rôle actif dans la régulation du débit sanguin cérébral et par conséquent de l'apport en nutriments dans le cerveau.

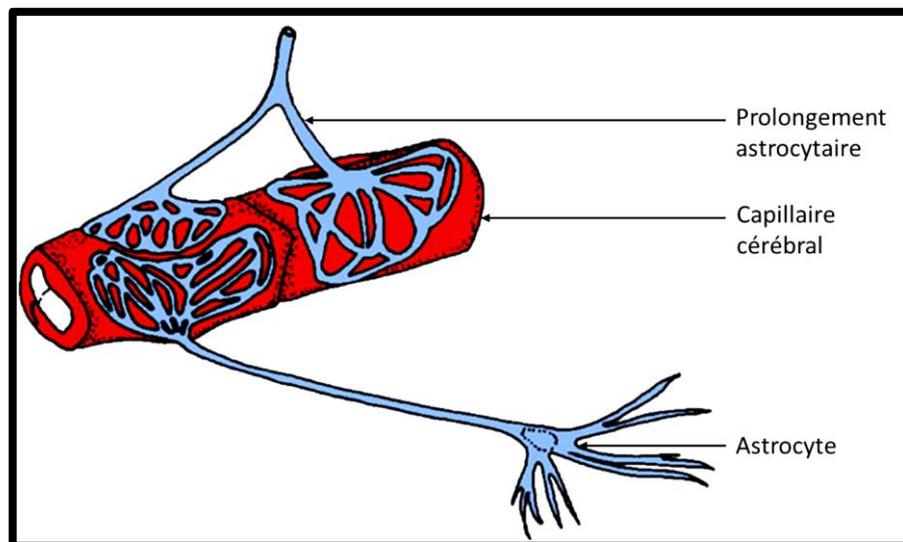


Figure 3 : Schéma représentant la forme particulière et la densité des pieds astrocytaires contactant la paroi microvasculaire au niveau des capillaires cérébraux formant la BHE (Abbott, 2002).

1.3. Les cellules gliales dans le système endocrine

De nombreuses publications suggèrent que les cellules folliculostellaires (FS), une population cellulaire non-endocrine de l'hypophyse, sont les médiatrices potentielles de certains de ces mécanismes de contrôle de la fonction hypophysaire.

Les cellules FS pourraient constituer un mécanisme d'harmonisation dans le système endocrine. L'interaction des cellules FS avec les cellules endocrines est communément associée à un apport nutritif (Rinehart et Farquhar, 1955 ; Shiotani, 1980) et un apport hormonal (Allaerts et Deneff, 1989) pour les cellules endocrines ou à un transport des produits hormonaux des cellules sécrétrices vers les vaisseaux sanguins. La proximité des

prolongements des cellules FS et des sites d'exocytose des cellules endocrines peut suggérer une influence sur la capacité des granules à être libérées, ou une possible capture des produits sécrétés.

1.4. Les cellules de gliales dans le système neuroendocrine

Les cellules les plus nombreuses dans la neurohypophyse (NH) sont les pituicytes. Ces derniers sont souvent considérés comme des cellules astrogliales parce qu'ils expriment la vimentine (**Marin et al, 1989**) et S-100 β (**Cocchia et Miani, 1980**).

À l'origine, leur morphologie les a distingués des astrocytes (**Bucy, 1932**), mais peu à peu, d'autres propriétés les ont rapprochés (**Livingston, 1976**). Leur fonction serait de réguler l'environnement ionique immédiat des axones neurosécréteurs (**Dellmann et al, 1974 ; Tweedle et Hatton, 1980**) et de contrôler la sécrétion des neurohormones. De plus, leurs multiples prolongements cellulaires sont fortement interconnectés par différents types de jonctions, dont des jonctions communicantes (**Sangiaco, 1973 ; Dreifuss et al, 1975, Stoeckel et al, 1975**).

1.5. Les fonctions des cellules gliales dans les différents systèmes

Les cellules de soutien sont en effet essentielles au fonctionnement du système nerveux. De nombreuses études récentes mettent en évidence d'importants nouveaux rôles des cellules gliales dans les fonctions cérébrales dans le traitement de l'information neuronale.

Dans la rétine, les cellules gliales de Müller assurent à la fois l'homéostasie du tissu et la protection des neurones. Au cours du développement rétinien, elles servent de guide à la migration des bâtonnets en leur permettant d'effectuer leurs connexions synaptiques appropriées (**Sharma et Johnson, 2000**). Elles se comportent également comme des guides d'ondes depuis la surface rétinienne jusqu'aux photorécepteurs, pour éviter la dispersion de la lumière (**Franze et al, 2007**).

Dans les testicules, les cellules de Sertoli qui sont les cellules somatiques présentes dans l'épithélium du tube séminifère jouent un rôle fondamental dans la survie des cellules germinales (**Johnson et al, 1984 ; Petersen et Soder, 2006**), elles jouent également plusieurs autres fonctions notamment leur rôle dans l'organisation et le maintien de l'architecture du testicule. En raison de leur liaison étroite avec les cellules germinales, les cellules de Sertoli

jouent un rôle majeur dans la régulation de la spermatogenèse (Androl, 2006 ; Erythropel et al, 2012).

2. Anatomie et histo-cytologie de la glande pinéale

La glande pinéale ou l'épiphyse est une structure neuroendocrine provenant d'une évagination du toit du diencéphale (Moreau et al, 1985). Sa morphologie et sa position anatomique sont assez différentes d'une espèce à une autre, mais l'origine embryonnaire est commune (Vollrath, 1979). Chez la plupart des mammifères, elle forme une masse compacte entre l'habenula et les commissures postérieures (Macchi et Bruce, 2002), située à la partie postérieure du toit du troisième ventricule (Fig 4) (Sahai, 2013).

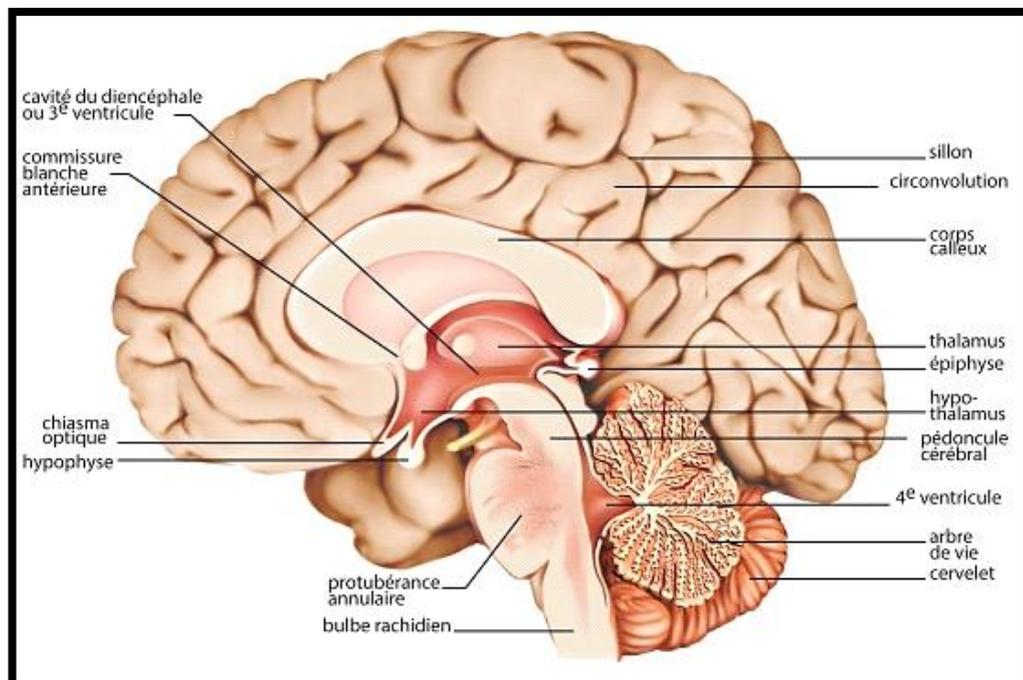


Figure 4 : Représentation schématique du système nerveux central (Nguyen, 2008).

2.1. Description générale de la glande pinéale

L'épiphyse est divisée en lobules de tailles irrégulières par des cloisons contenant des vaisseaux et des nerfs (Thieblot, 1981). Le parenchyme comporte deux types de cellules, les pinéalocytes et les cellules de soutien de nature gliale. Les premières sont des cellules disposées en amas et en cordons très ramifiés, dont le cytoplasme contient des granulations qui renferment des molécules de sérotonine (Arendt, 1998). Les cellules gliales. Celles-ci sont localisées entre les pinéalocytes et associées à des vaisseaux sanguins (Gauvrit et al, 2011).

Des fibres nerveuses adrénérgiques post-ganglionnaires traversent le parenchyme glandulaire ainsi que des fibres nerveuses provenant de l'habenula et de la commissure postérieure.

La glande pinéale est connectée aux autres structures cérébrales par une innervation complexe. Il existe des variations considérables de cette innervation entre les espèces. Celle-ci recoupe les différences morphologiques : entre par exemples les rongeurs d'une part et les ovins, bovins, et primates d'autre part.

Toutefois, chez les mammifères sans exception, la majorité des fibres afférentes sont des fibres sympathiques, originaires des péricaryons localisés dans les ganglions cervicaux supérieurs (**Kappers, 1960**). Ces fibres noradrénérgiques sont fonctionnellement les plus importantes puisqu'elles sont directement impliquées dans le contrôle de la synthèse de la mélatonine. un certain nombre de neuropeptides par exemple le neuropeptide Y (NPY) (**shiotani et al, 1991 ; Zhang et al, 1991 ; Cozzi et al, 1992 ; Mikkelsen et Moller, 1999**), sont également présents dans ces fibres sympathiques.

Le rôle modulateur de ces neuropeptides dans la synthèse de la mélatonine a d'ailleurs été démonté (**Simonneaux et al, 1992, 1993, 1995**).

2.2. L'origine embryologique de la glande pinéale

La glande pinéale apparaît vers le deuxième mois de gestation (**Bruce et al, 2010**). L'épithélium épendymaire de la voûte diencéphalique s'épaissit au début de la septième semaine pour former la « plaque épiphysaire d'Hochstetter » qui s'invagine et se transforme en diverticule pinéal. Les parois de ce diverticule vont s'épaissir à partir de la huitième semaine par prolifération des cellules neuroépithéliales qui les tapissent.

Les lobes de la glande pinéale antérieurs et postérieurs ainsi formés, fusionnent vers la vingtième semaine. Cette glande continue à se développer en post-natal et n'atteint sa configuration définitive qu'à l'âge de deux ans (**Girod, 1990 ; Maldonato, 1997 ; Lindstrom et Lopes, 2010**).

2.3. Composition cellulaire de la glande pinéale

Chez les mammifères, elle est composée en majorité de cellules neuro-endocrines, les pinéaloctes, qui ne sont pas directement photosensibles mais qui possèdent de nombreux photorécepteurs, comme la rhodopsine-kinase (Zhao *et al*, 1999), l'opsine (Foster *et al*, 2003) et l'antigène-S (Mirshahi *et al*, 1984). La glande pinéale est composée également d'une faible proportion de cellules gliales de type microgliale (Jiang-Shieh, 2005) et astrocytaire (Vollrath, 1981 ; Calvo *et al*, 1988 ; Ville, 2013) et aussi de neurones.

2.3.1 Le pinéaloctes

Le pinéaloctes est une petite cellule glandulaire qui possède un noyau arrondi ou réniforme, et un cytoplasme finement granuleux qui présente des prolongements qui sont au contact des vaisseaux (Fauchon *et al*, 2005) et des grains contenant la mélatonine. Cette cellule présente des ressemblances avec les cellules photo réceptrices.

Il existe deux types différents de pinéaloctes, le type 1 et le type 2, qui ont été classés selon certaines de leur propriétés y compris la forme, la présence ou l'absence de l'invagination de l'enveloppe nucléaire, et la composition du cytoplasme (Al-Hussain, 2006).

2.3.1.1 Pinéaloctes de type 1

Les pinéaloctes de type 1 sont également connus comme étant des pinéaloctes de lumière, car ils se colorent sous une faible densité lorsqu'ils sont perçus sous un microscope et ils apparaissent plus lumineux à l'œil humain. Ces types de cellules ont été identifiés à travers les différentes recherches qui ont démontré que leur forme peut être de ronde à ovale avec un diamètre compris entre 7-11 micromètres (Al-Hussain, 2006).

Les pinéaloctes type 1 sont typiquement plus nombreux autant chez les enfants que chez les adultes contrairement au type 2 (Al-Hussain, 2006). Ils sont également considérés comme étant les cellules les plus actives en raison de la présence de certains contenants cellulaires, incluant une concentration élevée en mitochondrie (Boya *et Calvo*, 1984). Des travaux de recherche ont également démontrés que le type 1 contenait le neurotransmetteur sérotonine, qui sera converti ultérieurement en mélatonine, l'hormone principale secrétée par la glande pinéale (Khavinson *et al*, 2012).

2.3.1.2 Pinéaloocyte de type 2

Le type 2 est également connu comme étant les cellules de l'obscurité car elles se colorent à une forte densité lorsqu'elles sont observées sous microscope et elles apparaissent plus foncées à l'œil humain. Comme il a été indiqué par la recherche et la microscopie, ces cellules sont rondes, ovales, ou allongées avec un diamètre entre 7-11 micromètres (Al-Hussain, 2006). Le noyau des pinéaloocytes de type 2 contient plus d'invagination contenant de larges quantités de réticulum endoplasmique rugueux et des ribosomes (Al-Hussain, 2006). Une abondance des cils et des centrioles a été retrouvée au niveau de ces cellules de type 2 de la glande pinéale. Ce qui est spécifique au type 2 est la présence de vacuoles contenant une bicouche membranaire (Boya et Calvo, 1984). Comme le type 1 qui contient la sérotonine, les cellules de type 2 contiennent de la mélatonine et sont susceptibles d'avoir des caractéristiques similaires avec les cellules endocrines et neuronales (Khavinson et al, 2012).

2.3.2. Les cellules neurogliales

En plus des cellules sécrétrices (les pinéaloocytes), la glande pinéale renferme des cellules gliales de type macrogliale et microgliale, dont la fonction serait de réguler la synthèse et la sécrétion d'hormones (Echigo et Moriyama, 2004). Ces cellules sont souvent considérées comme des astrocytes (Sergey, 2012) et sont marquées par la S-100 β et la vimentine et la GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) mais elle comprend aussi de la microglie (Jiang-Shieh, 2003).

2.4. Fonction de la glande pinéale

La glande pinéale est l'organe terminal du système visuel et constitue un transducteur neurochimique (Touitou, 1988 ; Simonneaux et Ribelayga, 2003). Elle transforme les messages photopériodiques de notre environnement, arrivant par l'intermédiaire de la rétine et des noyaux suprachiasmatiques, en message chimique, son rôle fondamental est de renseigner le cerveau, par l'intermédiaire de la sécrétion de la mélatonine, sur les durées relatives et l'intensité de l'obscurité et de l'éclairement sur 24 heures mais aussi sur l'année (Arendt, 1988 ; Touitou, 1988 ; Arendt, 1998).

En relation étroite avec le SNC, elle est donc impliquée dans l'intégration d'informations environnementales pour synchroniser les fonctions circadiennes et saisonnières de l'organisme. La fonction de la glande pinéale est alors étroitement liée aux effets subséquents de cette synchronisation sur les rythmes physiologiques et comportementaux comme le sommeil, la

température corporelle, la reproduction, etc.... (Thieblot , 1981 ; Arendt, 1988 ; Arendt, 1998 ; Simonneaux et Ribelayga, 2003).

2.4.1. Rôle des pinéaloctes

Les pinéaloctes sont des cellules qui possèdent des fonctions neuroendocrines et photosensorielles. Elles sont classées parmi les « paraneurones », cellules d'origine neuroectoblastique capables de synthétiser un neurotransmetteur hormonal en réponse à un stimulus précis. Ces cellules ne sont plus directement photosensibles ; cependant, il peut intégrer l'information lumineuse qui arrive sous forme d'un message neuronal via l'innervation noradrénergique de la glande et transmettre cette information à l'ensemble de l'organisme par ses nombreuses expansions cytoplasmiques qui se terminent à proximité des vaisseaux sanguins.

Le pinéaloctes est donc un transducteur qui transforme un message nerveux en un message hormonal dont la fonction primaire est la sécrétion d'une hormone, la mélatonine ; qui est importante pour la régulation des rythmes circadiens (Boutin et al ; 2005).

2.4.2. Le produit de sécrétion du pinéaloctes : la Mélatonine

La mélatonine (Fig 5) est une neurohormone synthétisée au niveau de la glande pinéale pendant la période nocturne, quelle que soit l'espèce considérée. Le rythme de synthèse de la mélatonine est directement contrôlé par la photopériode (Redman et al, 1983 ; Thomas et Armstrong, 1988 ; Cassone, 1990 ; Pitrosky et al, 1999). La mélatonine sécrétée dans la circulation sanguine ou dans le liquide céphalo-rachidien transmet à toutes les structures centrales ou périphériques.

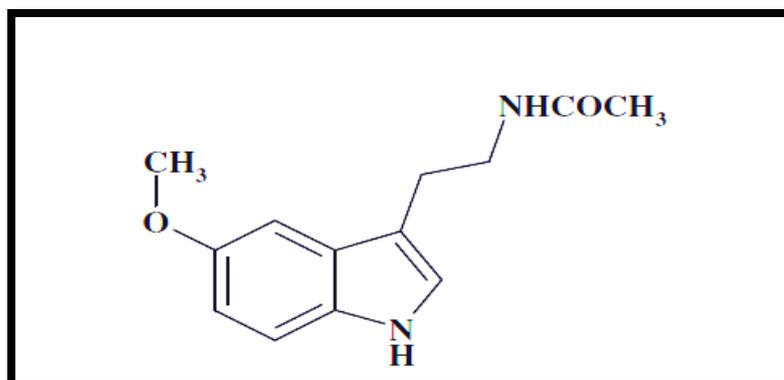


Figure 5 : N-acétyl-5-méthoxytryptamine ou mélatonine (Gard, 2002) .

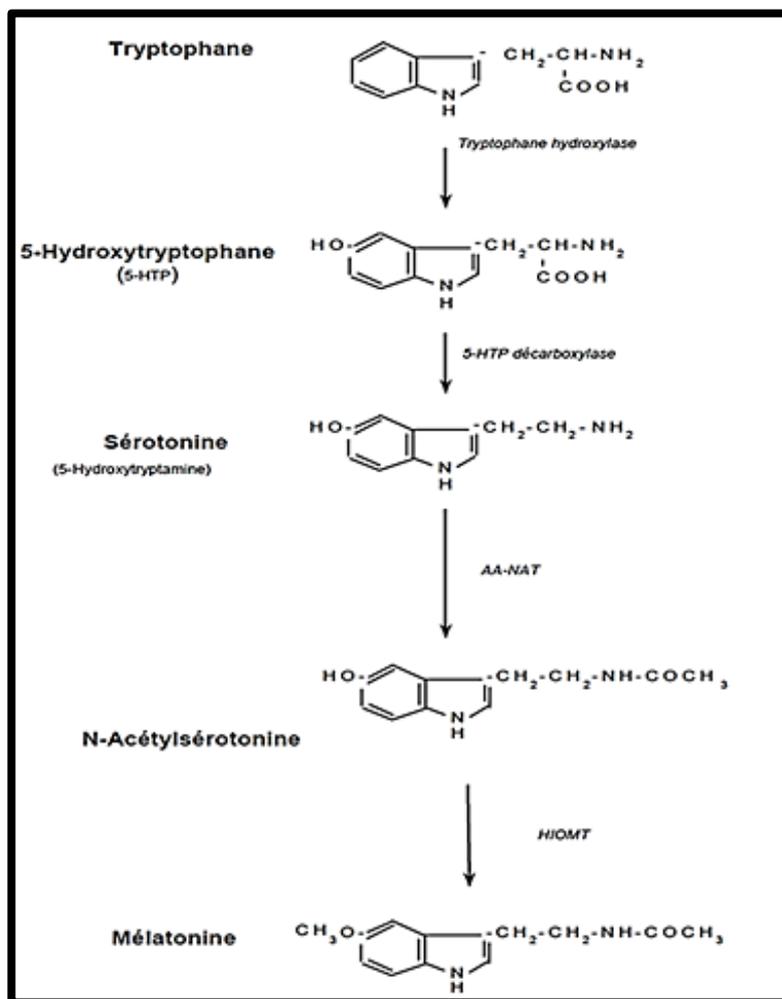


Figure 6 : Voie de biosynthèse de la mélatonine dans la glande pinéale des mammifères (Idelman et Verdeti, 2000).

Cette neurohormone est synthétisée à partir d'un neurotransmetteur, la sérotonine, qui dérive elle-même de la transformation d'un acide aminé précurseur, le L-tryptophane. Ce précurseur est d'abord hydroxylé par une enzyme Tryptophane hydroxylase (TPH) et ensuite décarboxylé pour donner la sérotonine (5HT, 5 hydroxytryptophane).

La sérotonine est ensuite N-acétylée par l'arylalkylamine N-acétyl-tranférase (AANAT), (Iuvone et al, 2005) et convertie en mélatonine par l'hydroxyindole-O-méthyltransférase (HIOMT) (Bernard et al, 1995) (Fig 6). La synthèse de la mélatonine est limitée par l'activité de ces trois enzymes : la TPH, l'AANAT et l'HIOMT. La TPH contrôle la disponibilité de la sérotonine alors que l'AANAT et l'HIOMT régulent la synthèse de mélatonine à partir de sérotonine. Ces enzymes sont soumises à de nombreuses régulations (Simonneaux et Ribelayga, 2003).

2.4.3. La régulation de la synthèse de la mélatonine

La régulation de la synthèse et la sécrétion de la mélatonine se fait via deux facteurs principaux : le rythme circadien (l'environnement lumineux) et l'âge.

Le facteur régulateur majeur est l'environnement lumineux. En effet, la glande pinéale produit de la mélatonine seulement la nuit au moment de l'obscurité (**Erlich et Apuzzo, 1985**). Ce rythme de sécrétion signifie donc qu'une information sur la perception lumineuse doit transiter de la rétine jusqu'à la glande pinéale. Les cellules photo-réceptrices de la rétine c'est-à-dire les bâtonnets et les cônes, impliqués dans la perception lumineuse, sont les premières cellules impliquées dans cette transmission. Au niveau du chiasma optique, ces fibres formées par les axones des cellules ganglionnaires rétiniennes divergent du système visuel classique et se terminent au niveau des noyaux supra-chiasmatiques de l'hypothalamus (**Moore, 1996**). Entre les noyaux supra-chiasmatiques et la glande pinéale plusieurs structures interviennent : les noyaux para-ventriculaires, la colonne intermedio-latérale de la moelle au niveau thoracique (neurone sympathique pré-ganglionnaire), le ganglion sympathique cervical supérieur (neurone sympathique post-ganglionnaire) et enfin par l'intermédiaire de fibres ganglionnaires noradrénergiques qui gagnent la glande pinéale après avoir traversé la tente du cervelet puis suivent les travées à l'intérieur du parenchyme pinéal le long des capillaires (**Reiter ,2003**) (Fig 7).

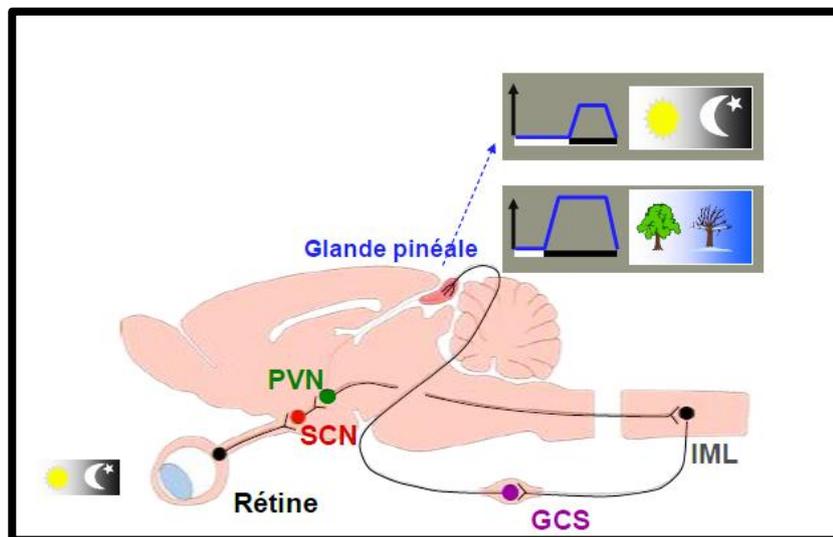


Figure 7 : Représentation schématique de la voie polyneuronalerétino-hypothalamo-pinéale, impliquée dans la synthèse de la mélatonine chez les mammifères. **GCS** : ganglions cervicaux supérieurs, **IML** : colonne intermédiolatérale, **PVN** : noyaux paraventriculaires hypothalamiques , **SCN** : noyaux suprachiasmatiques. (D'après **korf et al ,1998**).

Le second facteur est l'âge puisqu'il est observé avec le temps une altération du cycle de synthèse de la mélatonine avec une diminution de son taux de production nocturne (**Reiter, 1992**).

2.4.4. Le rôle de la mélatonine

La synthèse de MEL dans la glande pinéale est dépendante des variations journalières et saisonnières de l'environnement lumineux. Chez toutes les espèces, qu'elles soient diurnes ou nocturnes, elle est toujours sécrétée la nuit et la durée de cette sécrétion est dépendante de la durée de la nuit. la MEL est donc une hormone "donneuse de temps" qui joue un rôle fondamental dans le fonctionnement coordonné des processus biologique particulièrement dans le fonctionnement du système circadien chez de nombreux mammifères (**Vanecek et al, 1989 ; Williams, 1988 ; Gauer et al ,1994 ; Pevet 2003**) et donc par la dynamique de sa production nyctémérale et saisonnière, elle assure la synchronisation de fonctions physiologiques et de comportements sur des périodicités naturelles.

2.4.5. Rôle des cellules neurogliales

De plus de leur rôle de soutien la fonction principale des cellules neurogliales de l'épiphyse serait de réguler la synthèse et la sécrétion d'hormone qui est la mélatonine (**Echigo et Moriyama, 2004**) et cela par l'interaction avec les pinéaloocyte.

2.5. Interaction entre les pinéaloocytes et des cellules neurogliales

La modulation glutaminergique de la synthèse de la mélatonine est bien connue, de même que l'importance des astrocytes dans la médiation de la signalisation glutaminergique dans le système nerveux central (**Halassa et al, 2007**). Les pinéaloocytes et les astrocytes (**Vollrath, 1981 ; Calvo et al ,1988**) sont les principaux types cellulaires dans la glande pinéale.

Les résultats de l'étude des interactions entre les astrocytes et les pinéaloocytes comme faisant partie de l'effet inhibiteur du glutamate sur la synthèse mélatoninique (**Kim, 2008**), ont montré que l'effet inhibiteur du glutamate sur la synthèse de la mélatonine implique des interactions entre les astrocytes et les pinéaloocytes, éventuellement par la libération du TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha). En outre, l'activation du NF-kB (Nuclear Factor –Kappa B) astrocytique semble être une étape nécessaire (**Markus et al, 2013**). Dans les astrocytes et les pinéaloocytes, l'Alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acidreceptor (AMPA), leN-Methyl-D-asparticacid ou N-Methyl-D-aspartate (NMDA), et le groupe I métabotropique

des récepteurs du glutamate ont été observés, ainsi qu'une élévation du calcium intracellulaire (Ville *et al*, 2013).

La modulation de la synthèse de mélatonine par le glutamate implique des interactions paracrines entre les pinéaloctes et les astrocytes par l'activation du NF- κ B facteur de transcription astrocytaire et éventuellement par la libération du TNF- α (Ville *et al*, 2013). Le glutamate agit sur les récepteurs du glutamate (AMPA, NMDA et/ou mGluR 1/5) dans les astrocytes, ce qui augmente la concentration de calcium intracellulaire, permet de promouvoir l'activation du NF- κ B, et entraîner la libération d'un facteur soluble, le TNF- α , qui agit indépendamment ou avec le glutamate dans les pinéaloctes, résultant en une inhibition de la synthèse de la mélatonine (Ville *et al*, 2013).

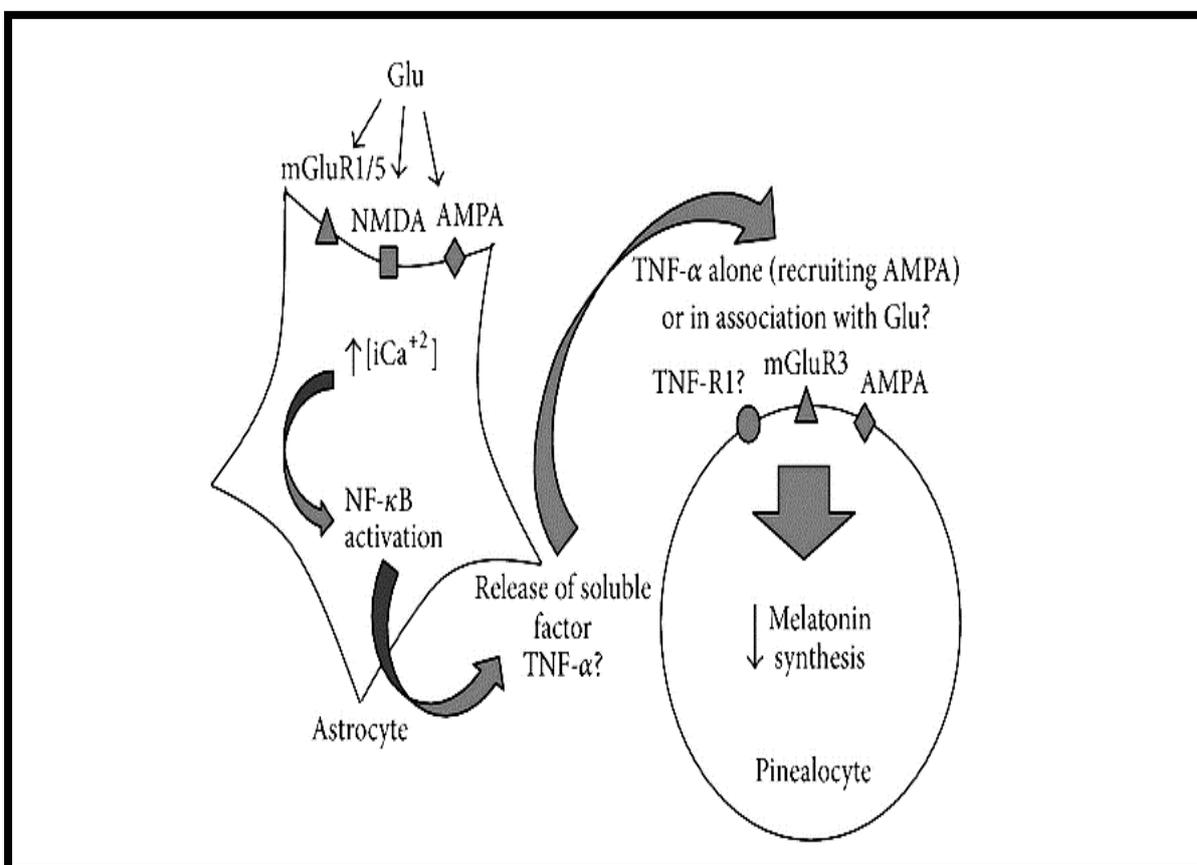


Figure 8 : Diagramme illustrant l'interaction paracrine entre les pinéaloctes et les astrocytes dans la modulation de la synthèse de la mélatonine par le glutamate.

De plus, la glande pinéale joue un rôle intégrateur dans les réponses immunitaires (**Markus et al, 2007 ; Srinivasan, 2010**). La suppression (induite par des blessures) de l'hormone de la glande pinéale : la mélatonine, qui est déclenchée par l'obscurité, permet la mise en place de réponses immunitaires innées.

3. le dromadaire et ses particularités adaptatives

Le dromadaire est connu pour sa résistance à la soif (**Bengoumi et Faye, 2002**), à la chaleur (**Yagil , 1985**), à la sous-alimentation protéique et minérale (**Faye et Bengoumi, 2000**). Pour faire face aux contraintes du milieu désertique, le dromadaire a développé un certain nombre de facultés physiologiques qui lui ont conféré une légendaire réputation.

Cette adaptation n'est pas limitée aux mécanismes physiologiques mais souvent intimement associée à son anatomie et à son comportement particulier mais chacun de ces caractères se renforçant les uns les autres. Il est donc souvent difficile de distinguer quelle adaptation contribue le plus à une capacité de l'organisme à survivre et prospérer dans un environnement difficile (**Wilson, 1989**).

Les particularités adaptatives du dromadaire sur le plan nutritionnel sont liées d'une part à sa physiologie de la nutrition tournée vers une alimentation souvent de faible valeur nutritive et d'autre part à sa capacité métabolique surprenante et remarquable (**Faye et Bengoumi, 2000**). Cependant, bien que le dromadaire soit habitué à survivre dans l'univers minéral des zones arides et semi-arides, il n'échappe pas aux risques d'une alimentation déficitaire en éléments minéraux majeurs ou mineurs (**Kayouli et al, 1995**).

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

1. Lieu de réalisation des étapes expérimentales

Le prélèvement a été réalisé au niveau de la wilayat d'El Oued, les manipulations histologiques et immunohistochimiques ont été réalisées au niveau de laboratoire d'anatomie pathologique du centre Pierre et Marie Curie (CPMC).

2. Matériel biologique

Le modèle animal choisie dans notre étude est le dromadaire issu de nos régions désertiques *Camelus dromedarius* (Fig 9). C'est un mammifère de la famille des camélidés à une seule bosse. Le matériel biologique comprend les glandes pinéales (épiphyses) du dromadaire.

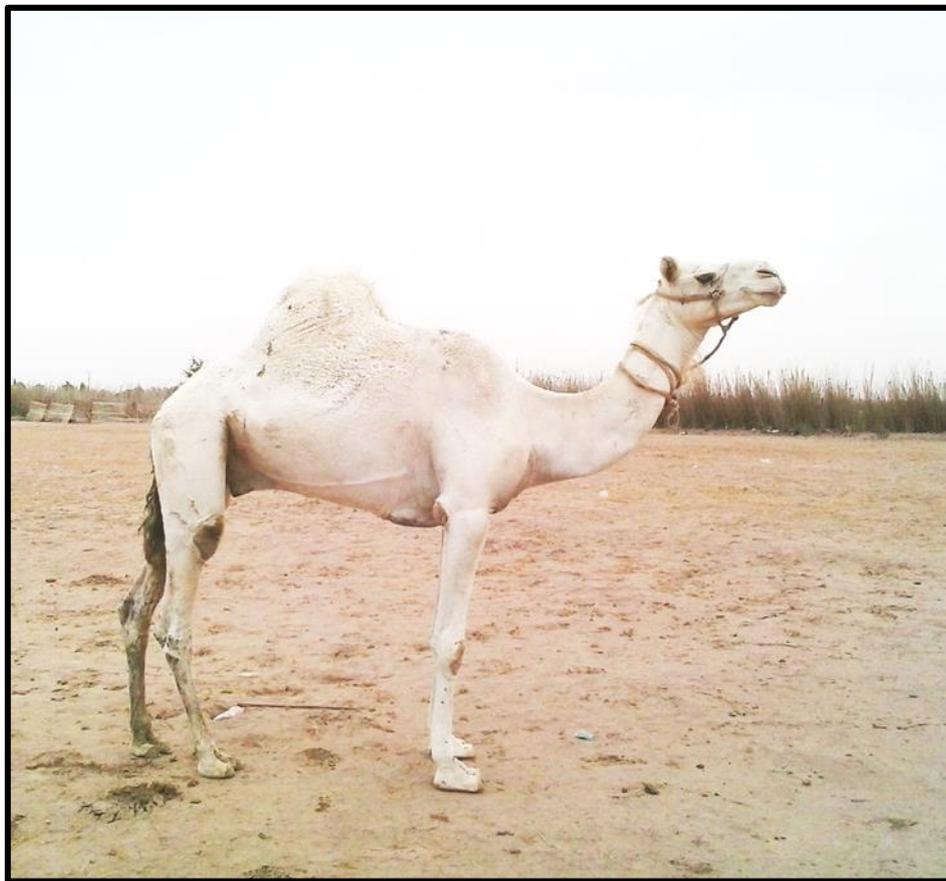


Figure 9 : le dromadaire (*Camelus dromedarius*)

2.1. Milieu naturel du dromadaire

Peyre (1989) a signalé que de tous les animaux, le dromadaire est le plus adapté aux régions chaudes à climat subdésertique et désertique des domaines méditerranéen, tropical et subtropical. Ces régions sont caractérisées par la rareté de ressources hydriques et par une végétation spontanée éparse. C'est le milieu naturel le plus pauvre des paysages pastoraux avant le désert. Ce milieu a une vocation pastorale d'autant plus exclusive que l'agriculture y est impossible. Les climats de l'aire de répartition du dromadaire sont caractérisés par : Une pluviosité faible et très variable d'une année à l'autre, une longue saison sèche et une grande amplitude thermique nyctémérale et saisonnière.

La région d'El-Oued se caractérise par un climat aride de type saharien désertique. En hiver la température baisse au-dessous de 0°C alors qu'en été elle atteint 50°C; la pluviométrie moyenne varie entre 80 et 100 mm/an (période d'octobre à février). Le Sirocco (vent chaud et sec) peut être observé durant toute l'année.

2.2.. Écophysiologie de l'animal

Le dromadaire est un tylopode, digitigrade, herbivore et ruminant. Il peut atteindre jusqu'à 2,25 mètres au garrot et peser entre 450 et 900 kg. Son espérance de vie peut atteindre 40 ans, mais une défaillance de la denture la limite en général à 20 ans (Faye, 1997).

D'après Wilson (1989), le dromadaire est très distinct des autres animaux domestiques, notamment par la présence d'une large tête et un long cou, d'une bosse et de la callosité au niveau de sternum. La tête et le cou sont larges. L'animal ne possède pas de cornes, les oreilles sont petites, les yeux larges et saillants, les narines longues, la lèvre supérieure est divisée, fendue, poilue, extensible et très sensitive, la lèvre inférieure est large et pendante, les membres sont puissants.

La peau est souple recouverte de poils. Le rallongement est souvent au niveau des épaules et de la bosse, la couleur des poils est généralement brune variant du chocolat foncé à presque noir au rouge ou rouille fauve à presque blanche chez quelques types.

La température interne du dromadaire varie en fonction de la température externe, et supporte des écarts compris entre 34°C lors de nuits fraîches et atteint 42°C en période chaude (Faye, 1997).

La puberté est atteinte à trois ans, mais la mise à la reproduction du mâle se fait vers 6 ans, et celle de la femelle vers 3-4 ans. On recommande en effet de ne pas mettre une femelle à la reproduction avant qu'elle n'ait atteint 70% de son poids adulte (Zarrouk *et al*, 2003).

La gestation dure 12 à 13 mois avec un intervalle de 2 ans. Une femelle peut se reproduire jusqu'à 20 ans environ, ayant engendré 7 à 8 chamelons (Faye, 1997).

3. Méthodes expérimentales

Notre étude a porté sur sept dromadaires (*Camelus dromedarius*) adultes d'âge plus de 5 ans avec un poids allant de 450-500 Kg.

3.1. Prélèvement des échantillons

La présente étude a été réalisée en effectuant des prélèvements sur des dromadaires par l'équipe de l'abattoir municipal de la ville d'El Oued. Les animaux provenant des élevages de la région étaient maintenus sous des conditions de photopériodes et de température ambiante de l'environnement extérieur jusqu'à leurs abattage, effectué en été (juillet) à 23h00 (obscurité totale). L'abattage a été réalisé selon le rituel islamique nommé "A Nahre ". Après l'abattage le cerveau est d'abord dégagé de la boîte crânienne puis la glande est recherchée dans la partie supérieure du cerveau entre les deux hémisphères cérébraux. En suite la glande pinéale du dromadaire est prélevée.



Figure 10 : Dromadaires dans la salle d'abattage : les animaux sont regroupés dans la salle d'abattage, et contentionnés en position de décubitus sternal.

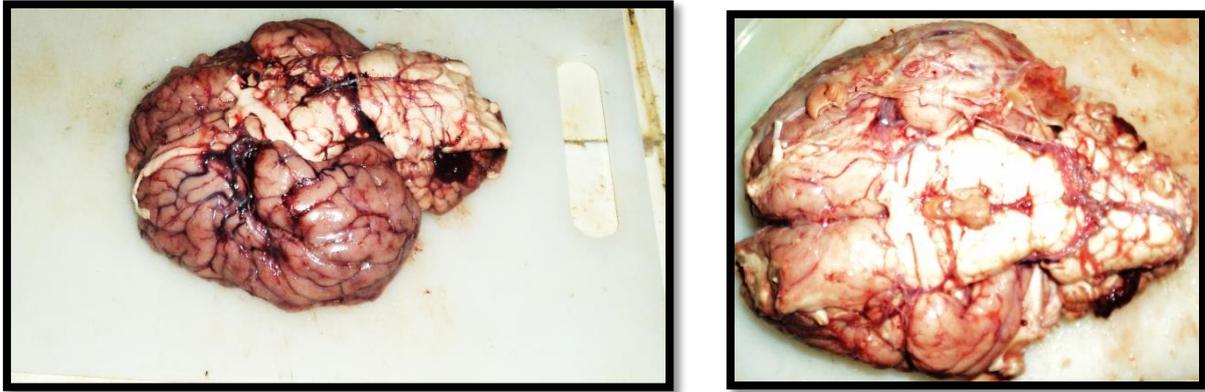


Figure 11 : Cerveau du dromadaire prélevé pour la dissection de la glande pinéal

La glande est par la suite fixée dans le formaldéhyde à 10%, pH : 7,2 (voir l'annexe). Ceci dans le but de préserver le tissu à un état aussi proche que possible de l'état vivant et s'opposer à l'autolyse tissulaire.

3.2. Technique histologique

3.2.1. Déshydratation du tissu

Le principe consiste à placer le prélèvement dans des bains d'éthanol à concentration croissante : 70°, 90°, 95° et 100°. Les échantillons sont placés par la suite dans deux bains de xylène pour subir l'éclaircissement. La durée est d'une heure (1h) pour chaque bain sauf pour l'alcool 100° et le xylène qui est de deux heures (2h).

Le but de la déshydratation permet d'éliminer l'eau qui existe en grande quantité dans le tissu.

3.1.2. Imprégnation

C'est une étape qui consiste à faire pénétrer la paraffine dans le tissu afin de le rendre plus rigide. Elle s'effectue à chaud dans 2 bains de paraffine liquéfiée à chaud à 60 °C avec une durée de deux heures (2h) pour chacun bain.

3.1.3. Inclusion à la paraffine

Le principe consiste à inclure les fragments dans des blocs de paraffine grâce à un appareil d'inclusion, selon les étapes suivantes : préchauffage des moules et des cassettes dans une console thermique, par la suite mise en place centrée du tissu dans le moule à moitié rempli de paraffine, à l'aide d'une pince. Après refroidissement sur une plaque réfrigérante, un bloc de paraffine dur est obtenu.

Le but de cette étape est l'obtention d'un bloc de paraffine prêt pour la microtomie.

3.1.4. Confection des coupes

Les blocs sont débités au microtome de type *minot* en coupes fines d'environ 5 µm d'épaisseur.

3.2.5. Préparation des lames gélatinées

Les lames doivent être incluses dans de l'alcool et l'acide chlorhydrique pour être dégraissées ensuite lavées et rincées. Dans une solution composée de mélange gélatine/alun de chrome les lames sont trempées puis mises à sécher à température ambiante pendant 24h (voir annexe).

Le but de cette préparation des lames gélatinées est d'éviter le décollement des coupes notamment lors des manipulations IHC.

3.2.6. Etalement des coupes

Les rubans sont ramollis dans un bain marie à 45°C, puis recueillis sur des lames en verre, préalablement numérotées à l'aide d'un crayon diamant. Après séchage sur une plaque chauffante, les lames sont mises dans une étuve à 60°C pendant 15 minutes.

3.3. Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (HE)

La méthode HE est une coloration de routine, utilisée dans le but d'obtenir une topographie générale de l'échantillon.

C'est une combinaison entre deux colorants, l'un basique hématoxyline qui colore le noyau (basophile) en bleu violacé et l'autre acide éosine qui confère une coloration rose au cytoplasme (acidophile).

- **Principe**

D'abord on procède au déparaffinage de l'échantillon en le passant dans trois bains de xylène d'environ 3 à 5 min chacun. Ensuite, nous avons procédé à l'hydratation par passage dans trois bains d'alcool de concentration décroissante (100°, 95°, 75) pendant 2 min pour chaque bain. Dans le but de retirer le xylène et de le remplacer par de l'eau. Nous avons procédé au rinçage à l'eau courante, puis on le passe dans une solution de carbonate de lithium (Li₂CO₃). On effectue un autre rinçage à l'eau courante, puis on procède à l'étape de coloration à l'éosine suivie par un autre rinçage. Par la suite de cela, nous procédons à une étape de Déshydratation par passage dans l'éthanol à 95° puis 100° pendant 1 min. La dernière étape est celle de

l'éclaircissement par passage dans 2 bains de xylène de 30 à 60 secondes chacun. Enfin on procède au Montage sur lame à l'aide de milieu synthétique Eukitt.

3.4. Immuno-Histochimie (S-100 β , la vimentine, l' α actine muscle lisse)

L'IHC est une méthode immuno-enzymatique qui permet de localiser les Ag membranaires, cytoplasmiques, nucléaires, ou des protéines de la matrice extracellulaire, grâce à des Ac spécifiquement dirigés contre eux, ces derniers permettent l'amplification du marquage par un système de révélation dont l'avantage est de fixer les molécules de chromogènes permettant de mieux visualiser le complexe Ag-Ac visible au microscope optique.

3.4.1. Déparaffinage et réhydratation des coupes

Le but de cette étape est l'élimination de la paraffine et la réhydratation du tissu pour permettre la rentrée des réactifs

Le déparaffinage, consiste à placer les lames dans l'étuve pendant 24 h afin d'éliminer l'excès de paraffine. Les coupes sont passées par la suite dans 4 bains de xylène, 5 minutes chacun. Nous avons effectuée ensuite une réhydratation, en passant les lames dans 4 bains d'alcool de degré décroissant de 100°, 95°, 90°, 70°, pendant 5 minutes. Le dernier bain consiste en un rinçage des coupes dans de l'eau distillée.

3.4.2. Prétraitement du tissu

3.4.2.1 Démasquage antigénique

Le but de cette étape pour exposer le site antigénique à l'Ac.

Le principe est de réaliser un démasquage antigénique dans une solution de démasquage composé de citrate de pH=9 (voir annexe), Les coupes sont mises pendant 40 min à 97° C, puis refroidies 20 min à température ambiante, puis rincées à l'eau distillée.

3.4.2.2. Blocage des peroxydases endogènes

Les coupes sont incubées dans une solution d'eau oxygénée (H_2O_2) 3 % pendant 5 minutes dans le but de neutraliser l'activité de peroxydase endogène. Les lames sont par la suite lavées à l'eau distillée.

3.5. Immunomarquage et révélation

Après un lavage à l'eau distillée, un rinçage au tampon PBS est effectué (voir annexe). Ensuite les AC primaires spécifiques des antigènes à rechercher ont été appliqués à leurs dilutions adéquates (voire type, source et dilution dans le tableau 1) et pendant une durée de 30 minutes à température ambiante ou pendant 15h à 4° C pour celles montées dans la chambre d'incubation. Les coupes sont rincées par la suite avec du Tp PBS deux fois pendant 5 minutes puis incubées avec l'AC secondaire couplé à la peroxydase pendant 30 minutes suivi par un rinçage au PBS pendant 5 minutes. Les coupes sont par la suite incubées avec un substrat utilisé pour la révélation de l'activité peroxydase qu'est l' amino-3-éthyl-9- carbazole (DAB) pendant 5 à 15 minutes. Enfin, la réaction est stoppée par un lavage à l'eau distillée.

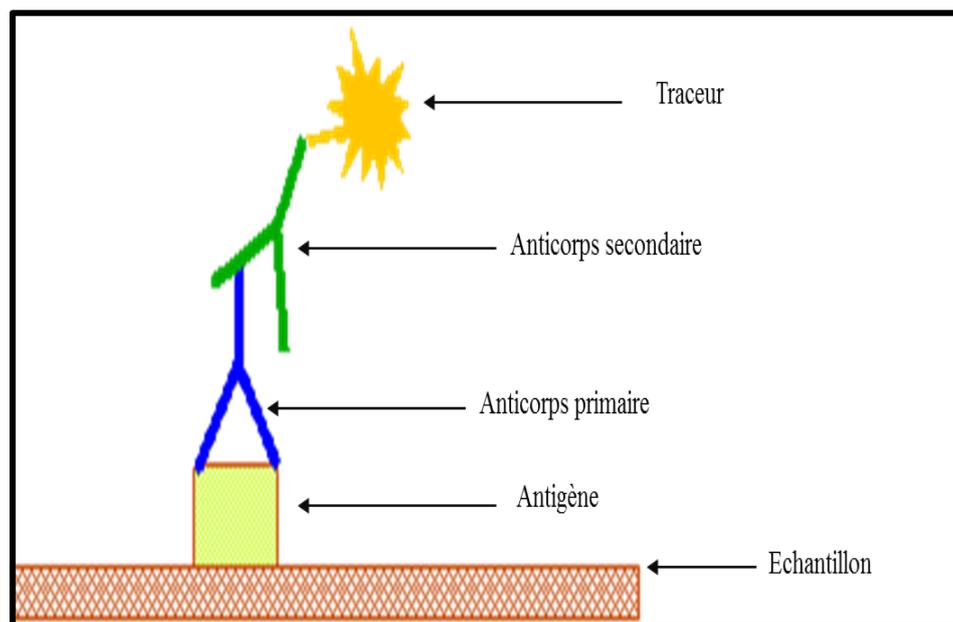


Figure 12 : principe de la méthode indirecte de l'immunomarquage.

Tableau 1 : Nature, sources et dilutions des Ac utilisés

Antigène	Anticorp	Clone	Type	Origine	Dilution
isoforme de l'actine de 34 KDa	Anti- α actine muscle lisse	IA4	Monoclonal	Dako (pr . Terki Centre pierre et Marie Curie , Alger)	1/100
Holoprotéine dimérique 21 KDa appartenant a la grande famille des protéines liant le calcium , abondant dans les astrocytes réactifs	Anti-S100b	IA4	polyclonal	Dako (pr . Terki Centre pierre et Marie Curie , Alger)	1/400
Protéine de 57 KDa appartenant a la famille des filaments intermédiaires	Anti-vimentine	V9	Monoclonal	Dako (pr . Terki Centre pierre et Marie Curie , Alger)	1/100

3.6. Contre-coloration à l'Hématoxyline de Meyer

Principe : Dans cette étape, les coupes immunomarquées sont plongées dans un bac contenant de l'Hématoxyline de Meyer pendant 3 minutes. Ensuite elles sont lavées à l'eau courante puis rincées à l'eau d'ammoniaque (ammoniaque hydrogène NH_3 37 mM) (voir annexe).

Cette étape permet de visualiser les noyaux des cellules et cela est dû à une réaction basophile entre le noyau acide due à la présence des acides nucléiques et le colorant basique d'hématoxyline.

3.7. Montage des coupes

Le montage entre lame et lamelle, permet la conservation illimitée ou transitoire des coupes traitées par les réactifs.

Principe : un montage des coupes avec le faramount (AqueousMounting medium Réf. S3025, Dako) pour l'observation.

3.8. Analyses microscopique et acquisition d'images

Les coupes sont observées et prises en photos par un appareil numérique de type *Canon Power Shot A620* adapté à un microscope photonique de type *Zeiss Axiostar plus*, les photos sont par la suite analysées et discutées .

Chapitre III

Résultats

I. Structure de la glande pinéale du dromadaire

L'étude histologique a permis de donner des informations sur l'aspect structural général de la glande ainsi que la topographie des cellules qui la composent.

L'étude immunohistochimique (IHC) nous a permis en premier lieu de mettre en évidence l'expression différentielle de certains marqueurs de cytosquelette (actine muscle lisse, vimentine), protéines importantes pour l'architecture et les mouvements cellulaires.

Finalement, l'IHC nous a permis aussi de déterminer la présence des astrocytes par le marqueur glial spécifique à l'astrocytes : S-100 β .

Les figures suivantes représentent des coupes histologiques de la glande pinéale du *camelus dromedarius* colorées à l'hématéine éosine et des photographies de l'immunomarquage à α actine muscle lisse, vimentine, S-100 β observées au grossissement total : $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$, et $\times 1000$.

II. Aspect cellulaire de la glande pinéale

Cette coupe histologique met en évidence l'architecture de la glande pinéale du dromadaire, ainsi que la distribution cellulaire.

Au niveau de cette coupe, nous constatons la présence d'un large réseau fibreux distribué dans tout le parenchyme de la glande. Nous remarquons aussi que ce réseau comprend à l'intérieur deux classes cellulaires d'aspect différent, dont la distribution est adjacente (fig 12)

II.1. Etude de la distribution de la α -actine muscle lisse au niveau de la glande pinéale

L' α actine muscle lisse est une classe des protéines des filaments d'actine, cette protéine est en grande partie impliquée dans les modifications et les mouvements cellulaires et membranaires. Nous avons tenté ici d'étudier sa distribution au niveau de la glande pinéale pour le but de comprendre la motilité et la plasticité cellulaires pouvant exister au sein de cette glande.

L'immunomarquage de l' α actine muscle lisse montre la présence d'une hypervascularisation au niveau de la glande pinéale (fig 13).

Au niveau de ces coupes histologiques, l' α actine muscle lisse est présente dans tous le parenchyme de la glande (fig 13c et d) à l'exception des amas cellulaires qui sont fortement marquées dans tous leur périphérie (fig 14c)

On outre, il est bien évident que le marquage est intensément présent autour des vaisseaux sanguins (fig 14a, b et c) (fig 15a et b) ainsi que à la périphérie des travées de la capsule de la glande pinéale.

II.2. Etude de la distribution de la S-100 β au niveau de la glande pinéale

La S-100 β est positivement réactive à son Ac au niveau de la glande pinéale (fig 16).

La S-100 β est une protéine liant le calcium, et marqueur spécifique pour les astrocytes, nous avons procédé à son immunomarquage pour voir la distribution des astrocytes au sein de la glande pinéale du dromadaire.

Au niveau des coupes histologique de la glande pinéale , le marquage de la S-100 β est présent présent dans tout le parenchyme de la glande (fig 16 a) néanmoins , sa distribution est intensément présent autour des vaisseaux sanguins (fig 16 b ,c et d) ainsi que a la périphérie des amas cellulaire (fig 16 a et b)et des travées de la capsule de la glande (fig 16 e) .

II.3. Etude de la distribution de la vimentine au niveau de la glande pinéale

La vimentine est une protéine du cytosquelette appartenant à la famille des filaments intermédiaires, nous avons utilisé la vimentine comme marqueurs d'étudier l'élasticité des cellules gliales au sein de la glande pinéale.

Sur les coupes histologique de cette dernier, il semble que la vimentine sont présent au niveau des amas cellulaires et à la périphérie vasculaire (fig 17a et b).

De plus, nous constatons un marquage très intense au niveau des vaisseaux sanguins (fig 17e).

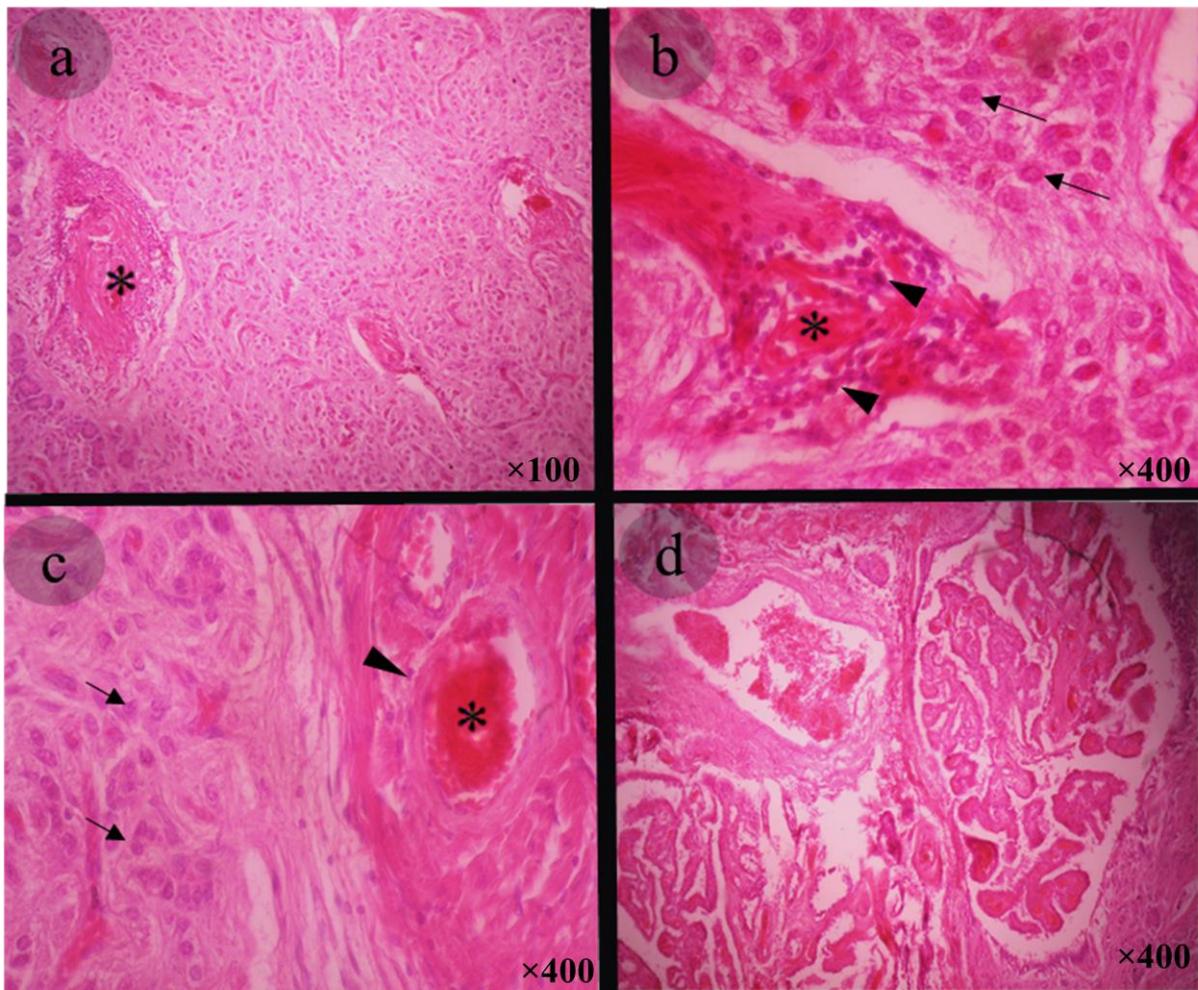


Figure 12 : Coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire colorées à l'hématoxyline éosine, G×100, G×400.

- (a,b ,c) distribution des cellules gliale (têtes flèches) et des pinéalocytes (flèches) dans le parenchyme de la glande pinéale avec une forte concentration de ces deux types cellulaire à la périphérie des vaisseaux sanguins (Asterisk) .
- (d) travées de la capsule de la glande pinéale.

Technique : coloration à hématoxyline éosine.

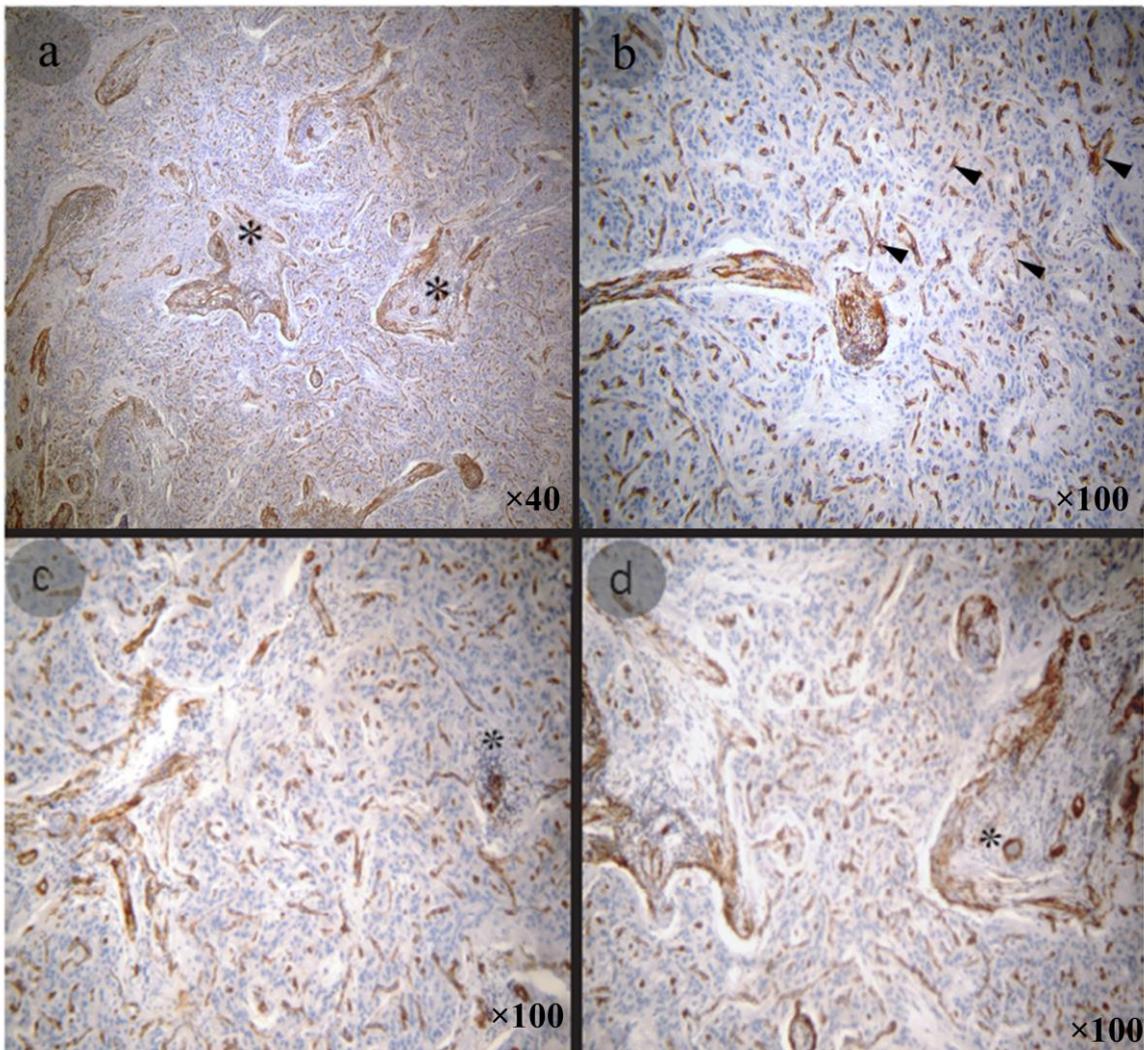


Figure 13 : Coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marqué à α actine muscle lisse ; G \times 40, G \times 100.

- (a,b) Présence d' une hypervascularisation au niveau de la glande pinéale du dromadaire ainsi que des plages cellulaire(Asterisk) entouré par des cordons filamenteux (têtes flèches) , au niveau de ces plages on trouve aussi des cellules à grand noyau colorées a hématoxyline de Myer .
- (c, d) Au fort grossissement, ces amas cellulaires semblent renfermer un ensemble de noyaux cellulaires (Asterisk) avec des vaisseaux V (vaisseau).

Technique : Immunomarquage par l'anti- actine, contre coloration hématoxyline de Myer.

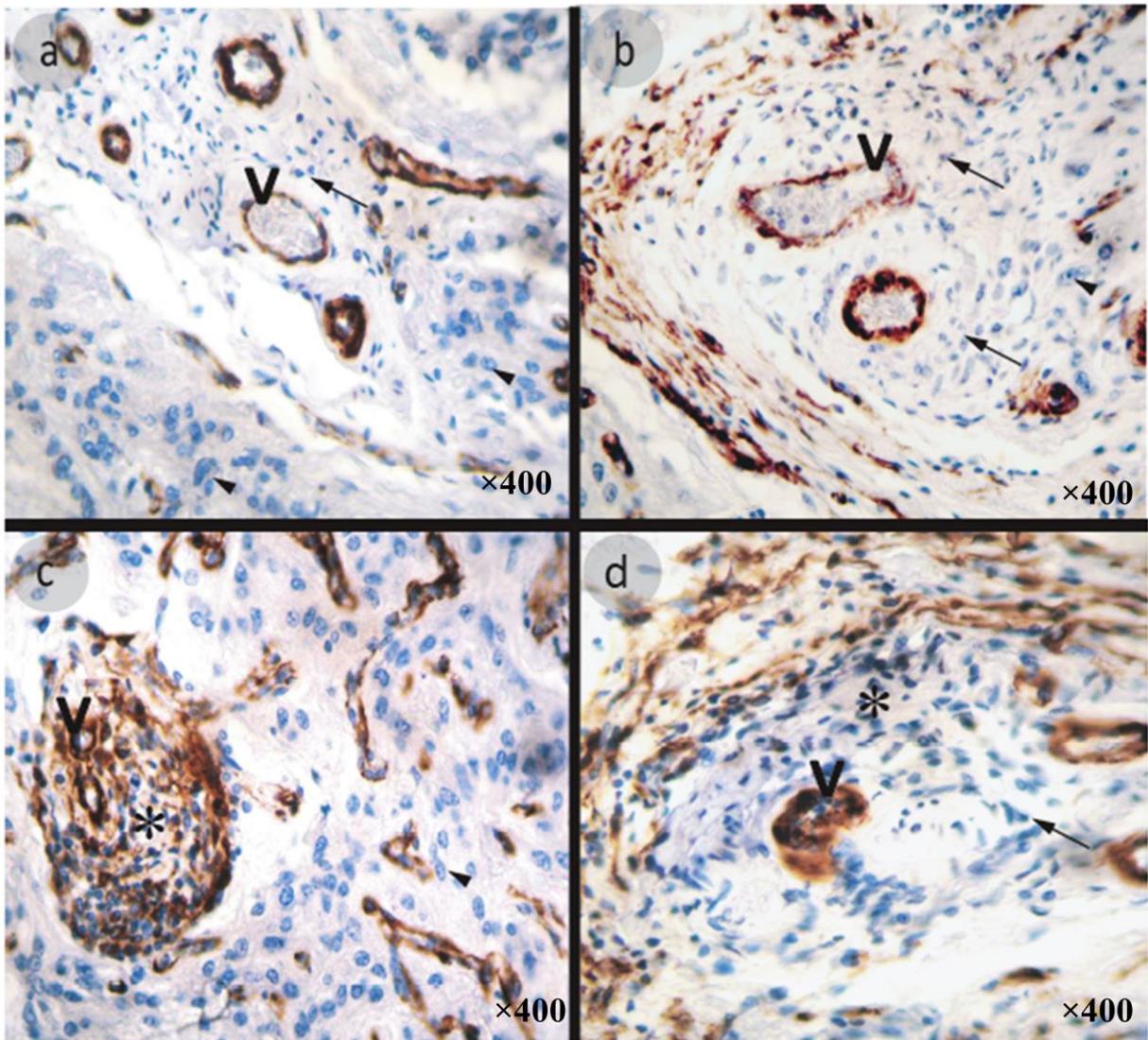


Figure 14 : Coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marqué à α actine muscle lisse, G \times 400.

- (a, b) présence de plusieurs vaisseaux sanguins (v), présence de deux types cellulaires : des cellules à grand noyau (têtes de flèches) et des cellules à petit noyau aplati (flèches).
- (c) présence de plages cellulaires avec des noyaux arrondies (Aterisk) et des vaisseaux.
- A noter une forte expression du marquage autour des vaisseaux.
- (d) présence des plages avec des petites cellules à noyau aplati (flèches) avec des cordons filamenteux dans le parenchyme de la glande pinéale.

Technique : immunomarquage par l'anti- actine, contre coloration hématoxyline de Myer.

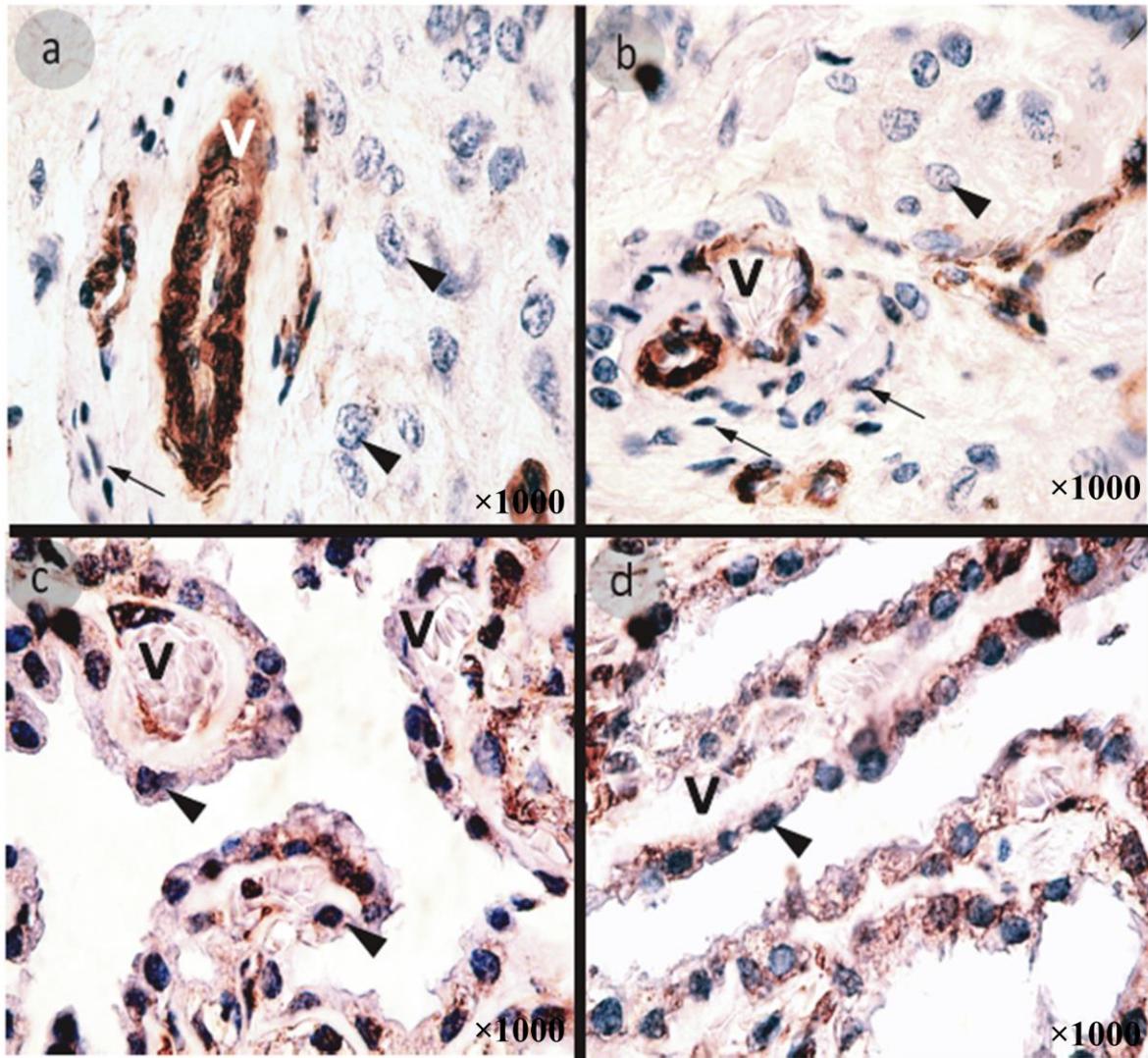


Figure 15 : coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marqué à α actine muscle lisse, G \times 1000.

- (a, b) présence de plusieurs vaisseaux sanguins (v), cellule à grand noyau (têtes flèches), et cellules a petit noyau (flèches)
- A noter que les cellules à petit noyaux sont retrouvées généralement à la périphérie des vaisseaux (v).
- (c, d) Présence des travées (septa) de la capsule pinéale qui dissocient le parenchyme et qui sont entouré par des cellules à grand noyau.

Technique : Immunomarquage par l'anti- actine, contre coloration hématoxyline de Myer.

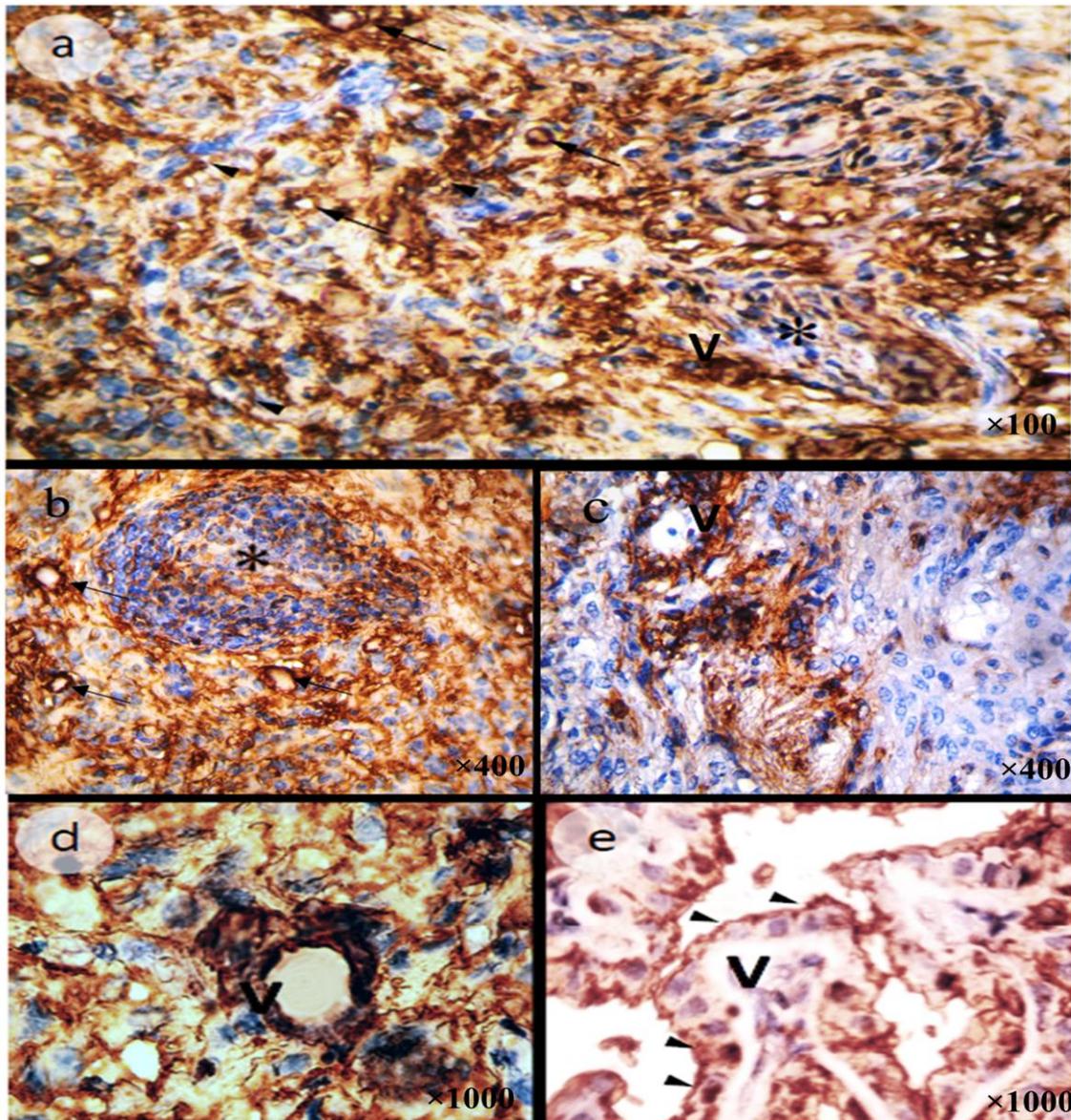


Figure 16 : Coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marquée au S-100 β , G \times 100, G \times 400, G \times 1000.

- (a, b) la distribution du S-100 β au niveau du parenchyme de la glande et à la périphérie des vaisseaux (flèches), au niveau des plages cellulaires (Asterisk) il forme un réseau continu (têtes de flèches).
- (c, d, e) au fort grossissement, le S-100 β est intensément présent autour des vaisseaux sanguins (v).
- A noter a (c) la présence du marquage au niveau de la paroi des vaisseaux sanguins et des plages cellulaires.
- (e) la présence du marquage (têtes de flèches) au niveau des travées pinéale.

Technique : Immunoperoxydase/DAB, contre coloration Hématoxylline de Mayer.

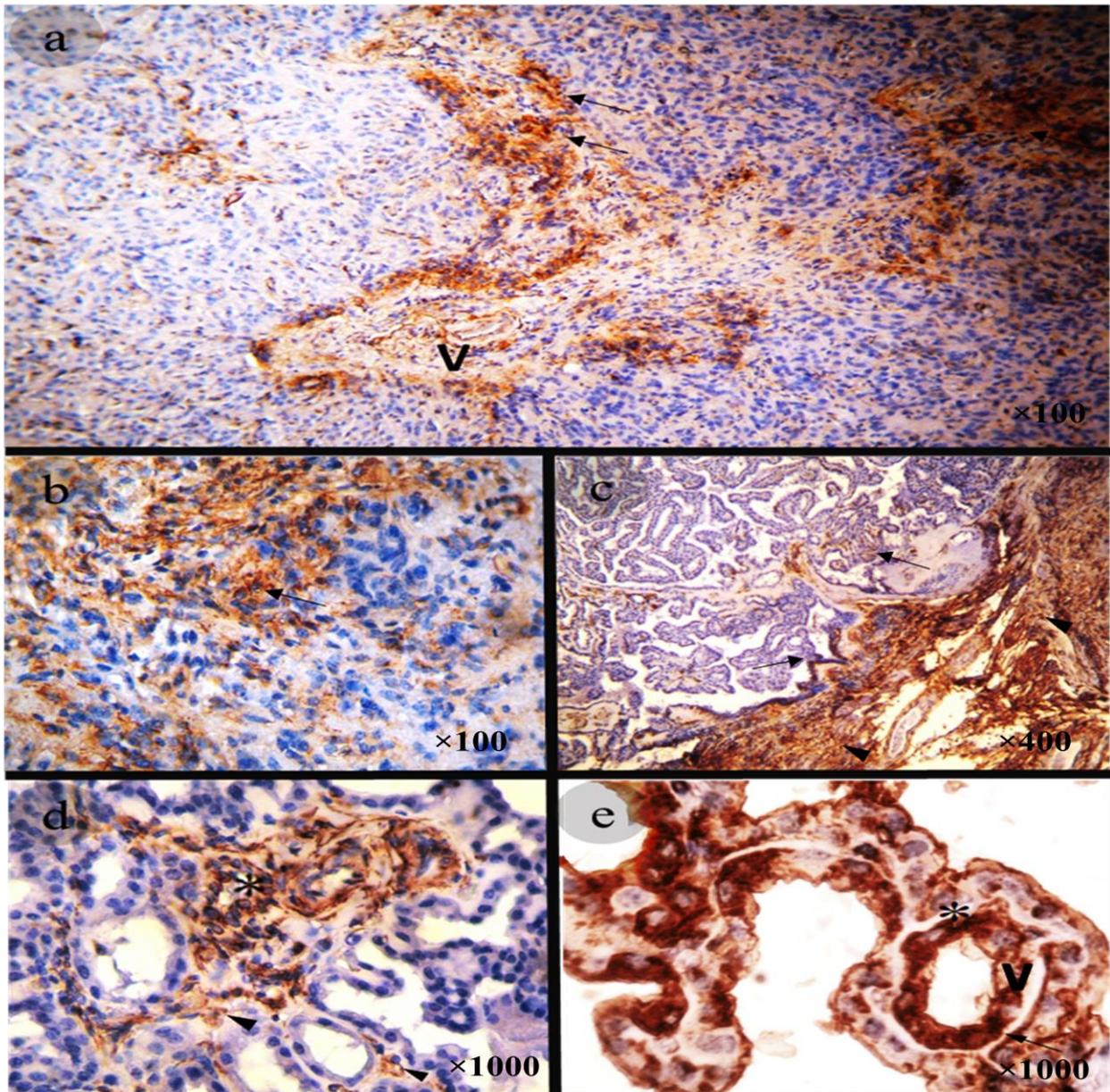


Figure 17 : Coupes histologiques de la glande pinéale du dromadaire marquée au vimentine, G× 100, G×400, G×1000.

- (a, b) Distribution de la vimentine au niveau des amas cellulaires et à la périphérie vasculaire (flèches).
- (c) Immunomarquage très intense observé dans la capsule pinéale (têtes flèches) avec la présence des travées de la capsule (flèches).
- (d, e) au fort grossissement, le marquage est retrouvé au niveau des cordons vasculaires (Asterisk) filamenteux, nous constatons aussi la présence des cellules à grand noyau (tête de flèches) à la périphérie des vaisseaux(v).

Technique : Immunomarquage de l'anti-vimentine, contre coloration hematoxyline de Mayer.

Chapitre IV

Discussion

Les analyses histologique et immunohistochimique avec la S-100 β , vimentine et l' α actine muscle lisse de la glande pinéale nous ont permis à la fois de comprendre l'architecture de la glande pinéale, de caractériser sa composante cellulaire ainsi que de déduire de possible interactions entre ses différents composants.

Concernant la structure générale, nos résultats histologiques montrent la présence d'un réseau fibreux distribué dans tout le parenchyme de la glande. En effet, des études antérieures ont démontrés que la glande pinéale chez le rat est limitée par une capsule filamenteuse, qui envoie des travées contenant des vaisseaux et des nerfs dans l'épaisseur de l'organe et donne un aspect lobulé au parenchyme pinéal (**Girolami et al, 2008**).

Du point de vue composant cellulaire, la glande renferme en plus grande partie des cellules de type neuronal : les pinéaloctes qui se regroupent en amas dans les lobules, ceci a été rapporté par Lindstrom et Lopes, dans la description de la glande pinéale chez l'Homme et aussi des neurones innervant la glande (**Lindstrom et Lopes, 2010**).

Le pinéaloctes est une petite cellule glandulaire, mesurant 10 à 12 μ de diamètre, qui possède un noyau arrondi ou réniforme, à la chromatine dense et claire avec un petit nucléole, et un cytoplasme finement granuleux qui présente des prolongements en forme de club de golf au contact des vaisseaux (**Fauchon et al, 2005**).

Nos analyses montrent l'existence d'un autre type cellulaire de type glial : nous n'avons pas pu spécifier le type exact de la glie car nous avons utilisé des Ac standards qui ciblent de manière générale ces cellules. En effet, Jiang-Shieh décrit l'existence d'un type microglial. D'autres auteurs rapportent un type d'astrocytes fibrillaires (**Vollrath, 1981 ; Calvo et al, 1988 ; Villela, 2013**), Les astrocytes fibreux présentent de longs prolongements radiaires et sont riches en filaments intermédiaires (**Gunong, 2005**). Ceci a été mis en évidence par les Ac anti-vimentine et anti- α -actine.

En effet, dans le but de cibler les cellules gliales dans la glande pinéale nous avons utilisé l'anticorps anti-vimentine capable de reconnaître les filaments intermédiaires retrouvés dans les astrocytes. Les résultats issus de ce marquage montrent un marquage intense au niveau du parenchyme de la glande. Les études de Boya et Calvo ont démontré la présence de la vimentine au

niveau de la glande pinéale du chat et chien. Cette même protéine a aussi été mise en évidence chez le rat spécifiquement au niveau des astrocytes (**Kofler et al, 2002**).

La vimentine, une protéine du cytosquelette appartenant à la famille des protéines unitaires des filaments intermédiaires, est généralement connue comme une protéine intracellulaire impliquée dans l'adhérence et la migration cellulaire (**Niemenen et al, 2006 ; Mor-Vaknin et al, 2003**). La vimentine de part sa structure moléculaire spécifique qui lui donne une très grande flexibilité, permet une grande élasticité et souplesse à la cellule, elle contribue aussi au maintien de sa forme et de son intégrité (**Goldman et al, 1996**). De plus elle contribue à la stabilisation des interactions entre les composants de cytoplasme dans la cellule (**Katsumoto et al, 1990**). Ce qui pourrait être attribué aux structures fibrillaires retrouvées dans une glande fortement stimulée comme le cas de la pinéale et qui sont supposées appartenir à la composante gliale.

L'intensité du marquage de la vimentine au niveau des amas cellulaires qui s'insèrent entre les pinéolocytes, et qui entourent les vaisseaux sanguins, pourrait mettre en évidence la présence d'une interaction dynamique entre ces cellules dont le but principal est de réguler la sécrétion de la mélatonine.

L'immunomarquage de la S-100 β a été effectué dans le but d'étudier la distribution de cette protéine dans la glande pinéale. Dans le système nerveux central la S-100 β est une protéine qui appartient à la famille des protéines qui lie le calcium. Elle est synthétisée essentiellement au niveau du tissu cérébral par les cellules gliales notamment par les astrocytes. Par conséquent, elle est considérée comme marqueur spécifique pour ces cellules (**Tateishi et al, 2006**). Sa présence dans le tissu nerveux est 30 à 100 fois plus importante que dans les autres tissus (**Semba et al, 1987**).

Nos résultats montrent une distribution de la S-100 β dans le parenchyme de la glande à proximité des pinéolocytes et autour des vaisseaux sanguins. Nous avons pu observer aussi la présence d'amas cellulaires à la périphérie de ces derniers. De plus, il a été aussi observé que cette protéine forme un réseau continu, ce qui indiquerait la présence d'une forte activité d'interactions dans ces zones, cela supposerait que les astrocytes jouent un rôle important grâce à leur pied astrocytaires

Des études *in vitro* et *in vivo* chez le rat démontrent le caractère multifonctionnel de la protéine S-100 β , dont les effets sont à la fois intracellulaires (croissance cellulaire, maintien du cytosquelette, métabolisme énergétique et la transduction de signaux) et extracellulaire (la prolifération cellulaire,

la sécrétion et l'apoptose). Ces actions physiologiques résultent d'une interaction protéine-protéine avec différentes molécules intracellulaires ou membranaires (**Donato, 2001**).

La protéine S-100 β semble participer activement à la régulation de l'organisation structurale de la cellule en interagissant avec trois protéines du cytosquelette (**Donato, 1987 ; Yu et fraser, 2001**) : la tubuline, inhibant ainsi l'assemblage des microtubules, la protéine tau dont la phosphorylation est inhibée, conduisant à une augmentation de la polymérisation de la tubuline et la protéine GFAP, inhibant sa polymérisation au sein des filaments intermédiaires.

Environ 5 % du pool cellulaire total de la protéine S-100 β est lié à la membrane cytoplasmique, ou elle peut exercer différentes actions : activation des canaux calciques membranaires, une activation de l'adénylate cyclase, impliquant les protéines G membranaires et inhibition de la phospholipase C (**Donato, 2001**). Suite à l'hypothèse d'une action extracellulaire de la protéine S-100 β suivie d'actions physiologiques paracrines confirmées par les travaux de Kligman et Marchak, qui ont montré que l'addition de protéine S-100 β dans le milieu de cultures primaires de neurones corticaux d'embryons de poulets induit une extension neuritique significative. La S100 β est sécrétée par les astrocytes (**Gerlach et al, 2006 ; Shashoua et al, 1984 ; Tramontina et al, 2006**) et cette sécrétion est notamment stimulée dans des situations de stress métabolique (**Gerlach et al, 2006**). Elle peut être stimulée par l'application de sérotonine ou de glutamate, dont les effets passent par le récepteur 5-HT1A (**Whitaker, 1989 ; 1990**) et le récepteur au glutamate (**Tramontina et al, 2006**) respectivement. A des concentrations de l'ordre du nanomolaire (nM), la S-100 β extracellulaire stimule la prolifération des astrocytes (**Goncalves et al, 2000 ; Scotto et al, 1998 ; Selinfreund et al, 1991 ; Tramontina et al, 2006**), et dans les neurones la survie, la neurogénèse, et la croissance des neurites via un récepteur membranaire RAGE (the receptor for Advanced GlycationEndproducts) ; à des concentrations de l'ordre du mM, au contraire, elle favorise l'apoptose des neurones et des astrocytes. En outre, la S-100 β régule l'expression de plusieurs cytokines au sein des astrocytes dont l'expression d'IL-1 β et améliore la β amyloïde induite par l'activation des cellules gliales (**Hu et Van, 1999**) et stimulerait aussi la libération d'IL-6 et TNF- α (**Ponath et al, 2007**).

L'ensemble de ces données ainsi que nos résultats indiquent la présence d'une interaction paracrines entre les pinéaloctes et les astrocytes dont le but est de moduler la synthèse de la mélatonine. Ainsi le tropisme vasculaire observé dans la glande pinéale, suggère que ces cellules à part leur fonction classique de support pourraient également jouer un rôle plus important comme

barrière sélective dans l'échange de substances entre le parenchyme et les vaisseaux sanguins (**Franco et al, 1997**).

Notre étude a nécessité aussi l'utilisation de différents marqueurs dans le but d'étudier la distribution de la protéine α actine muscle lisse dans la glande pinéale. D'après l'immunomarquage de cette dernière, elle semble suivre la distribution des capillaires sanguins des structures en forme de cordons filamenteux.

En effet, l' α -actine du muscle lisse, protéine unitaire de la famille des filaments cytosquelettiques. Elle représente l'une de six isoformes de l'actine (isoactine) exprimées dans les cellules des mammifères (**Van et weber, 1978**). Dans les CML (cellules musculaires lisses) vasculaires différenciées et matures, la forme la plus abondante est l' α -actine représentant plus de 40% des protéines totales et plus de 70% de l'actine totale. Une haute teneur en α -actine est requise pour générer une grande capacité de contraction et joue un rôle important dans la fibrogenèse (**Kawasaki et al, 2008**).

Ce marquage pourrait également indiquer la richesse de la glande pinéale par les cellules muscles lisse ainsi que par les péricytes. En effet, de nombreux études utilisent l' α -actine de muscle lisse pour caractériser et identifier les péricytes cependant cette protéine est aussi exprimée par les CMLs. In vitro, il apparaît que les péricytes du système nerveux central expriment cette protéine (**Herman et Amore, 1985 ; Nehls et Drenckhahn, 1991**).

Les péricytes sont des cellules périvasculaires associées aux lits capillaires de tout l'organisme. Ces cellules ont un rôle proche des cellules astrocytaires. Ils apporteraient un soutien structurel aux cellules endothéliales cérébrales (**Ballabh et al, 2004**) et pourraient réguler le flux sanguin des capillaires (**Bandopadhyay et al, 2001**). Alors que ce type cellulaire a longtemps été négligé dans l'étude de la physiopathologie de la BHE, des découvertes récentes démontrent que ce type cellulaire joue un rôle majeur dans la mise en place et le maintien des propriétés de la BHE (**Armulik et al, 2011**).

La BHE est classiquement décrite comme étant localisée au niveau de l'endothélium des capillaires cérébraux. Cependant, depuis quelques années, on voit émerger un concept selon lequel les facteurs péri-endothéliaux sont d'une grande importance pour l'établissement des propriétés de cette barrière. La BHE est maintenant décrite en tant que véritable unité glio-

vasculaire. Cette dernière se compose des cellules endothéliales reposant sur une lame basale, des péricytes et des astrocytes.

Comme vu précédemment, les cellules gliales majeure dans la glande pinéale sont des astrocytes, ainsi, les pieds astrocytaires, qui occupent plus de 85% de la surface des capillaires, formant un manchon quasi-continu le long de ces vaisseaux (**Fenstermacher et al, 1988**). Ces prolongements astrocytaires forment entre eux des jonctions lacunaires (jonctions « gap ») et des desmosomes (**Nakazawa et Ishikawa, 1998**). La proximité de ces pieds astrocytaires avec les cellules endothéliales suggère l'existence d'une communication spécifique entre ces deux types cellulaires. En effet, l'influence des astrocytes sur la différenciation des cellules endothéliales ainsi que sur la modulation de la perméabilité de la BHE ont été largement démontrées et discutées (**Abbott, 2002 ; Abbott et al, 2010**). L'ensemble de ces éléments (cellules endothéliales, membrane basale, péricytes et pieds astrocytaires) contribue à faire des capillaires cérébraux une barrière à la fois physique et métabolique qui régule les échanges entre le sang et le SNC, assurant le maintien de l'homéostasie cérébrale.

Conclusion & Perspectives

Notre travail a permis de définir les connaissances de base sur la structure et de la morphologie de la glande pinéale du dromadaire. Cette glande présente plusieurs propriétés qui la désignent comme un modèle de choix pour l'étude de l'activité et de la plasticité gliale dans le SNC. En effet, elle offre l'avantage de pouvoir servir comme modèle d'étude de la neurosécrétion dans un éventail assez large d'approches.

L'immunomarquage de molécules impliquées dans les différentes fonctions cellulaires dont la neurotransmission et la plasticité a permis de mettre l'accent sur les relations morpho-fonctionnelles entre les cellules de soutien et les pinéaloctes dans la glande pinéale chez le dromadaire, un modèle animal qui n'a jamais été étudié auparavant dans ce cadre.

Ce travail nous a aussi permis de souligner l'importance des interactions structurales entre les deux types cellulaires pour l'étude des mécanismes physiologiques impliqués dans la régulation de la sécrétion de la mélatonine dans le but de contrôler les rythmes biologiques.

En effet, la distribution de la vimentine au niveau du parenchyme de la glande pinéale indique la présence d'une grande flexibilité et élasticité gliales. De plus la réaction positive de la S-100 β pourrait être un indice de la présence des cellules astrocytaires et d'une forte activité sécrétoire notamment par les transductions des divers signaux liés au calcium.

Il est suggéré que l' α actine du muscle lisse n'est pas exclusive aux cellules musculaires lisses, elle est retrouvée aussi niveau des pérycytes dans la glande pinéale. La présence des pérycytes et des astrocytes au niveau des coupes histologiques à proximité des capillaires sanguins de la glande pinéale du dromadaire indiqueraient la présence d'une BHE très stricte à la fois assurée par les deux types cellulaires en plus de la barrière endothéliale. Ces résultats devraient être vérifiés ultérieurement par des études plus approfondies, il serait donc intéressant d'utiliser des marqueurs plus spécifiques pour les cellules gliales afin de visualiser et différencier à l'échelle de la microscopie électronique les composants cellulaires de la zone périvasculaire dans la glande pinéale.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abbott NJ; 2002.** Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J Anat* 200(6):629-638.
- **Abbott, N. J., Patabendige, A. A., Dolman, D. E., Yusof, S. R. et Begley, D. J ; 2010.** Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis*, 37(1):13–25.
- **Aigouy B, Lepelletier L, Giangrande A ; 2008.** Glial chain migration requires pioneer cells. *J Neurosci* , 28:11635–11641.
- **Allaerts W et Deneff C; 1989.** Regulatory activity and topological distribution of folliculostellate cells in rat anterior pituitary cell aggregates. *Neuroendocrinology* 49 (4), 409-18.
- **Al-Hussain, S. M; 2006.** "The Pinealocytes of the Human Pineal Gland: A Light and Electron Microscopic Study". *Folia Morphologica* 65 (3) : 181–87.
- **Androl J; 2006.** Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters. *Int*; 29:140-147; discussion 181-145.
- **Angulo MC, Le Meur K, Kozlov AS, Charpak S, Audinat E ; 2008.** GABA, a forgotten gliotransmitter. *Prog Neurobiol* 86:297-303.
- **Araque A, Perea G.; 2004.** Glial modulation of synaptic transmission in culture. *Glia*47 (3):241-248.
- **Arendt J ; 1988.** " le troisieme oeil" la recherche ,203 -1154-65.
- **Arendt J; 1998.** «Melatonin and the pineal gland : influence on mammalian deasonal and circadian physiology"*Rev Reprod* ,3(1),13-22 .
- **Armulik, A., Genove, G. et Betsholtz, C; 2011 .** Pericytes : developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev Cell*, 21(2):193–215. 1878-1551 (Electronic) 1534-5807 (Linking) Journal Article.
- **Ascoli M; 1981.** Characterization of several clonal lines of cultured Leydig tumor cells: gonadotropin receptors and steroidogenic responses. *Endocrinology*, 108:88-95.
- **Arthur Guyton, John Hall; 2011.** *Textbook of Medical Physiology*, 12e édition,, chapitre 50 « The Eye: II. Receptor and Neural Function of the Retina », page 619.
- **Bhatnagar K.P ; 1992 .** The ultrastructure of mammalian pinealocytes: a systematic investigation. *Microsc. Res. and Tech.*, 21, 85- 115.
- **Balabanov, R. et Dore-duffy, P ; 1998.** Role of the CNS microvascular pericyte in the blood-brain barrier. *J Neurosci Res*, 53(6):637–44.

- **Ballabh P., Braun A., et Nedergaard M** ; 2004. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol.Dis* , 16: 1-13.
- **Bandopadhyay, R., Orte, C., Lawrenson, J. G., Reid, A. R., DE Silva, S. et Allt, G** ; 2001 . Contractile proteins in pericytes at the blood-brain and blood-retinal barriers. *J Neurocytol*, 30(1):35–44.
- **Bautista-Pérez R, Arellano A, Franco M, Osorio H, Coronel I** ; 2011.Sphingosine-1-phosphate induced vasoconstriction is increased in the isolated perfused kidneys of diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* 94: e8–e11.
- **Bengoumi M., Faye B.**, 2002. Adaptation du dromadaire à la déshydratation. *Sécheresse*, 13 (2): 121-129.
- **Bernard, M., Donohue, S.J., Klein, D.C.**, 1995. Human hydroxyindole-O-methyltransferase in pineal gland, retina and Y79 retinoblastoma cells. *Brain Res* 696, 37-48.
- **Bigler E.D., Maxwell W.L** ; 2012. Neuropathology of mild traumatic brain injury: Relationship to neuroimaging findings. *Brain Imaging Behav.*6:108–136. doi: 10.1007/s11682-011-9145-0.
- **Boutin JA , Audinot V , Ferry G , Delagrangre P** ; 2005 . Molecular tools to study pathways and action, *Trends in pharmacological sciences* , 26(8) ,412-9 .
- **Boya, J., and J. Calvo** ; 1984. Ultrastructure of the Pineal Gland in the Adult Rat. *Journal of Anatomy* **138** (3): 405–09.
- **Branden, C. and Tooze, J. Introduction to Protein Structure**. Garland Publishing, Inc., 1991 New York.
- **Bradl M, Lassmann H**; 2009.Oligodendrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 119:37-53.
- **Bruce J.N , E. M Housepian, B. Kennedy, A. T Ogden, R. C Anderson** ; **2010** . Pineal Tumors. Columbia University College of Physicians and Surgeons.
- **Bucy P**; 1932. The hypophysis cerebri. In: Penfield W, éditeur. *Cytology and cellular Pathology of the nervous system*. New York. Paul B. Horber Inc. p 707-738.
- **Burgoyne RD, Morgan A** ; 2003. Secretory granule exocytosis. *Physiol Rev* ;83(2):581–632.
- **Bushong EA, Martone ME, Jones YZ, Ellisman MH** ; 2002 .Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains. *J Neurosci* 22:183-192.
- **Butt AM**; 2006. Neurotransmitter-mediated calcium signalling in oligodendrocyte physiology and pathology. *Glia* 54:666-675.

- **Calvo J ; Boya J ; Borregon A ; Garcia-Maurino JE ;** 1988. Presence of glial cells in the rat pineal gland: a light and electron microscopic immunohistochemical study. *Anatomical Record*.220 (4):424–428.
- **Cardin J., Carbajal M.E., Vitale M.L;** 2000. Biochemical and morphological diversity among folliculo-stellate cells of the mink (*Mustela vison*) anterior pituitary. *Gen Comp Endocrinol* 120 (1), 75-87.
- **Cassone VM ;** 1990 . Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. *Trends Neurosci.* 13:457-464.
- **Cocchia D; Miani N; 1980.** Immunocytochemical localization of the brain-specific S-100 protein in the pituitary gland of adult rat. *J Neurocytol* 9(6):771-782.
- **Cozzi B , Mikkelsen J.D, Ravault JP and Moller M ;** 1992 . Neuropeptide Y (NVP) and C-flanking peptide of NVP in the pineal gland of normal and ganglionectomized sheep .*J Comp Neurol* 316(2) , 238-250.
- **Dellmann HD; Stoeckel ME; Porte A; Stutinsky F;** 1974. Ultrastructure of the neurohypophysial glial cells following stalk transection in the rat. *Experientia* 30 (10):1220-1222.
- **Donato , R ;** 2001 . S100: a multigenic family of calcium – modulated protein of EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles . *Int . J.Biochem.Cell.Bio.*33,637-68.
- **Donato , R ; Sorci G; Riuzzi F ; Arcuri C ; Bianchi R ; Brozzi F ; Tubaro C ; Giambanco I ;** 2009 . S100-B double life : Intracellular regulator and extracellular signal . *Biochimica Biophysica .Acta .*1008-22.
- **Dreifuss JJ, Sandri C, Akert K, Moor H;** 1975. Ultrastructural evidence for sinusoid spaces and coupling between pituicytes in the rat. *Cell Tissue Res* 161(1):33-45.
- **Erlich SS, Apuzzo ML; 1985 .** The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance. *J Neurosurg* ;63(3):321- 341.
- **Erythropel HC, Maric M, Cooper DG;** 2012. Designing green plasticizers: influence of molecular geometry on biodegradation and plasticization properties ; 86:759-766.
- **Fenstermacher, J., Gross, P., Sposito, N., Acuff, V., Pettersen, S. et Gruber, K ;** 1988. Structural and functional variations in capillary systems within the brain. *Ann N Y Acad Sci*, 529:21–30.
- **Fauchon F, Jouvét A, Alapetite ;** 2005. Classification des tumeurs de la région pinéale et leur traitement. *EMC-Neurologie ;* 2 :596-617.

- **Faye B., (1997)** .Guide de l'élevage du dromadaire Edition CEVA Santé Animale ; 126p .
- **Faye B., BENGOUMI M., 2000.** Le dromadaire face à la sous-nutrition minérale : un aspect méconnu de son adaptabilité aux conditions désertiques. *Sécheresse*, 11 (3) : 155-161.
- **Findlay ; 1986.** « The opsin family of proteins », *Biochem. J.*, vol. 238 , p. 625-642.
- **Franco A., Regodon S., Masot A.J. et Redondo E ; 1997.** A combined immunohistochemical and electronmicroscopic study of the second cell type in the developing sheep pineal gland. *J. Pineal Res* , 22, 130-136.
- **Franze, K., Grosche, J., Skatchkov, S.N., Schinkinger, S., Foja, C., Schild, D., Uckermann, O., Travis, K., Reichenbach, A., & Guck, J ; 2007 .** Muller cells are living optical fibers in the vertebrate retina. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104 (20), 8287-8292.
- **Ganong WF ; 1977.** Circulations régionales particulières. In : Boeck D, éditeur. Ch. 32. *Physiologie médicale*.
- **Gard P ; 2002.** Mélatonine et DHEA. In : Elsevier, 13-18.
- **Gauer F, Masson-Pevet M, Pevet P ; 1994.** Seasonal regulation of melatonin receptors in rodent pars tuberalis: correlation with reproductive state. *J. Neural Transm. Gen. Sect.* 96:187-195.
- **Gauvrit JA, Soto Ares G, Hamon-Kerautret M, Blond S , Pruvo JP ; 2011.** Imagerie des tumeurs de la region pinéale .
- **Gerlach, R., Demel, G., König, H. G., Gross, U., Prehn, J. H., Raabe, A., Seifert, V. and Kogel, D ; 2006.** Active secretion of S100B from astrocytes during metabolic stress. *Neuroscience* 141, 1697-701.
- **Girod C ; 1990.** Epiphyse. *Traité d'endocrinologie et de nutrition. Encycl Méd Chir.*, 10-025-A-10.
- **Girolami, M. Fèvre-Montange, D. Seilhean, A. Jouvret ; 2008.** Pathologie des tumeurs de la région pinéale. Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France *Revue neurologique*, volume 164, pages : 882-895.
- **Goldman R. D., Khuon S., Chou Y., Opal P., Steinert P ; 1996 .** The function of intermediate filaments in cell shape and cytoskeletal integrity , *J Cell Biol*, vol. 134, n° 4, 1996, pp. 971–83 .
- **Goncalves, D. S., Lenz, G., Karl, J., Goncalves, C. A. and Rodnight, R. ; 2000.** Extracellular S100B protein modulates ERK in astrocyte cultures. *Neuroreport* **11**, 807-9.

- **Graeber MB, Tetzlaff W, Streit WJ, Kreutzberg GW ; 1988.** Microglial cells but not astrocytes undergo mitosis following rat facial nerve axotomy. *Neurosci Lett* 85(3):317-321.
- **Heja L, Barabas P, Nyitrai G, Kekesi KA, Lasztozsi B, Toke O, Tarkanyi G, Madsen K, Schousboe A, Dobolyi A, Palkovits M, Kardos J ; 2009 .**Glutamate uptake triggers transporter-mediated GABA release from astrocytes. *PLoS One* 4:e7153.
- **Herman I. M. et D'Amore P. A ; 1985 .** Microvascular pericytes contain muscle and nonmuscle actins. *J Cell Biol* , 101: 43-52.
- **Hu J ; Van Eldik L J ; 1999 .** Glial –derived protein activate cultured astrocytes and enhance β -amyloid-induced glial activation . *Brain.Res.*842,46-54.
- **Humeau A ; 2001.** Contribution à l'appréhension des signaux d'hyperémie réactionnelle détectés par effet Doppler laser: modélisation, traitement des signaux et implications cliniques
- **Idelman S, Verdetti J ; 2009 .** Endocrinologie et communications cellulaires. Editions EDP Sciences , p. 357.
- **Iuvone, P.M., Tosini, G., Pozdeyev, N., Haque, R., Klein, D.C., Chaurasia, S.S., 2005.** Circadian clocks, clock networks, arylalkylamine N-acetyltransferase, and melatonin in the retina. *Prog Retin Eye Res* 24, 433-456.
- **Janzer, R. C. et Raff, M. C. ; 1987).** Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature*, 325(6101):253–7.
- **Jiang-Shieh Y.F, C. H. Wu, M. L. Chang, J. Y. Shieh, and C. Y. Wen; 2003.** Regional heterogeneity in immunoreactive macrophages, microglia in the rat pineal gland,” *Journal of Pineal Research*, vol. 35, no. 1, pp. 45–53.
- **Johnson, L., Zane, R. S., Petty, C. S., Neaves, W. B ; 1984 .** Quantification of the human Sertoli cell population: its distribution, relation to germ cell numbers, and age-related decline. *Biol Reprod*; 31, 785-795 .
- **Kandel ER, Schwartz JH ; 1985.** Principles of Neural Sciences. New York: Elsevier Science Publishing.
- **Kappers J.A ; 1690.**the developoment , topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat . *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 52,163-215.
- **Karasek M. and Reiter J ; 1992.** Morphological aspects of the mammalian pineal gland. *Microscopy. Res. Tech.*, 21, 136-157
- **Katsumoto T., Mitsushima A., Kurimura T ; 1990 .** The role of the vimentin intermediate filaments in rat 3Y1 cells elucidated by immunoelectron microscopy and computer-graphic reconstruction , *Biol Cell*, vol. 68, n° 2, pp. 139–46.

- **Kayouli C., Jouany J.P., Dardillat C., Tisserand J.L., 1995.** Particularités physiologiques du dromadaire : conséquences pour son alimentation . In : Elevage et alimentation du dromadaire. Tisser and J-L (ed.), Zaragoza. (Options Méditerranéennes. Série B. Etudes et Recherches ; n. 13).
- **Kawasaki Y, Imaizumi T, Matsuura H, Ohara S, Takano K, Suyama K, Hashimoto K, Nozawa R, Suzuki H, Hosoya M ; 2008.** Renal expression of alpha-smooth muscle actin and c-Met in children with Henoch-Schonlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol*.
- **Kerr JF ; 2002.** History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology ;181–182:471–4*.
- **Khavinson, V. Kh, N. S. Linkova, I. M. Kvetnoy, T. V. Kvetnaia, V. O. Polyakova, and H. W. Korf ; 2012.** Molecular Cellular Mechanisms of Peptide Regulation of Melatonin Synthesis in Pinealocyte Culture . *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* **153** (2): 255–58.
- **Klein, David ; 2006 .** Evolution of The Vertebrate Pineal Gland: The Anat Hypothesis". *Chronobiology International* 23 (1–2): 5–20.
- **Kligman D, Marshak DR ; 1985 .** Isolation and characterisation of a neurite extension factor from bovine brain. *Proc Natl Acad Sci USA ,82:437–43*.
- **Koehler RC, Gebremedhin D, Harder DR ; 2006.** Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J Appl Physiol* 100(1):307-317.
- **Kofler B, Bulleyment A, Humphries A, Carter DA ; 2002.** Expression defines a subset of vimentin/S-100beta-positive, GFAP-negative astrocytes in the adult rat pineal gland. *Apr;34(3-4):167-71*.
- **Konig N, Roch G, Marty R ; 1975.** The onset of synaptogenesis in rat temporal cortex. *Anat Embryol.*148:73–87.
- **Kreutzberg GW. 1996.** Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trend Neurosci* 19(8):312-318.
- **Ladeby, R ., Wirenfeldt,M., Garcia-Ovejero, D., Fenger , C., Dissing-olesen, L., Dallmau, I ,finesse,B., 2005.** Microglial cell population dynamics in the injured adult central nervous system. *Brain Res Rev* .48 ,196-206.
- **Lavie P; 2001.** « Sleep-wake as a biological rhythm » *Annu rev psychol.* 52:277-303.
- **Lee S, Yoon BE, Berglund K, Oh SJ, Park H, Shin HS, Augustine GJ, Lee CJ ; 2010 .** Channelmediated tonic GABA release from glia. *Science* 330:790-796.
- **Lindstrom KM , M. B. S . 2010 .** Lopes. The pineal gland. *Endocrine pathology* , 115-130.

- **Lin L, Faraco J, Li R, et al ; 1999.** The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 ; 98 : 365-76.
- **Livingston A; 1976.** Pituicytes in normal and jimpy mice. *Cell Tissue Res* 167(1):111-116.
- **Magistretti PJ ; 2006.** Neuron-glia metabolic coupling and plasticity. *J Exp Biol* 209:2304-2311.
- **Maldonato G ; 1997.** Tumeurs de la région pinéale. Thèse pour le Doctorat en Médecine n°46.
- **Mandolesi, G., Musella, A., Gentile, A., Grasselli, G., Haji, N., Sepman, H., Fresegna, D., Bullitta, S., Vito, F.D., Musumeci, G. ; 2013 .** Interleukin-1 β Alters Glutamate Transmission at Purkinje Cell Synapses in a Mouse Model of Multiple Sclerosis. *J. Neurosci.* 33, 12105–12121.
- **Marie-Catherine Mérat ; 2009 .**Sommeil : des cellules étoilées en sont la clé, *Science et Vie* no 1100, page 105.
- **Marin F, Boya J, Lopez-Carbonell A; 1989.** Immunocytochemical localization of vimentin in the posterior lobe of the cat, rabbit and rat pituitary glands. *Acta Anat* 134(3):184-190.
- **Mikkelsen J.D. and Moller M; 1999.** Neuropeptide Y in the mammalian pineal gland .*Microscopy research and technique* 46(4-5) , 239-256.
- **Mirshahi, M., Faure, J.P., Brisson, P., Falcon, J., Guerlotte, J., Collin, J., 1984.** S-antigen immunoreactivity in retinal rods and cones and pineal photosensitive cells. *Biol Cell* 52, 195-198.
- **Macchi M.M , J.N. Bruce, Z. Boulos, J.S. Terman, M. Terman ; 2002 .** Sleep, chronotype and seasonality after pineal resection in humans, Program of the 8th Meeting of the Society for Research in Biological Rhythms, Jacksonville, p. 157
- **Moore RY; 1996.** Neural control of the pineal gland. *Behav Brain Res*, 73(1-2):125-130.
- **Moreau J .J ; 1985 .** standar inelastic shocks and the dynamique of unilateral constraints . In : Del Piero G ; Maceri F (Eds) *Unilateral problem in structural Analysis , CISM Courses and Lectures Vol , 288 , 173-221.*
- **Mor-Vaknin N., Punturieri A., Sitwala K. & Markovitz D. M ; 2003.** Vimentin is secreted by activated macrophages. *Nat. Cell Biol.* 5, 59–63.
- **Nakajima Y., Uchiyama M., Shirai Y., Sakuma Y. & Kato M ; 2001.** Acetylcholine increases intracellular Ca²⁺ in the rat pituitary folliculostellate cells in primary culture. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280 (4), E608-15.

- **Nakazawa, E. et Ishikawa, H** ; 1998 . Ultrastructural observations of astrocyte end-feet in the rat central nervous system. *J Neurocytol*, 27(6):431–40.
- **Nieminen M** ; 2006 . Vimentin function in lymphocyte adhesion and transcellular migration. *Nat. Cell Biol.* 8, 156–162 .
- **Nehls V. et Drenckhahn D** ; 1991. Heterogeneity of microvascular pericytes for smooth muscle type alpha-actin. *J Cell Biol* , 113: 147-154
- **Olivieri-Sangiaco C**; 1973. Ultrastructural features of pituicytes in the neural lobe of adult rats. The peripheral processes. *Experientia* 29(12):1536-1537.
- **Pham Dinh D** ; 1998. Les cellules gliales, In : physiologie du neurone, pp 33-91.
- **Pascual, O., Ben Achour, S., Rostaing, P., Triller, A., and Bessis, A**; 2012). Microglia activation triggers astrocyte-mediated modulation of excitatory neurotransmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, E197–205.
- **Petzold GC, Murthy VN** ; 2011 Role of astrocytes in neurovascular coupling. *Neuron* 71:782-797.
- **Parpura V, Basarsky TA, Liu F, Jęftinija K, Jęftinija S, Haydon PG** ; 1994 . Glutamate-mediated astrocyte-neuron signalling. *Nature* 369:744-747.
- **Petersen, C. and Soder, O**; 2006. The sertoli cell--a hormonal target and 'super' nurse for germ cells that determines testicular size. *Horm Res*; 66, 153-161.
- **Pévet . P** ; 2003 . Mélatoni : from seasonal to circadian signal , *J neuroendocrinol* , 15, 422-426 .
- **Pévet .P , Agez .L , Bothorel .B , Saboureau .M , Gauer .M , Laurent .V et Masson-Pévet .M** ; 2006 . Mélatonin in the multi-oscillatory mammalian circadien world . *chronobiol Int*, 23,39-51.
- **Peyer, D.F** ; 1989. Le dromadaire dans son milieu naturel. *Rev. Elev. Méd. vet. Pays trop.* 1, 127-32.
- **Pfeifer KJ, Romner B** ; 2009. S100B : premier marqueur biologique pour le diagnostic du traumatisme crânien mineur ou modéré PUPH, service de biochimie, groupe hospitalier Charles-Foix- Jean-Rostand, 7, avenue de la République, 94200 Ivry-sur-Seine,64:237-242.
- **Pitrosky B, Kirsch R, Malan A, Mocaer E, Pévet P**; 1999. Organization of rat circadian rhythms during daily infusion of melatonin or S20098, a melatonin agonist. *Am. J. Physiol.* 277:R812-R828.

- **Ponath G ; Schettler C ; Kaestner , F , Voigt B , Wentkher D , Arolt V ; Rothermundt M ; 2007 .**Autocrine S100B effects on astrocytes are mediated via RAGE
J .Neuroimmunol.184,214-22.
- **Prat A, Biernacki K, Wosik K, Antel JP; 2001.** Glial cell influence on the human blood-brain barrier. *Glia* 36(2):145-155.
- **Raine CS ; 1999 .** Cellular Neurochemistry and Neural Membranes Ch. 1.
Neurocellular Anatomy. In: American Society for Neurochemistry, éditeur. Basic Neurochemistry; Molecular, Cellular and Medical Aspects. 6e édition. Lippincott Williams and Wilkins.
- **Redman J, Armstrong S, Ng KT; 1983.** Free-running activity rhythms in the rat: entrainment by melatonin. *Science* 219:1089-1091.
- **Reichert F, Slobodov U, Makranz C, Rotshenker S ; 2001.** Modulation (inhibition and augmentation) of complement receptor-3- mediated myelin phagocytosis.
- **Reiter RJ; 2003.** Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 17(2):273-285.
- **Reiter RJ; 1992.** The ageing pineal gland and its physiological consequences. *Bio Essays News Rev Mol Cell Dev Biol*. mars 1992; 14(3):169-175.
- **Rinehart J.F. & Farquhar M.G; 1955.** The fine vascular organization of the anterior pituitary gland. An electron microscopic study with histochemical correlation. *Anat. Rec.* 196, 207-40.
- **Richard M ; 2010.** Sharpe « Environmental/lifestyle effects on spermatogenesis » *Philosophical Transaction of the Royal Society / Biological SciencesB* ; vol. 365n° 1546 1697.
- **Rodgers, K.M., Hutchinson, M.R., Northcutt, A., Maier, S.F., Watkins, L.R., and Barth, D.S. (2009).** The cortical innate immune response increases local neuronal excitability leading to seizures. *Brain J. Neurol.* 132, 2478–2486.
- **Saez JC, Contreras JE, Bukauskas FF, Retamal MA, Bennett MV ; 2003.** Gap junction hemichannels in astrocytes of the CNS. *Acta Physiol Scand* 179(1):9-22.
- **Schummers J, Yu H, Sur M ; 2008 .**Tuned responses of astrocytes and their influence on hemodynamic signals in the visual cortex. *Science* 320:1638-1643.
- **Scotto, C., Deloulme, J. C., Rousseau, D., Chambaz, E. and Baudier, J. (1998).** Calcium and S100B regulation of p53-dependent cell growth arrest and apoptosis. *Mol Cell Biol* 18, 4272-81.

- **Selinfreund, R. H., Barger, S. W., Pledger, W. J. and Van Eldik, L. J.** (1991). Neurotrophic protein S100 beta stimulates glial cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 3554-8.
- **Semba R, Kato K, Isobe T, Kashiwamata S** ; 1987. Purification of S-100a protein from rat kidney. *Brain Res* ;401:9–13.
- **Shashoua, V. E., Hesse, G. W. and Moore, B. W.** (1984). Proteins of the brain extracellular fluid: evidence for release of S-100 protein. *J Neurochem* **42**, 1536-41
- **Sharma, R.K., et Johnson, D.A** ; 2000 . Molecular signals for development of neuronal circuitry in the retina. *Neurochem Res*, 25 (9-10), 1257-1263.
- **Shashoua, V. E., Hesse, G. W. and Moore, B. W;** (1984). Proteins of the brain extracellular fluid: evidence for release of S-100 protein. *J Neurochem* 42, 1536-41.
- **Shiotani Y**; 1980. An electron microscopic study on stellate cells in the rabbit adenohypophysis under various endocrine conditions. *Cell Tissue Res* 213 (2), 237-46.
- **Shiotani Y , Yamano M , Shiosaka S , Emson P.C , Hillyard C.J** ; 1986. Girgis S and origins of substance P (SP)- Calcitonin gene-related peptide (CGRP)- , Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and neuropeptide Y (NPY) –containing nerve fibers in the pineal gland of gerbils.*Neurosci Lett* 70(2) , 187-192
- **Simard M, Nedergaard M**; 2004. The neurobiology of glia in the context of water and ion homeostasis. *Neuroscience* 129:877-896.
- **Simonneaux V** ; 1995 . Neuropeptides of the mammalian pineal gland . *Neuroendocrinol Lett* 17(2) , 113-130.
- **Simonneux V , Ouichou A , Burbach J.P , and Pévet P**; 1990 . Vasopressin and oxytocin modulation of melatonin secretion from rat pineal glands . *Peptides* 11(6) , 1075-1079.
- **Simonneux V , Ouichou A , Burbach J.P , and Pévet P**; 1993 .Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) stimulates melatonin synthesis from rat pineal gland .*Brain Res* 603(1) , 148-152.
- **Simonneaux V, Ribelayga C**; 2003. Generation of the endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters" *Pharmacological review*, 55(2) , 325-95.
- **Straznicky N. E., Eikelis N., Lambert E. A., Esler M. D**; 2008. Mediators of sympathetic activation in metabolic syndrome obesity. *Current Hypertension Reports* ;10(6):440–447. doi: 10.1007/s11906-008-0083-1

- **Streit WJ**; 2000. Microglial response to brain injury: a brief synopsis. *Toxicol Pathol* 28(1):28-30.
- **Streit WJ** ; 2001. Microglia and macrophages in the developing CNS. *Neurotoxicology* 22(5):619-624.
- **Stoeckel ME, Hindelang-Gertner C, Dellmann HD, Porte A, Stutinsky F**; 1975. Subcellular localization of calcium in the mouse hypophysis. I. Calcium distribution in the adeno and neurohypophysis under normal conditions. *Cell Tissue Res* 157(3):307-322.
- **Tateishi N, Shimoda T, Yada N, Shinagawa R, Kagamiishi Y** ; 2006 . S100B: astrocyte specific protein , Feb;26(1):11-6.
- **Thieblot L, Thieblot P** ; 1981. la glande pinéale, physiologie et Clinique “ Malonie , 1981 ,132 .
- **Thomas EM, Armstrong SM**; 1988. Melatonin administration entrains female rat activity rhythms in constant darkness but not in constant light. *Am. J. Physiol.* 255:R237-R242.
- **Touitou Y** ; 1998. Melatonine et rythmes biologiques, les actualités de l’université Pierre et Marie Curie, 1998, 5,8-9.
- **Tramontina, F., Tramontina, A. C., Souza, D. F., Leite, M. C., Gottfried, C., Souza, D. O., Wofchuk, S. T. and Goncalves, C. A.** ; 2006. Glutamate uptake is stimulated by extracellular S100B in hippocampal astrocytes. *Cell Mol Neurobiol* 26, 81-6.
- **Tsacopoulos M, Magistretti PJ**; 1996. Metabolic coupling between glia and neurons. *J Neurosci* 16:877-885.
- **Tweedle CD, Hatto GI**; 1980. Evidence for dynamic interactions between pituicytes and neurosecretory axons in the rat. *Neuroscience* 5(3):661-671.
- **Vanecek , J Pavlik , A , et Illnerova , H 1987** . Hypothalamique melatonin receptor sites revealed by autoradiography , *Brain Res* ,435,359-362.
- **Verkhatsky A ,Butt A** ; 2007. *Glial Neurobiology*.
- **Villela D ; Atherino VF; Lima Lde S; Moutinho AA; Amaral FG; Peres R; Martins de Lima T; Torrão Ada S; Cipolla-Neto J; Scavone C; Afeche SC** ; 2013 . Modulation of pineal melatonin synthesis by glutamate involves paracrine interactions between pinealocytes and astrocytes through NF-κB activation *Biomed Res Int*, 618432.
- **Vollrath, L.**, 1979. Comparative morphology of the vertebrate pineal complex. *Prog Brain Res* 52, 25-38.
- **Vollrath L**; 1981. *The Pineal Organ*. New York, NY, USA .

- **Wang Z; Haydon PG; Yeung ES; 2000.** Direct observation of calcium-independent intercellular ATP signaling in astrocytes. *Anal Chem* 72-108.
- **Whitaker-Azmitia, P. M. and Azmitia, E. C. (1989).** Stimulation of astroglial serotonin receptors produces culture media which regulates growth of serotonergic neurons. *Brain Res* 497, 80-5.
- **Whitaker-Azmitia, P. M., Murphy, R. and Azmitia, E. C. (1990).** Stimulation of astroglial 5-HT1A receptors releases the serotonergic growth factor, protein S-100, and alters astroglial morphology. *Brain Res* 528, 155-8.
- **Wiesmann M, Missler U, Gottmann D, Gehring S. Plasma S-100b concentration in healthy adults is age and sex independent.** *Clin chem*1998; 44:1056–8.
- **Williams LM, Morgan PJ; 1988.** Demonstration of melatonin-binding sites on the pars tuberalis of the rat. *J. Endocrinol.* 119:R1-R3.
- **WILSON R.T; 1989.** The one-humped camel in the word. *Options Méditerranéennes - Série Séminaires.* 2 :15-17.
- **Yang Y, Ge W, Chen Y, Zhang Z, Shen W, Wu C, Poo M, Duan S ; 2003.** Contribution of astrocytes to hippocampal long-term potentiation through release of D-serine. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(25):15194-15199.
- **Yu, W.H , Zhang ,H,Beach ,D ; 1992.** D-type cyclins associate with multiple protein Kinases and the DNA replication and repair factor PCNA . *cell* .71,505-14.
- **Zigmond, M. J.; Bloom, F. E.; Landis, S. C.; Roberts, J. L.; and Squire, L. R., ; 1999.** *Fundamental Neuroscience.* London: Academic Press.
- **ZARROUK A., SOUILEM O., BECKERS J.F., 2003.** Actualités sur la reproduction chez la femelle dromadaire (*C.dromedarius*). *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* 56 (1-2) : 95-102.

Références bibliographiques

Abercane F., 1992 : Contribution à l'étude biochimique et organoleptique des huiles d'olive. Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie, institut national agronomique. INRA EL-Harrach Alger 45p.

Alim L. et Zoumbia K., 2007 : Contrôle de la qualité physico- chimique et organoleptiques de quelques huiles d'olive. Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie, Université Saad Dahlab, Blida. 54p.

Almabouda F. et Khoumeri M.T., 2005 : Analyse commerciale de quelques huiles d'olive algérienne. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie Université Saad Dahlab, Blida 62 p.

Amrouche M., 1999 : Contribution à l'étude des ressources phylogénétiques oléicoles algériennes : recherche de la variabilité phénotypique au sein de la variété Chemlal dans la région de TAZMALT – AKBOU. Thèse. ing. Agr. Univ. Tizi-Ouzou. 136P.

Anonyme A., 2010 : Chambre de commerce et d'industrie de Sfax. 80p

Argenson C., Regis S., Jourdain J.M. et Vaysse P., 1999 : *L'olivier*. Edition CTFL, Paris, 287 p.

Baldy CH., 1990 : *Le climat de l'olivier (Olea europaea L.)*. Volume jubilaire du professeur P. QUEZEL. Ecole. Méditerranée XVI, 121 p.

Benhayoun G. et Lazzeri Y., 2007 : L'olivier en Méditerranée du symbole à l'économie. Editions Le Harmattan. Paris, 137 p.

Benlarbi, F., 2004 : Caractérisation des lipides et des phénols de quelques groupes d'oliviers d'Algérie. Mémoire de magister. Laboratoire des sciences fondamentales. Université de Laghouat, 88p.

Bensemmane A., 2009: L'oléiculture: Développons le secteur de l'huile d'olive en Algérie. *Rev. Filaha Innove*, (4) : 7-8.

BenOthman N., Roblain D., Chammen, N., Thonart P., Hamdi, M., 2009: Antioxydant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, 116 : 662–669.

Benrachou R., 2012: Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de deux cultivars de l'Est algérien. Thèse de doctorat en sciences biologique – Institut de l'olivier .Faculté des sciences de Sfax / Université de Sfax. (P54)

Bisset S., 2011 : Activités antioxydante et inhibitrice vis-à-vis de l'élastase d'extrait des polyphénols d'olive (*Olea europaea* L.).Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas Sétif.p112.

Boizot N. et Charpentier J-P., 2006 : *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.* Le Cahier des Techniques de L'Inra, 82 p.

Boskou D., Blekas G., Tsimidou M., 2006 : *Olive oil composition.* Dans Boskou (Ed.), Olive oil, chemistry and technology (2nd edition). Champaign Illinois: American oil chemists society, pp: 41-72.

Bouchekkif M., 1999 : Evolution quantitative et qualitative de l'huile d'olive au cours de la maturation et de stockage. Mémoire d'ingénieur, INA El-Harrach 35 p.

Breger M., 2001 : *L'Olivier de France, l'Olive et son huile.* Edition Mexichrome, Paris.37p

COI., 2010 : Conseil oléicole international, COI/T.20/Doc, no 15/Revue 3, novembre pp3-12.

COI., 2013 : Conseil oléicole international, COI/T.25/Doc, no 30/Revue 14, octobre 6p.

Daoudi L., 1994 : Etude des caractères végétatifs et fructifères de quelques variétés locales et étrangères d'olivier cultivées à la station expérimentale de Sidi-Aich (Bejaia). Thèse de magister .Inst. Nat. Agr. El-Harrach. 132p.

Del Rio, C. et Caballero J.M., 1998 : Preliminary agronomical characterization of 131 cultivars introduced in the olive germplasm bank of Cortoba in March 1987. *Acta Horticulturae*, 356 : 110-115.

Douzane M., 2002 : Caractérisation biochimique des huiles de quelques variétés populations d'oliviers locales. Thèse magister en science agronomique, option science alimentaire. INA, P 170. .

El Boustani E., Prost J., Benkhalti F., El Yodafar C., Stocker P., Jimenez F., Prerez, 2004: Régime alimentaire méditerranéen et protection contre les maladies cardiovasculaire. Congrès international de Biochimie. Forum des jeunes Chercheurs, Marrakech. Maroc.

Fedeli E., 1977: Les lipides des olives, vol 15, pp57-74.

Flahault R., 1997 : *Encyclopédie mondiale de l'olivier*. Edition COI. pp26-35.

Garcia A., Brenes M., Garcia P., Romero C., Garrido A. ,2003: Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*. 216 (6) pp: 520-525.

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

Hannachi H., M'sallem M., Benalhadj S., El-Gazzah M., 2007 : Influence du site géographique sur les potentialités agronomiques et technologiques de l'olivier (*Olea europaea*) en Tunisie. C.R. Biologies 330 p.

Idrissi J., Rahmani M., Souzi A., 2012 : Étude du mécanisme de désactivation de l'oxygène singlet par les polyphénols lors de la photo-oxydation de l'huile d'olive. *Al Awamia*, pp :125-126.

Idrissi A. et Ouazani N., 2006 : Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea*.L), FAO –*Biodiversity*, pp : 110-136

Inra, 2006 : *L'olivier*. Edition Maisonomie et la rose.163p

Jacotot B., 1999 : Intérêt nutritionnel de l'huile d'olive. *Olivae* n°86, pp 27-29.

Judde A., 2004 : Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique ; mécanismes, conséquences, moyens de mesures, quels antioxydants pour quel application ? *OCL*-Vol.11-N°6, PP: 414-418.

Keys A., Menotti A., Karvonem M.J., Blackburn H., Buzina R., Diodordevic B.S., Dontas A.S., Fidanza F., Keys M.H., Kromhout D., Nedukovic S., Punsar S., Seccareccia

F., Toshima H., 1986 : The diet and 15 year death rate in seven countries study. *Am. J. Epidemiol.* 124, 903-915.

Kratz M., Cullen P., Kannenberg F., Kassner A., Fobker M., Abuja P. M., Assmann G, Wahrburg U., 2002 : Effect of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low density lipoprotein. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56 (1) pp 72-81.

Lazzez A., Kammoun N., Arous N., Hamdi T., Rekik H.,Cossentini M., 2008 : Caractérisation pomologique des olives et physico-chimique des huiles des variétés Chétoui et Chemlali. *Revue des régions arides*, 21 : 95-102.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Tian Y., 2007: Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*, 102 : 771-776.

Loussert R. et Brousse G., 1978: *L'olivier* ; Ed. G.P. Maisonneuve et La rose. Paris, 462p.

Maillard R., 1975 : *L'olivier*, Ed, comité technique de l'olivier, Paris, 75 p.

Malheiro R., Sousa A., Casal S., Bento A., Pereira J. A., 2011: Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 450–457.

Mendili et Sebai., 2006 : Catalogue des variétés d'olivier en Algérie. Edition ITAF, 97P.

Motard-Bélanger A., Charest A., Grenier G., Paquin P., Chouinard P. Y., Lemieux S., Couture P., Lamarche B., 2008 : Study on the effects of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition.* 87 (3) pp 593-599.

My Mustapha A., Savastiannos R., Isabelle-Perraud G., 2006 : Biotechnologie et qualité des produits de l'olivier dans le bassin méditerranéen. Edition. Actes, 515 p.

Nefzaoui A., 1991 : Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Option Méditerranéennes*, 16: 101-108.

Ocakoglu D., 2008: Classification of Turkish virgin olive oils based on their phenolic profiles. Thesis, Master of Science in food engineering and science – Izmir institute of technology – Turkish. P 42

Ollé M., 2002 : Direction de la concurrence .de la consommation et de répression des fraudes interrégionales de Montpellier. Dossier P3325.Technique d'analyse. Vol papier n° :TA4.p 21.

Olle M. et Furon D., 1988 : Aspects récents de l'analyse des huiles vierges, *Revue Française des Corps gras*, Vol. 35, p.63.

Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C.,Souillol, S.,Guérère, M., Artaud, J., 2004 : Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, 2ème Semestre*, 965 : 169-196.

Omar S.H., 2010: Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Science and Pharmacology*, 78 (2): 133–154.

Osawa C. C, Guaraldo A.L, Ragazzi S., 2007: Correlation between free fatty acids of vegetable oils evaluated by rapid tests and by the official method j. of food composition and analysis. Vol 20.pp 523-528.

Perrin J.L., 1992 : Les composés mineurs et les anti-oxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Revue fr.des corps gras* n°1/2 .pp25-32.

Psyllakis L. et Miros, 1980 : Institut des plantes subtropicales et l'olive, Chania « IIIeme congrès internationale sur la valeur biologique de l'huile d'olive » (ILE de Crète), Grèce.8-12 Septembre 1980 .pp553-565

Publio V. et Mirella., 1987 :L'huile d'olive et la santé. COI, p36.

Ribéreau-Garyon, P., 1968 : *Les composés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod Paris, p 254.

Ricordel F., 1999 : *L'olivier, symbole de la Provence éternelle*. Editions : Corollys, Paris. 187 p.

Roeilly Y., 2002 : *Fabrication de l'huile de l'olive*. Edition comptoir français inter chimie 22 p.

Romero C., Brenes M., Yousfi K., Garciaa P. Garciaa A., Garrido A., 2004 : Effect of Cultivar and Processing Method on the Contents of Polyphenols in Table Olives. *J. Agric Food Chem*, 52. 479- 484.

Rotondo S. et De Gaetano G., 2000 : Protection from cardiovascular disease by wine and its derived products. Epidemiological evidence and biological mechanisms. *World Review of Nutrition and Dietetics*. 87 p 90-113.

Perez-Lopez D., Ribas F., Moriana A., Olmidilla N., De Juan A., 2007 : The effect of irrigation Schedules On the water relations and growth of a young olive (*Olea europaea* L.) Orchard. *Agri. Water mgt.*, 89 (3) : 297 – 304.

Saraoni N., 2006 : Marché mondiale des produits oléicoles- Vision de développement en Algérie. Batna ITEF, session de perfectionnement ITAF/OADA ; du 25 au 30 novembre2006.

Scotto E., 1995 : *L'huile d'olive* .Edition : Chêne, Paris. 200p.

Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A., Pereira A., 2008 : Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras”. *Learning with Technologies*, 41 : 739–745.

Stéphanie H., 2003 : L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisation en pharmacie et en cosmétique. Thèse de doctorat d'Etat en Pharmacie, Université HENRI POINCARÉ - NANCY 1 Paris. p 120

Talbot G., 1983 : Laboratoire de Biochimie, Quebec , Canada , Ed . Université Laval. p.23.

Tanouti K., Elamrani A., Serghini-Caid H., Khalid A., 2011 : Oriental. Ed ; Les technologies de laboratiore, Vol 5, N°18. P 72.

Terdazi W., Ait Yacine Z., Oussama A., 2010 : Etude comparative de la stabilité de l'huile d'olive de la Picholine marocaine et de l'Arbéquine. *Olivae*, N° 113 page 22- 26.

Uzzan A., 1992 : *Olive et huile d'olive*. Ed : Lavoisier, Paris. 221p.

Vassiliki T., Papoti M.T. Simidou Z., 2009: Looking through the qualities of a fluorimetric assay for the total phenol content estimation in virgin olive oil, olive fruit or leaf polar extract. *Food Chemistry*, 112 : 246–252.

Velasco J. et Dobarganes C., 2002: Oxidative stability of virgin olive oil. Instituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104 ; 661-676.

ANNEXE

I. Préparation du tempon phosphate : Tp

Produits	Quantité
Phosphate dissodique	5,8 g
Phosphate monossodique	0,526g
L'eau distillée	250 ml

II. Préparation des lames gélatinées

Composition	Préparation
1,25g Gélatine	- Réchauffer le mélange à une température inférieure à 45 ° C .
0,125g Alun de chrome	- Filtrer le mélange .
q,sp 250 ml H2O distillée	- Le laisser refroidir.
	- Tremper les lames dans la solution.
	- Mettre les lames à sécher à température ambiante

III. Préparation de la solution de démasquage enzymatique

Produits	Quantité
Acide citrique	9 mL
Citrate de sodium	41 mL
L'eau distillée	p,s,p 500 ml

IV.Fiche technique du PBS

Code	Intérêt	Composition	Préparation
S3024	Utiliser pour préparer des solution tampon salines requises dans de nombreuses procédures immunohistochimique	<ul style="list-style-type: none"> - Phosphate de sodium dibasique. - Phosphate de sodium monobasique . - Chlorure de sodium 	Mélanger : 9,4 g de phosphate de sodium dibasique. <ul style="list-style-type: none"> - 0,629 g de phosphate monobasique - 18g de chlorure de sodium .

V. Fiche technique de la coloration Hématoxyline de Mayer

Composition		Préparation
Eau distillée	1,000 ml	Mélanger : eau + Hématoxyline
Hématoxyline cristallisée	1 g	-Dissoudre à chaud
Iodate de sodium	0,2 g	-placer la solution dans une étuve à 37-40°C durant 6 à
Alun de potassium pulvérisé	50 g	8 heures : cela va hâter l'oxydation, la maturation est révélée par une superbe teinte violacée, en quelque heure –laisser refroidir et ajouter les deux autres

Annexe n°1

Tableau 1 : Principales variétés d'olivier cultivées dans le monde

Pays	Variétés	Utilisation	Distribution en hectares
Argentine	Arauco Arbequina	Huile+Table Huile	28 .670
Espagne	Pical Hojiblanca Cornicabra Lechin Manzanilla Verdal de Badajoz Empeltre Arbequina Cacerena	Huile Huile+ Table Huile Huile Huile+Table Huile Huile Huile Huile +Table	2.127 000
Etats –Unis	Manzanilla Mission	Table Table	12 150
France	Picholine Tanche Aglandau	Table Table Huile	20. 000
Grèce	Koroneik Conservolia Kalamata Mastoidis	Huile Table Table Huile	630.800
Italie	Frontoio Moraiolo Leccino Coratina Carolea Noccellara Belice Itrana Ascolana tenera	Huile Huile Huile Huile Huile Huile + Table Table Table Table	1.140 685
Liban	Soury	Huile +Table	32.000
Maroc	Picholine marocaine	Huile +Table	412 000
Portugal	Galega Carrasquenha Redondil	Huile +Table Huile +Table Huile +Table	316 000

Syrie	Al –Zeiti Al –Sorani Al – Doebly	Huile Huile Huile +Table	405 000
Tunisie	Chemlali Chetoui Meski	Huile Huile Table	1.538 000
Turquie	Ayvalik Cakir Gemlik Memecik Dornat	Huile Huile Table Table Table	877 700
Ancienne Yougoslavie	Oblica Zutica	Huile +Table Huile+ Table	29 960

(Grati Kamoun N., 2007)

Annexe n°2

Tableau 2 : Orientations variétales de l'olivier en Algérie

Variétés	Aire de culture	Importance	Pollinisateur	Destination	Observations
Sigoise	Ouest Algérien (Oranie, Tlemcen)	25%	Cornicabra	Table + Huile	Très estimée pour la conservation et l'huilerie, rendement élevé en huile, variété autofertile
Cornicabra	Ouest Algérien (Oranie, Tlemcen)	5%	-	Table + Huile	Très bon pollinisateur de Sigoise Originaire d'Espagne
Sevillane	Ouest Algérien (Plaine d'Oran)	3%	-	Table	Très intéressante par le gros calibre des fruits
Chemlal	Centre Algérien Kabylie	10%	Azeradj Frontoio	Huile	Huile très appréciée. Résiste en culture sèche. Inconvénients: autostérile, floraison tardive.
Azeradj	Centre Algérien	15%	-	Table +Huile	Très bon pollinisateur de Chemlal
Bouchouk	la Fayette Centre Algérien	2%	-	Table +Huile	Intéressante pour la région de Bougaâ
Boukhenfas	Centre Algérien	2%	-	Huile	Donne les meilleurs résultats à la station de Sidi-Aich
Limli	Est Algérien	8%	Azeradj	Huile	Variété conseillée dans la région de jijel à Sidi-Aich
Blanquette	Est Algérien	20 % du verger	-	Table +Huile	.-
Rougette	Est Algérien	12%	-	Huile	-

Neb Djmel	Sud Est Algérien	5%	-	Table + Huile	Variété des régions présaharienne
Frontoio	Centre et Est	1%	-	Huile	Variété italienne, bon pollinisateur de Chemlal
Coratina	Centre et Est	1%	-	Huile	Variété italienne très rigoureuse et très productive
Longue de Miliana	Centre et Ouest	5%	-	Table +Huile	Très localisée dans la région de Miliana
Ronde de Miliana	Centre et Ouest	5%	-	Table +Huile	Très localisée dans la région de Miliana
Picholine Marocaine	Ouest du pays	30 à	-	Huile	Très commune avec la Sigoise (même caractère)
Ascolana	Ouest	-	-	Table	Fertilité excellente et régulière. Bonne rusticité de l'arbre. Résiste au froid. Pourrait avoir un grand avenir en Algérie
Hamma de Constantine	Est Algérien	-	-	Table	Meilleure variété de la région constantinoise pour la conservation, nécessite des irrigations.
Bouricha	Est Algérien (Collo-Oued El Kebir)	5 à 6 %	-	Huile	Cultivée dans les régions à forte pluviométrie

(Loussert et Brousse 1978)

NB : On représente dans ce tableau, seulement les variétés les plus importantes. Il existe plusieurs variétés. Cependant, une même variété peut avoir différentes dénominations suivant les régions. (Loussert et Brousse 1978).

Annexe n°3

Verreries

Ampoule

Becher

Boîtes de Pétri

Burette graduée

Entonnoir de N° 4

Erlen Meyer à col rodé avec bouchon

Fiole conique

Mortier

Papier aluminium

Papier filtre

Pipette graduée

Pipettes pasteur

Tube à essai

Annexe n°4

Appareillages

Agitateur magnétique

Balance analytique

Centrifugeuse

Etuve

Moulin à café

Pied –coulisse

Réfractomètre

Rotavapor

Spectrophotomètre UV-Visible

Vortex

Annexe n°5

Réactifs et solutions

Acide acétique

Acide gallique

Chloroforme

Cyclohexane

Eau distillée

Ether di-éthylique /Ethanol

Hexane

Méthanol

Phénolphtaléine

Solution Hydroxyde de potassium

Solution Iodure de potassium

Solution de thiosulfate de sodium

Solution d'amidon

La solution carbonate de sodium

Le réactif de Folin Ciocalteu

Réactif de Wijs

Annexe n°7

INTENSITE DE PERCEPTION DES DEFAUTS :

Chômé/lies	_____
Moisi-humidité-terre	_____
Vineux-Vinaigre-	_____
Acide-Aigre	_____
Métallique	_____
Rance	_____
Autres (lesquels)	_____

INTENSITE DE PERCEPTION DES ATTRIBUTS POSITIFS :

Fuite	_____
Amer	Vert _____ mûr _____
Piquant	_____

Nom du dégustateur :

Code de l'échantillon :

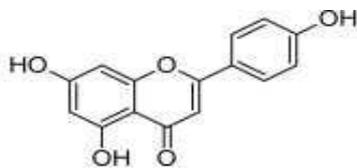
Date :

Observations :

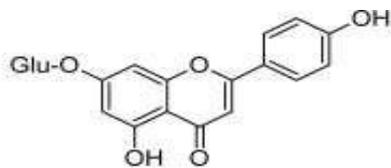
(COI ,2010)

Figure 16: FEUILLE DE PROFIL DE L'HUILE DE L'OLIVE VIERGE

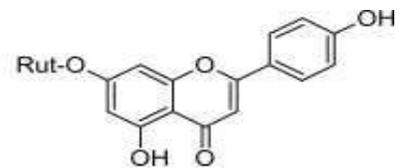
Annexe n°8



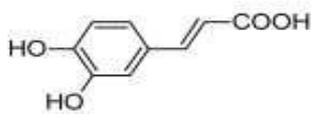
Apigenin



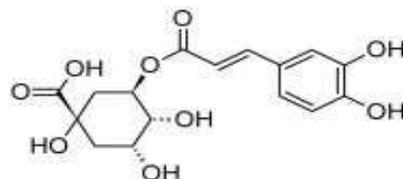
Apigenin-7-glucoside



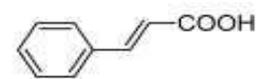
Apigenin-7-rutinoside



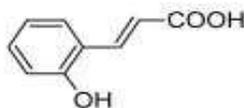
Caffeic acid



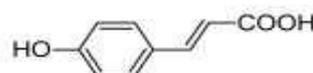
5-Caffeoylquinic acid



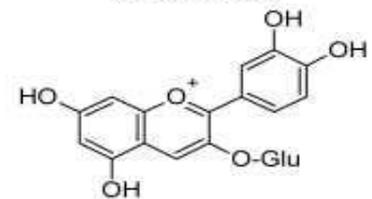
Cinnamic acid



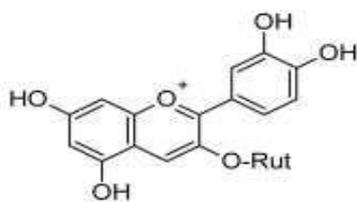
o-Coumaric acid



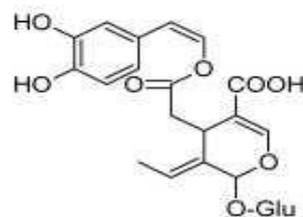
p-Coumaric acid



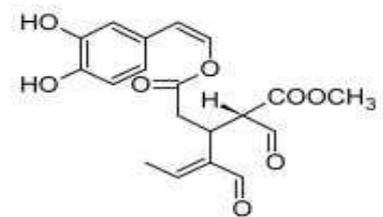
Cyanidin-3-glucoside



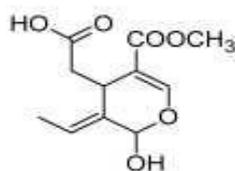
Cyanidin-3-rutinoside



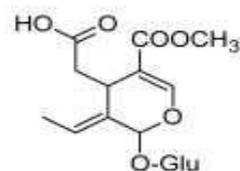
Demethylleuropein



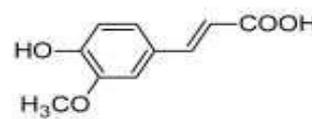
3,4-DHPEA-EDA



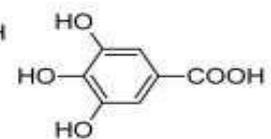
Elenoic Acid



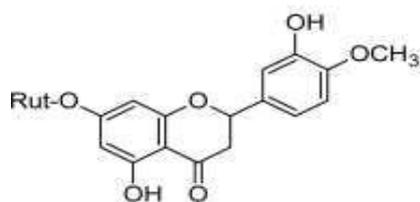
Elenoic acid glucoside



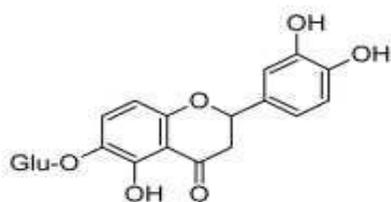
Ferulic acid



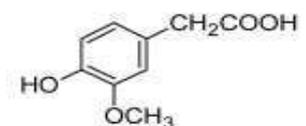
Gallic acid



Hesperidin



Homoorientin



Homovanillic acid

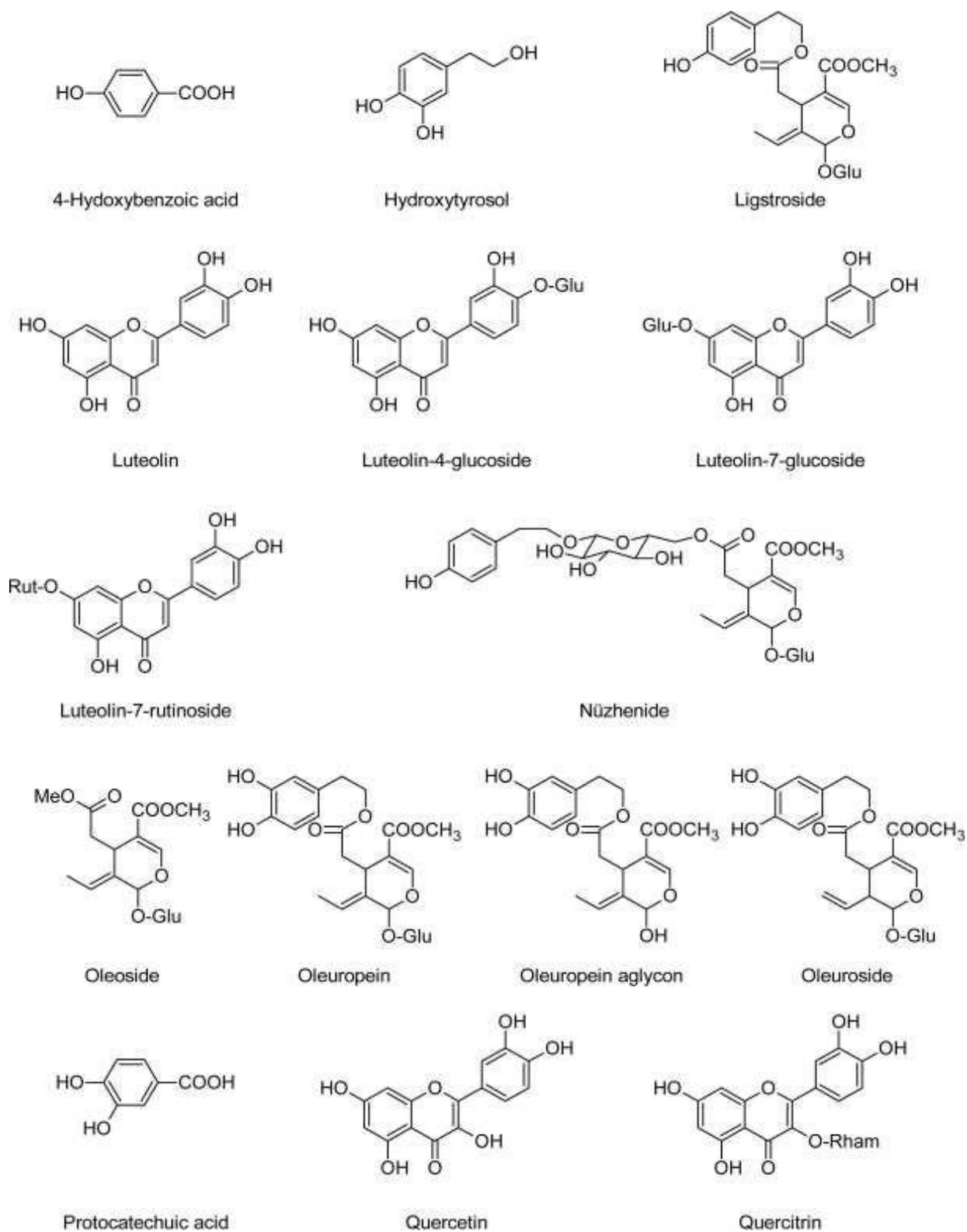


Figure N°27 : Structures chimiques des Polyphénols identifiés dans les fruits, les feuilles et les huiles d'olive classées par ordre alphabétique (Omar, S.H., 2010).

Annexe n°6

Tableau06 : Taux d'humidité et de matière sèche des variétés d'olive Chemlal et Azeradj.

Echantillon	Essai	Humidité (H%)	Moyenne (H%)	Matière sèche (MS%)	Moyenne (MS%)
Chemlal C	1	48,60	49,03	51,4	50,96
	2	50,90		49,1	
	3	47,61		52,39	
Azeradj A	1	55,95	54,44	44,05	45,56
	2	54,89		45,11	
	3	52,48		47,52	

Tableau07 : Composition en polyphénols totaux (mg EAG/100g MS) exprimés en acide gallique

L'extrait de pulpe d'olive Polyphénols	Azeradj	Chemlal
Polyphénol totaux (mg EAG/100g MS).	1053,88	923,69

Tableau08 : Composition en polyphénols totaux mg/kg exprimés en acide gallique

Echantillons polyphénol	Bejaia	Bougara	Larbaa	Médéa	Sétif	Tipaza
Polyphénols (mg/Kg)	429.23	390.76	346,53	292.69	461.92	185

Tableau 11 : Résultats de l'acidité des huiles d'olives étudiées

Echantillons	Acidité (%)	Moyenne (%)	Norme COI
Bejaia	1,12 0,84	0,98	3,3 %
Bougara	2,82 2,82	2,89	
Larbaa	1,97 1,69	1,83	
Médéa	2,82 3,10	2,96	
Sétif	1,97 2,25	2,11	
Tipaza	4,23 4,79	4,51	

Tableau 12: Résultats de l'indice d'acide des huiles d'olives étudiées.

Echantillon	Indice d'acide (Mg/g)	Moyenne (Mg /g)	Norme COI
Bejaia	2.24	1.96	6,6Mg/g
	1.68		
Bougara	5.61	5.61	
	5.61		
Larbaa	3.99	3.68	
	3.36		
Médéa	3.92	4.20	
	4.48		
Sétif	5.61	5,89	
	6.17		
Tipaza	8.41	9.25	
	10.09		

Tableau 13 : résultats de l'indice de peroxyde des huiles d'olives étudiées.

Echantillon	Indice de peroxyde Meq g D'O ₂ /Kg	Moyenne Meq g D'O ₂ /Kg	Norme COI
Bejaia	12	12.5	20 Meq gD'O ₂ /Kg
	13		
Bougara	15	14	
	13		
Larbaa	6	7	
	8		
Médéa	20	20.5	
	21		
Sétif	16	15	
	14		
Tipaza	22	24.5	
	27		

Tableau 14 : résultats de l'indice d'iode des huiles d'olives étudiées.

Echantillon	Indice d'iode	Moyenne	Norme COI
Bejaia	81,21	79,40	75-94
	77,40		
Bougara	92,63	93,90	
	95,17		
Larbaa	88,83	93,17	
	97,52		
Médéa	76,14	82,48	
	88,83		
Sétif	85,02	86 ,29	
	87,56		
Tipaza	97,21	94.02	
	90,83		

Tableau 15 : Résultats de l'indice de réfraction des huiles d'olives étudiées.

Echantillon	L'indice de réfraction	moyenne	Norme COI
Bejaia	1,4682	1 ,4678	1,4677-1,4705
	1,4675		
Bougara	1,4687	1,4683	
	1,4679		
Larbaa	1,4687	1,4686	
	1,4685		
Médéa	1,4692	1,4694	
	1,4696		
Sétif	1,4692	1,4692	
	1,4692		
Tipaza	1,4702	1,4704	
	1,4706		

Tableau 16 : Résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 232 nm des huiles d'olives étudiées.

Echantillon	Absorbance à 232nm	Moyenne	Norme COI
Bejaia	1,872	1,837	≤ 2,6
	1,802		
Bougara	2,394	2,347	
	2,300		
Larbaa	2,177	2,202	
	2,227		
Médéa	2,301	2,296	
	2,291		
Sétif	2,175	2,174	
	2,173		
Tipaza	1,980	1,981	
	1,983		

Tableau 17 : Résultats de l'absorbance dans l'Ultraviolet à une longueur d'onde de 270 nm des huiles d'olives étudiées.

Echantillon	Absorbance 270 nm	Moyenne	Norme COI
Bejaia	0,200	0,200	≤ 0,3
	0,200		
Bougara	0,220	0,220	
	0,221		
Larbaa	0,221	0,221	
	0,221		
Médéa	0,320	0,320	
	0,321		
Sétif	0,210	0,210	
	0,210		
Tipaza	0,310	0,310	
	0,310		

Glossaire

- **Apoptose** : Apoptose ou la mort cellulaire programmée est le processus par lequel des cellules déclenchent leur auto-destruction en réponse à un signal. C'est l'une des voies possibles de la mort cellulaire, qui est physiologique, génétiquement programmée (**Kerr , 202**).
- **Exocytose** : C'est le mécanisme par lequel la cellule libère de larges biomolécules à travers sa membrane. L'exocytose a lieu quand des vésicules de transport ou de sécrétion fusionnent avec la membrane plasmique et que leur contenu sort dans le milieu extracellulaire (**Burgoyne et Morgan , 2003**).
- **Hyperhémie** : L'hyperémie (qui peut aussi s'écrire «hyperhémie ») est un terme médical peu précis qui désignait autrefois une hausse anormale de l'afflux de sang dans un organe (**Humeau , 2001**) .
- **Hypocrétine** : Les orexines ou hypocrétines sont des neurotransmetteurs polypeptidiques de 30 acides aminés synthétisées par une population de neurones anatomiquement restreinte. Les neurones orexinergiques sont localisés dans l'hypothalamus latéral et dorso-médian ainsi que dans l'aire péri-fornicale (**Lin et al , 1999**) .
- **Myéline** : La myéline est une substance constituée principalement de lipides (sphingomyéline) dont les couches alternent avec des couches de protides. De façon générale, la myéline sert à isoler et à protéger les fibres nerveuses, comme le fait le plastique autour des fils électriques (**Bigler ,2012**).
- **Névroglie** : C'est un tissu de soutien situé à l'intérieur de l'encéphale et de la moelle épinière. Quatre types de cellule la constituent : les cellules épendymaires, les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules microgliales (**Aigouy ,2008**)
- **Opsine** : Les opsines forment une famille de protéines capables de réagir à l'énergie lumineuse grâce à sa liaison avec un chromophore particulier : le rétinol ou un de ses dérivés, formant ainsi une molécule mixte appelée rhodopsine. Ces protéines sont présentes dans

l'ensemble du vivant, et sont impliquées dans la grande majorité des processus de photosensibilité (**Findlay , 1986**) .

- **Phagocytose** : C'est est le processus cellulaire par lequel les micro-organismes sont détruits par certaines catégories de leucocytes, appelés phagocytes (ou cellules phagocytaires) (**Reichert , 2001**) .
- **Rhodopsine** : Pigment visuel des cellules à bâtonnets de la rétine, constitué d'un pigment dérivé de la vitamine A et d'une opsine en trois parties (protéique, phospholipidique et oligosaccharidique) (**Arthur , 2011**) .
- **Rythme circadien** : Un rythme circadien est un rythme biologique d'une durée de 24 heures environ. Le rythme veille-sommeil est celui qui marque le plus nos vies quotidiennes. Il est présent chez la plupart voire la totalité des animaux, incluant les invertébrés (**Lavie , 2001**) .
- **Spermatogenèse** : La spermatogenèse est le processus de production des spermatozoïdes, qui a lieu dans les tubes séminifères des testicules. Elle englobe les phénomènes qui, des spermatogonies, cellules souches diploïdes ($2n$ chromosomes), aboutissent aux spermatozoïdes, gamètes mâles haploïdes (n chromosomes) (**Richard , 2010**) .
- **Synaptogenèse** : C'est la formation des synapses. Bien qu'elle se produise tout au long de la durée de vie d'une personne saine, une explosion de la formation des synapses se produit au cours du développement précoce du cerveau. On prend pour exemple la mise en place de la jonction neuromusculaire (**Konig , 1975**) .
- **Système nerveux sympathique** : Le système nerveux sympathique ou système nerveux orthosympathique est une des trois parties du système nerveux autonome. Les deux autres parties sont le système nerveux entérique et le système nerveux parasympathique, ce dernier déclenchant (la plupart du temps) des réponses antagonistes au système nerveux orthosympathique (**Straznicky , 2008**) .

- **Vasoconstriction** : La vasoconstriction est un mécanisme physiologique correspondant à la diminution du diamètre des vaisseaux sanguins. Elle intervient normalement en réponse immédiate à la lésion d'un vaisseau pour en arrêter le saignement (**Bautista-Pérez , 2011**) .