



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2020

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

**Domaine :** SNV      **Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Microbiologie Appliquée

**Présenté par :**

Lounis Ferial & Habet Hayette

### *Thème*

Activité antibactérienne de l'huile d'olive enrichie par une plante médicinale (romarin).

**Soutenu le :** 13/07/2021

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>TIGHILET Karim</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>SAIT-DIB Sabrina</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>YOUSFI Massilia</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

**Année Universitaire : 2020/2021**

## **Remerciements**

*Nos vifs remerciements et profonds respects s'adressent tout d'abord à Mme Saït-Dib Sabrina pour avoir accepté de nous encadrer, de nous aider, de nous orienter et de nous conseiller tout au long de la réalisation de ce travail, pour sa patience, sa gentillesse, sa disponibilité et surtout sa confiance ainsi que sa rigueur scientifique au quotidien durant ces années.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à Mr Tighilet d'avoir accepté de présider notre jury et à Mme Yousfi pour avoir bien accepté d'examiner notre travail*

*Nos remerciements vont également à l'ensemble de nos enseignants de la spécialité de microbiologie appliquée ayant contribué à notre formation durant le cycle d'étude*

*Nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Un très grand merci à nos parents, merci pour tout, pour le soutien infaillible dans les moments les plus compliqués, pour les encouragements depuis toujours, par ce travail on tient à rendre hommages*

# *Dédicace*

Je dédie ce travail

A mes chers parents, pour leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leurs soutiens indéfectibles et sans limite et leurs prières tout au long de mes études. Que Dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral.

A mes chères cousines pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Sans oublier ma chère amie et binôme : Hayette.

*Ferial*

# *Dédicace*

A l'aide de DIEU, le tout puissant, ce travail est achevé :

Je le dédie à toutes les personnes qui me sont chères ; mes très chers parents pour leurs sacrifices, soutien et amour. Je leurs serai éternellement reconnaissante.

A ma mère, la perle la plus chère qui m'a entourée avec sa tendresse et qui n'a cessé de prier pour moi.

A mon cher père, la base de toute ma carrière qui m'apprit que la patience est le secret du succès.

A mon cher mari Abdel-Ghafour qui m'a encouragé dans mon parcours vers le savoir et le succès.

Mes frères bien-aimés : Yacine, Azdine merci pour votre générosité, votre affection, votre soutien moral et financier et pour tout le sacrifice que vous donnez pour moi.

A mes chers amies : Hanane, Karima pour leurs affection.

Ma chère amie et binôme Ferial. Je la remercie vivement pour son aide et son soutien avant, durant et après la réalisation de ce travail.

A tous ceux qui ont douté en mes compétences, je les remercie d'avoir été un effet de motivation supplémentaire.

A tous mes camarades de microbiologie. A toutes qui me connaissent de loin ou de près.

*Hayette*

## *Liste des abréviations*

- AGMI:** Acide gras mono-insaturé
- AGPI:** Acide gras polyinsaturé
- APG:** Angiosperm phylogeny group
- ANOVA:** Analysis of variance
- ATCC :** American type culture collection
- COI :** Conseil oléicole international
- cm :** Centimètre
- CMI :** Concentration Minimale Inhibitrice
- DO :** Densité optique
- g :** Le gramme
- h :** heure
- ORL:** Oto-Rhino-Laryngologie
- ROS:** Reactive oxygen species
- HDL:**High-densitylipoproteins
- Kg:** kilogramme
- LDL:**Low-densitylipoproteins
- Log :** logarithme
- M :**Masse molaire
- Meq :** Le milliéquivalent
- mg :** Milligramme
- NADH:** Nicotinamide adénine dinucléotide
- nm :** Le nanomètre
- PBST :** Tampon phosphate salin tween
- UFC :** Unité formant colonie
- VIH :** virus de l'Immunodéficience Humaine

## *Liste des tableaux*

<b>N° de tableau</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	<b>14</b>
<b>II</b>	Composition chimique du Romarin	<b>15</b>
<b>III</b>	Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles	<b>32</b>

## *Liste des figures*

<b>N° de figure</b>	<b>Titre de la figure</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Arbre d' <i>Olea europaea</i> .	<b>3</b>
<b>02</b>	Schéma d'une coupe transversale d'une olive.	<b>5</b>
<b>03</b>	Schéma des trois procédés d'extraction de l'huile d'olive.	<b>9</b>
<b>04</b>	Représentation schématique des différentes cibles d'acides gras dans la cellule bactérienne.	<b>11</b>
<b>05</b>	Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du romarin.	<b>13</b>
<b>06</b>	Carte représentant la localisation de la zone d'étude.	<b>20</b>
<b>07</b>	Carte représentant la localisation de la zone de récolte.	<b>24</b>
<b>08</b>	Evaluation de l'activité antibactérienne des différentes variétés de l'huile d'olive et l'huile d'olive aromatisée au romarin.	<b>26</b>

## ***Tables des matières***

Remerciement

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**Introduction générale..... 1**

### ***Première partie : Synthèse Bibliographique***

#### ***Chapitre I: Généralités sur l'olive et l'huile d'olive***

I.1.	Présentation d' <i>Olea europaea</i> .....	3
I.2.	Classification botanique de l'olivier .....	4
I.3.	Description et structure de l'olive .....	4
I.4.	L'huile d'olive.....	5
I.4.1.	Définition de l'huile d'olive.....	5
I.4.2.	Composition chimique de l'huile d'olive.....	5
I.4.2.1.	Fraction saponifiable .....	6
I.4.2.2.	Fraction insaponifiable .....	6
I.4.3.	Processus d'extraction de l'huile d'olive .....	8
I.4.3.1.	Effeillage et nettoyage.....	8
I.4.3.2.	Broyage .....	8
I.4.3.3.	Malaxage .....	8
I.4.3.4.	Extraction .....	8
I.4.4.	Catégories de l'huile d'olive .....	10
I.4.5.	Propriétés de l'huile d'olive .....	10

#### ***Chapitre II : Généralités sur *Rosmarinus officinalis****

II.	Généralités sur <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	13
II.1.	Description botanique de romarin.....	13

II.2. Historique.....	14
II. 3.Etymologie et Noms vernaculaires .....	14
II.4. Classification botanique.....	14
II.5. Aire géographique .....	14
II.6. Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	15
II.7. propriétés et emploi de romarin .....	15
II.7.1. Phytothérapie .....	16
II.7.2. Parfumerie et cosmétique.....	16
II.7.3. Industrie agro-alimentaire.....	16
II.7.4. Alimentation .....	17
II.7.5. Effets indésirables.....	17
II.8. Différentes activités biologiques .....	17
II.8.1. Activités antimicrobiennes .....	17
II.8.2. Activité antiparasitaire .....	18
II.8.3. Activité antioxydante... ..	18
II.8.4. Activité anti inflammatoire .....	19
II.8.5. Activité antitumorale .....	19

## ***Deuxième partie : Partie Pratique***

### ***Chapitre III : Matériel et Méthodes***

III.1 Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive .....	20
III.1.1. Présentation de la zone d'étude .....	20
III.1.2. Echantillonnage .....	20
III.1.3. Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive.....	21
III.1.3.1. Détermination de l'acidité libre.....	21
III.1.3.2. Détermination de l'indice de peroxyde .....	21
III.1.3.3. Détermination de l'extinction spécifique dans l'ultraviolet .....	22
III.1.4. Dosage des pigments .....	23
III.2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive et l'huile d'olive enrichie par <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	24
III.2.1 Matériel végétal .....	24
III.2.2. Préparation de l'huile d'olive enrichie par le romarin.....	24
III.2.3. Détermination de l'activité antibactérienne.....	24

III.2.3.1. Standardisation des inocula bactériens .....	25
III.2.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et d'huile d'olive Enrichie par le romarin .....	25
III.3. Etude statistique.....	27

## ***Chapitre IV : Résultats et Discussion***

IV.1. Indices de qualité d'huile d'olive .....	28
IV.1.1. Acidité .....	28
IV.1.2. Indice de peroxyde .....	28
IV.1.3. Absorbance dans l'ultraviolet.....	29
IV.1.4. Dosage des pigments .....	30
IV.1.4.1 Teneur en chlorophylles .....	30
IV.1.4.2. Teneur en caroténoïdes.....	30
IV.2. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et l'huile d'olive enrichie par le romarin .....	31
IV.2.1. L'activité antibactérienne vis-à-vis d' <i>Escherichia coli</i> .....	32
IV.2.2. L'activité antibactérienne vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
IV.2.3. Discussion générale de l'activité antibactérienne .....	33
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>36</b>

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

# *Introduction*

## Introduction

La propagation de bactéries résistantes aux antibiotiques est devenue un problème majeur des infections bactériennes ces dernières années, L'Algérie a signalé de multiples cas de bactéries multirésistantes (**Bouzenoune et al., 2009**), le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ce phénomène.

Les métabolites secondaires font de plus en plus l'objet de recherches scientifiques *in vivo* et *in vitro*, notamment les composés phénoliques et les huiles essentielles (**Gharabi, 2008**), De nombreuses études ont montré que les polyphénols contenus dans l'huile d'olive ont une activité antimicrobienne élevée contre un large spectre d'espèces pathogènes (**Medina et al., 2006; Karaosmanoglu et al., 2010**).

L'olivier (*Olea europaea L*) est un arbre du pourtour méditerranéen et appartenant à la famille des oléacées, Il se caractérise par ses fruits, ses olives et l'huile qui en est extraite, L'huile d'olive est riche en acides gras monoinsaturés, principalement représentés par l'acide oléique C18 :1 ω9, et en composés mineurs tels que les tocophérols, composés phénoliques, stérols et composés aromatiques (**Ghedira, 2008**). Il est important de noter que cette richesse en composés est exclusive à l'huile d'olive « extra vierge » car elle provient directement de la pression du fruit et n'a pas été raffinée ni lavée. Par conséquent, il conserve les qualités nutritionnelles spécifiques des olives et de ses composants, tels que les polyphénols (**Doveri et al., 2007**).

L'huile d'olive est très appréciée pour son goût unique et sa valeur sociale et culturelle, et en raison de sa valeur thérapeutique, diététique et nutritionnelle (**Ouedrhiri et al., 2017**).

Au cours des dernières années, il y a eu un intérêt pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle et des activités biologiques de l'huile d'olive par un enrichissement endogène en améliorant les conditions du procédé lui-même, ou par enrichissement exogène en incorporant des antioxydants pour le développement d'une médecine alternative (**Baydar et al., 2004**). Le présent travail s'intéresse à l'enrichissement d'une huile d'olive par la plante médicinale *Rosmarinus Officinalis* afin d'améliorer ses activités antibactériennes.

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis*) est une plante aromatique de la famille des Lamiacées, elle est largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (**Atikbekkara et al., 2007**).

Diverses recherches se sont concentrées sur l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes du romarin, conduisant à des résultats différents selon la localisation géographique des plantes récoltées (Yesil *et al.*, 2007).

La conception et la réalisation de ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources végétales via l'établissement de bases scientifiques pour justifier leur usage en médecine traditionnelle, nous nous sommes proposés d'étudier et d'évaluer l'efficacité de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive ainsi que le potentiel synergique de cette dernière lorsque associée au romarin tout en procédant à un classement de notre échantillon d'huile d'olive selon les normes internationales.

Dans ce cadre, ce travail est subdivisé en deux parties principales :

La première concerne une synthèse bibliographique partagée en deux chapitres, le premier illustre la description botanique et la répartition géographique de l'huile d'olive ainsi que ses vertus thérapeutiques. Le deuxième chapitre traite des généralités sur *Rosmarinus officinalis* et les activités biologiques.

La deuxième partie de ce travail est consacrée au travail expérimental proprement dit et comprend deux parties : matériel et méthodes où sont détaillés les analyses qualitatives et l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile d'olive et d'huile d'olive enrichie par le romarin. Puis la partie résultats et discussion est dédiée à l'illustration et la discussion des différents résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et des perspectives.

*Synthèse  
bibliographique*

*Chapitre I*  
*Généralités sur*  
*l'olive et l'huile*  
*d'olive*

### I.1. Présentation d'*Olea europaea*

L'olivier *Olea europaea*, appartient à la famille de plantes dicotylédones, comprenant 900 espèces, réparties en 25 à 26 genres. Ce sont des arbres qui ne vivent que sous le climat méditerranéen (Figure 01). La culture de l'olivier occupe des superficies très importantes dans le Bassin méditerranéen sur près de 10 millions d'hectares, avec une nette concentration des oliveraies au sein de quatre pays (Espagne, Italie, Tunisie et Grèce) qui regroupent les 2/3 des superficies oléicoles mondiales. Toutefois, dès que les conditions climatiques le permettent, la culture de l'olivier apparaît immédiatement et présente une place notable dans les paysages ; en cela, il borne parfaitement l'aire méditerranéenne dans laquelle il s'épanouit (**Angles, 2012**).



**Figure 01** : Arbre d'*Olea europaea* (**COI, 2007**).

L'olivier est largement connu depuis l'Antiquité et a toujours symbolisé la paix et la santé. Il nécessite peu d'entretien et peut même pousser sur des terrains accidentés. C'est l'une des plantes avec la plus longue durée de vie. Certains oliviers ont en effet des centaines d'années. L'olivier commence à porter de nombreux fruits la huitième année et entre dans la première étape de sa croissance, qui durera jusqu'à la trentième année. Ensuite, il continue à croître jusqu'à cent ans (**Cecchini et al., 2008**).

L'olivier est utilisé comme plante médicinale et toutes ses parties ont des composés ayant une activité biologique définie et des propriétés thérapeutiques précises. Les feuilles de l'olivier sont connues pour leur effets diurétiques, hypoglycémiques et antihypertensives. Elles sont à usage externe (cicatrisantes) et soulagent les troubles intestinaux (**Breton et al., 2012**).

### I.2. Classification botanique de l'olivier

Les oliviers appartiennent à la famille des Oleaceae, avec 20 à 30 genres (**Wallander et Albert, 2000**). Le genre *Olea* comprend environ 30 espèces, appartenant aux trois sous-genres, *Tetrapilus*, *Paniculatae* et *Olea*, que l'on trouve respectivement en Asie, en Australie et dans les pays voisins du bassin méditerranéen (**Breton et al., 2008**).

*Olea* est divisée en 2 parties : *Ligustrum* (environ 10 espèces) et *Olea* (01 espèce *europaea*). *Olea europaea* est divisée en six sous-espèces selon la morphologie et la répartition géographique (**Green, 2002; Breton et al., 2008**):

- 1) Sous espèce *cuspidata*, répandue en Chine, Inde, Pakistan, Iran, Arabie, Afrique
- 2) Sous espèce *laperrinei*, limitée aux régions Sahariennes
- 3) Sous espèce *maroccana*, limitée au Maroc
- 4) Sous espèce *merasiformis*, limitée aux îles des Madeira
- 5) Sous espèce *guanchica*, limitée aux îles des Canarie
- 6) Sous espèce *europaea*, largement distribuée tout au long du bassin méditerranéen

Selon la classification phylogénique APGIII (**The Angiosperm Phylogeny Group, 2009**), la position systématique de l'olivier est :

**Règne** : Plantae

**Sous-règne** : Tracheobionta

**Embranchement** : Magnoliophyta

**Classe** : Magnoliopsida

**Sous-classe** : Asteridae

**Ordre** : Lamiales

**Famille** : Oleaceae

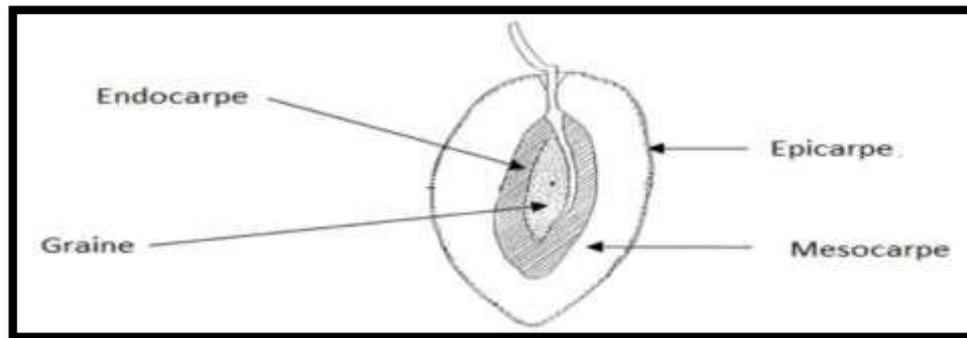
**Genre** : *Olea*

**Espèce** : *Olea europaea* L.

### I.3. Description et structure de l'olive

Le fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) est une drupe globuleuse à ellipsoïde constitué d'un système polyphasé (**Edelfelt., 2015**) (Figure 02). En partant de la partie extérieure du

fruit, on retrouve : **l'épicarpe** (2-2,5% poids du fruit) qui a comme rôle principal de minimiser les dommages mécaniques ainsi que les attaques des mouches. Solidement attaché à la pulpe, sa couleur passe du vert tendre (olive verte), au violet ou rouge (olive tournante) puis au noir. **Le mésocarpe** (70-80%) est charnu et riche en huile (30% pour olive noire). **L'endocarpe** (noyau) (15-23%) est scléreux, très dur, et de différentes formes, ses caractéristiques pouvant être utilisées pour identifier les variétés (**Loussert et Brousse, 1978; Villa, 2003; Boskou, 2006**).



**Figure 02:** Schéma d'une coupe transversale d'une olive (**Bianchi, 2003**).

### I.4. L'huile d'olive

L'huile d'olive est un produit typiquement méditerranéen. L'huile d'olive est un produit intéressant d'un point de vue nutritionnel, grâce à la présence d'acides gras mais il est surtout intéressant en raison de ses quelques composés (tels que les polyphénols). La valeur nutritionnelle de ces composés phénoliques réside dans leur forte activité antioxydante, qui peut prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies dégénératives et cardiovasculaires (**Veillet, 2010**).

#### I.4.1. Définition de l'huile d'olive

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

#### I.4.2. Composition chimique de l'huile d'olive

La composition de l'huile d'olive dépend principalement du type de fruit, de la zone de culture et des conditions climatiques. (**Djadoun, 2011**). L'huile d'olive est constituée d'une fraction lipidique prédominante (fraction saponifiable) comprenant les triglycéridiques et les acides gras libres. La fraction insaponifiable renferme les stérols, les alcools

aliphatiques, les pigments, les hydrocarbures, les composés aromatiques, les tocophérols et les composés phénoliques (Servili *et al.*, 2004).

### I.4.2.1. Fraction saponifiable

- **Acide gras**

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides présents dans l'huile d'olive sous forme de glycérine ou sous forme libre, c'est des molécules organiques contenant une chaîne carbonée terminée par un groupement carboxyle. Cette chaîne carbonée peut ne contenir aucune double liaison carbone-carbone, auquel cas les acides gras sont dits saturés, et elle peut être pourvue d'une double liaison mono insaturée (AGMI) ou plusieurs doubles liaisons poly insaturées (AGPI). Le principal acide gras de l'huile d'olive est l'acide oléique (55-83%), les deux autres acides importants sont l'acide palmitique (7,5 à 20%) et l'acide linoléique (3,5 à 21%) (Haslam, 2005). D'autres acides gras sont présents en faible quantité : les acides stéarique, linoléique, palmitoléique et arachidique (Hannachi *et al.*, 2009).

- **Triglycérides**

Les triglycérides sont les composés les plus abondants des lipides simples et forment la masse essentielle des corps gras. Ils sont issus de l'estérification des trois fonctions alcools du glycérol par trois acides gras. Les triglycérides peuvent être homogènes lorsque les molécules d'acide gras qui estérifient le glycérol sont identiques ou hétérogènes dans le cas contraire (Lomenech, 2010).

### I.4.2.2. Fraction insaponifiable

- **Stérols**

Les stérols représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive. Ils sont présents sous forme libre ou estérifiée avec les acides gras (Piroddi *et al.*, 2017). Ils sont des composés importants pour la stabilité de l'huile puisque ils agissent comme inhibiteurs des réactions de polymérisation à température élevée et fournissent un important paramètre pour la détection de fraudes ainsi que l'adultération des huiles (Boskou *et al.*, 2006). Les plus abondants sont le  $\beta$ -Sitostérol, 5-Avenastérol et Campesterol avec des pourcentages respectifs d'environ 75- 90%, 5-20% et 4% (Gorinstein *et al.*, 2003).

- **Squalène**

Le squalène est un terpène insaturé (Owen *et al.*, 2000). Il est caractérisé par une stabilité élevée sous des conditions d'autoxydation et contribue ainsi à la stabilité de l'huile

d'olive après exposition à la lumière (Nenadis et Tsimidou, 2002). la présence de squalène dans l'huile d'olive a un effet chimiopréventif contre certains cancers (Smith *et al.*, 1998).

- **Les tocophérols (Vitamine E)**

Il existe quatre formes de tocophérol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ). L' $\alpha$ -tocophérol a la plus forte activité antioxydante, représentant plus de 95% des tocophérols totaux. Ces teneurs varient de 100 à 300 mg / Kg pour une huile d'olive de bonne qualité (Ryan *et al.*, 1998). En fonction de nombreux facteurs, dont le type d'olive et sa maturité, ainsi que les conditions et la durée de conservation de l'huile la teneur en vitamine E change (Assmann et Wahrburg, 1999).

- **Les pigments**

Les chlorophylles et les caroténoïdes sont les principaux pigments présents dans les huiles végétales. Ils sont responsables de la couleur verdâtre à jaune de l'huile d'olive. La couleur est un attribut de base pour la détermination des caractéristiques de l'huile d'olive, leurs teneurs dépend de la maturité des olives (Joaqin et Carmen, 2002).

- **Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques, métabolites secondaires, forment le groupe des composés organiques phytochimiques le plus importants chez les végétaux . L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles (Bendini *et al.*, 2007). Les taux des polyphénols totaux dans l'huile d'olive varient entre 50 et 1000 mg kg<sup>-1</sup> (Tuck et Hayball, 2002). Ce sont des molécules naturelles qui donnent à l'huile des caractéristiques organoleptiques et contribuent à la bonne stabilité de l'huile à l'auto-oxydation (Perrin, 1992). Les plus importantes classes phénoliques rencontrées dans l'huile d'olive sont: Dérivés des sécoiridoïdes (L'oleuropéine et le ligstroside), Alcools phénoliques (hydroxytyrosol et tyrosol), Lignanes (pinoresinol et le 1-acétoxypinoresinol), Flavonoïdes, Acides phénoliques (Bendini *et al.*, 2007; Servili *et al.*, 2014, Diamantakos *et al.*, 2015).

- **Substances aromatiques**

Les composés volatils ou aromatiques sont des molécules qui définissent les caractéristiques organoleptiques de l'huile d'olive . Approximativement 280 molécules sont identifiées dans la fraction volatile des huiles d'olive. Elles sont réparties en différentes classes alcools, aldéhydes, cétones et esters (Ghanbari *et al.*, 2012).

### **I.4.3. Processus d'extraction de l'huile d'olive**

La production de l'huile d'olive a toujours été le principal objectif de la culture de l'olivier. Des méthodes d'extraction ont été développées mais le processus d'extraction de l'huile reste inchangé. Il inclut quatre opérations principales : Le lavage des fruits, le broyage, le malaxage et enfin la séparation de chaque phase : grasse (huile), solide (grignons) et aqueuse (margines) (**Benlemlih & Ghanam, 2012**).

#### **I.4.3.1. Effeillage et nettoyage**

Cette opération s'effectue par un appareil automatique équipé d'un système d'aspiration pour enlever les branches et les feuilles, suivi par un lavage pour éliminer les substances étrangères (saletés, moisissures...) attachées aux olives. Afin d'obtenir un produit exempt d'impuretés, il semble que plusieurs lavages consécutifs soient nécessaires (**Chimi, 2006**). Ces dernières opérations sont très importantes, car elles protègent les broyeurs métalliques d'une part, et d'autre part empêchent les propriétés organoleptiques de l'huile de se détériorer (couleur foncé, odeur particulière, amertume) (**Aissam, 2003**).

#### **I.4.3.2. Broyage**

Cette opération consiste à casser les parois et les tissus des olives pour libérer les gouttelettes d'huile contenues dans les vacuoles des cellules d'olives. Le broyage peut être effectué à l'aide des moulins en pierre (appareils traditionnels), des marteaux ou des disques (appareils modernes) (**Veillet, 2010**). Selon les normes du Conseil Oléicole International (COI), le temps de broyage ne doit pas dépasser 20 à 30 minutes. Si le broyage est prolongé, les polyphénols antioxydants naturels et l'huile produite seront oxydées en présence de l'air et cette dernière perd sa qualité (**Ouaouich et Chimi, 2007**).

#### **I.4.3.3. Malaxage**

Le malaxage consiste à broyer lentement et en continu la pâte d'olive à température appropriée, afin de libérer le maximum d'huile en éclatant les vacuoles qui sont restées intactes pendant l'étape de broyage et de collecter les gouttelettes d'huile en gouttelettes plus grosses. Le temps de malaxage varie généralement entre 15 à 30 min (**Aissam, 2003**).

#### **I.4.3.4. Extraction**

Le broyage et le malaxage entraînent la formation d'une pâte uniforme, qui facilite l'extraction de l'huile d'olive. Cette dernière contient de la matière solide et du fluide. La

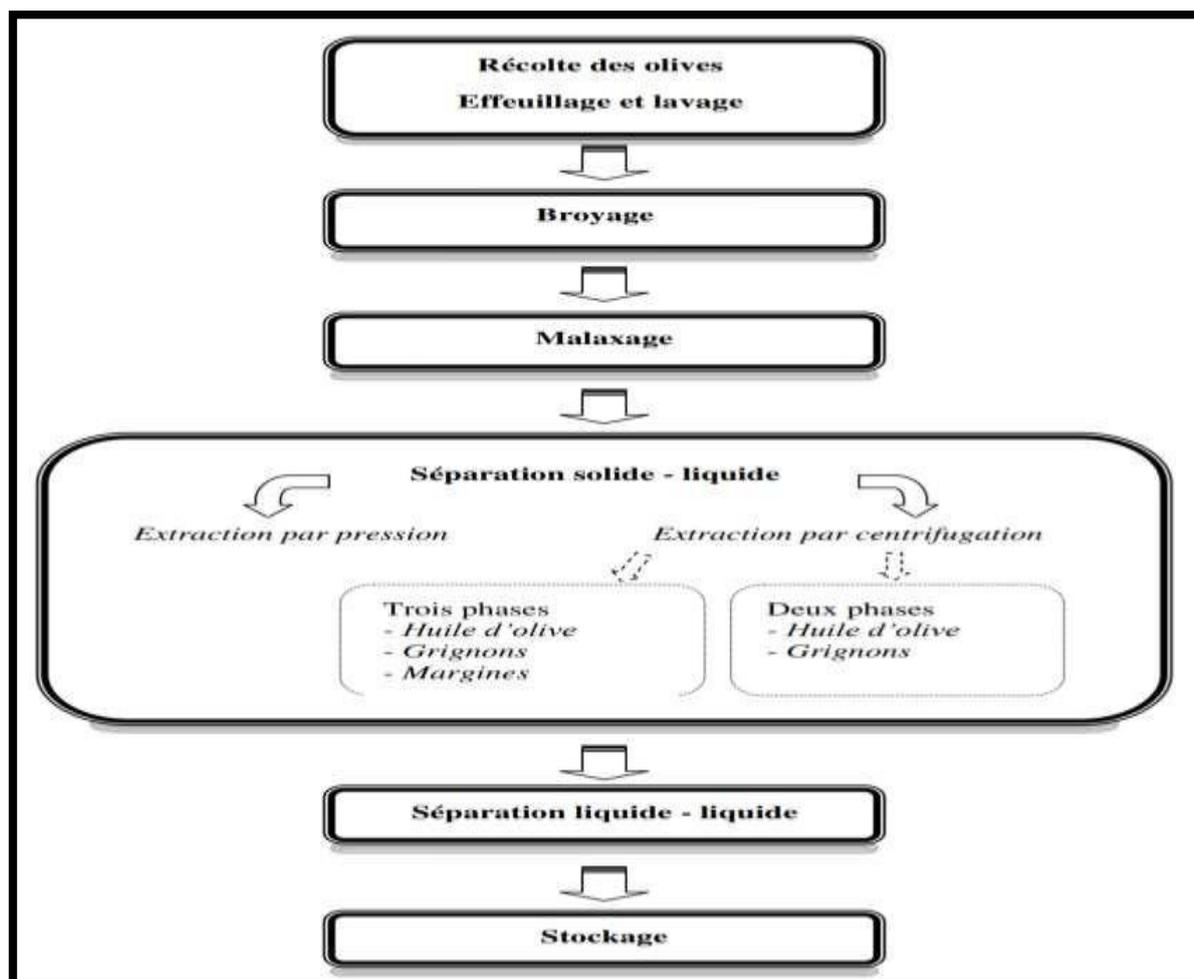
matière solide dite grignons d'olives est composée de débris de noyaux, d'épiderme, et de résidus de paroi cellulaire, tandis que la phase fluide est composée d'huile et des margines (Benlemlih & Ghanam, 2012).

#### ✚ Système d'extraction par pression

Il s'agit d'un système d'extraction discontinu qui utilise des presses métalliques, Sous pression, la pâte d'olive libère le moût huileux (huile et margines), la séparation des phases se fait par décantation ou par centrifugation (Chimi, 2006).

#### ✚ Système d'extraction par centrifugation

Le système de centrifugation utilise la différence entre la densité spécifique de la phase solide (grignons) et des phases liquides (huile et margines), les séparateurs utilisés sont des centrifugeuses, généralement de type horizontal (Uzzan, 1994; Benyahia et Zein, 2003).



**Figure 03** : Schéma des trois procédés d'extraction de l'huile d'olive (Zbakh et El Abbassi, 2012).

## I.4.4. Catégories de l'huile d'olive

On désigne par l'huile d'olive vierge toute huile extraite du fruit de l'olivier (*Olea europaea L.*) uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas d'altération de l'huile. L'huile d'olive vierge ne doit avoir subi aucun autre traitement que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (COI, 2003). Les huiles d'olive peuvent être répertoriées selon diverses catégories établies selon les caractéristiques physicochimiques et organoleptiques des huiles. Le Conseil Oléicole International (COI, 2019) a ainsi répertorié quatre catégories d'huile d'olive qui sont rassemblées dans le tableau en annexe 1.

## I.4.5. Propriétés thérapeutiques de l'huile d'olive

L'huile d'olive est un produit ancestral et est largement reconnue pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Sa consommation est liée à la faible incidence des maladies cardiovasculaires, neurologiques et cancéreuses. Ces avantages sont attribués aux nutriments et aux éléments fonctionnels de l'huile, tels que l'acide linoléique, les vitamines et les antioxydants naturels (Matos et al., 2007).

### Propriétés nutritionnelles

Dans la plupart des cas, les maladies cardiovasculaires sont causées par l'accumulation de lipides et de cholestérol dans le sang. Les lipides et le cholestérol présents dans la circulation sanguine ont tendance à se déposer sur la paroi artérielle (réduire le diamètre du conduit artériel) et à augmenter la pression artérielle. (Montpellier, 2019). Des études ont montré que l'acide oléique réduit spécifiquement le taux du cholestérol total et le LDL qui conduisent à formation de l'athérosclérose et augmente le HDL. Il est également impliqué dans la régulation de la pression artérielle (Perez-Jiménez et al., 2007 ; Perona et al., 2010).

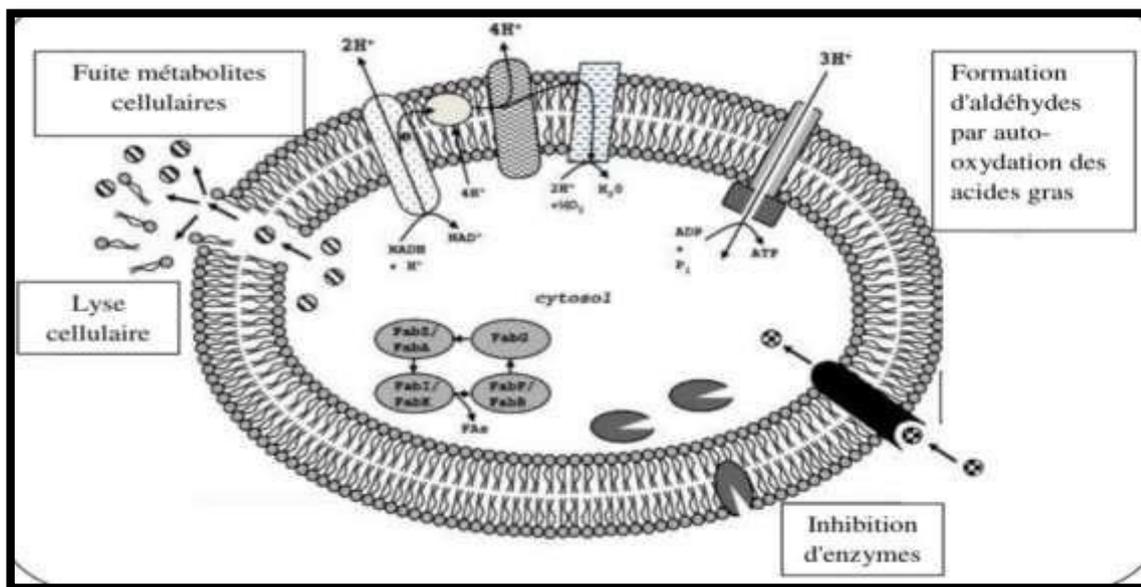
Une alimentation riche en huile d'olive est non seulement un bon choix pour le traitement du diabète, mais aussi en évitant la résistance à l'insuline et ses éventuelles conséquences. Il permet également de prévenir ou de retarder l'apparition de la maladie (Montpellier, 2019).

### Propriétés antimicrobiennes

L'huile d'olive est composée principalement de composants lipidiques, Plusieurs études ont rapporté l'activité antibactérienne des acides gras. Huang et al. (2010) ont montré une meilleure activité antimicrobienne des acides linoléique et oléique vis-à-vis divers

microorganismes pathogènes présents dans la cavité buccale (Gram- et + ainsi qu'une levure), en revanche **Choi et al. (2013)** ont détecté un effet uniquement des acides gras polyinsaturés (C18:2 et C18:3), les saturés et monoinsaturés présentent une très faible activité.

Bien que le mécanisme antibactérien des acides gras ne soit pas clair, ces composés sont similaires à la membrane bipolaire des cellules bactériennes, avec une tête hydrophile et une queue hydrophobe. Cette similitude indique que l'acide gras pénètre dans la membrane et détruit sa fonction. . D'autres méthodes qui peuvent aider à inhiber la croissance des microorganismes comprennent l'inhibition de l'activité enzymatique, **Zheng et al. (2005)** ont rapporté que l'acide linoléique inhibe L'énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase à NADH (FabI) responsable de la synthèse des acides gras chez *S. aureus* et *E. coli*. D'autre part, l'altération de l'absorption des nutriments ainsi qu'une production d'autres composés tels que les produits d'auto-oxydation inhibent la croissance microbienne (Figure 04) (**Desbois et Smith, 2010**).



**Figure 04** : Représentation schématique des différentes cibles d'acides gras dans la cellule bactérienne (**Desbois and Smith, 2010**).

Plusieurs études attestent du rôle incontestable des composés phénoliques de l'huile d'olive dans l'inhibition d'innombrables bactéries pathogènes. **Bisignano et al. (1999)** ont rapporté l'effet inhibiteur de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol sur cinq souches bactériennes de référence (*Haemophilus influenzae* ATCC 9006, *Moraxella catarrhalis* ATCC 8176, *Salmonella typhi* ATCC 6539, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et sur quarante-quatre souches cliniques. Il a été démontré que le mécanisme de toxicité s'effectue, soit par la privation des ions métalliques

(fer, magnésium), soit par des interactions non spécifiques tel que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires (les adhésines), afin d'inactiver l'adhésion des microorganismes ou bien les enzymes, telle que les enzymes hydrolytiques (protéases et carboxylases) ou autres interactions pour inactiver des transporteurs protéiques membranaires ou découplage des réactions énergétiques, ce qui conduit à la dénaturation de la membrane cytoplasmique entraînant une fuite des constituants cellulaires (Cowan, 1999; Zaidi-Yahiaoui *et al.*, 2008).

### Propriétés antioxydantes

L'oxydation est un mécanisme qui se produit non seulement lors de la production de graisses, mais aussi dans l'organisme humain. La réaction conduisant à la formation de radicaux libres (peroxydes) se produit tout le temps dans l'organisme humain. D'une manière générale, ces radicaux libres ne causent pas de dommages majeurs, grâce aux effets protecteurs des antioxydants, qui aident à maintenir un certain équilibre. Cependant, la perturbation de cet équilibre conduira au phénomène de "stress oxydatif", qui finira par modifier le fonctionnement normal des cellules ou provoquer la mort cellulaire (Montpellier, 2019).

Les agents antioxydants rencontrés dans l'huile d'olive sont la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol), les caroténoïdes ( $\beta$ -carotène) et des composés phénoliques simples comme l'hydroxytyrosol et des phénols complexes (Ghedira, 2008). La vitamine E est un puissant antioxydant lipophile qui protège généralement les cellules des dommages liés aux radicaux libres en donnant de l'hydrogène aux groupes peroxyde, produisant ainsi des complexes stables (Edelfelt, 2015).

### Propriétés anti tumorales

Diverses études épidémiologiques ont montré que l'huile d'olive a un effet protecteur contre certains types de tumeurs malignes (sein, prostate, endomètre, tractus digestif, etc.) (Trichopoulou *et al.*, 2000).

L'acide oléique est impliqué dans la régulation de l'expression de certains oncogènes. Sur des modèles expérimentaux, d'autres substances actives sont liées à l'effet anticancéreux de l'acide oléique, comme le squalène, notamment dans la prévention du cancer du côlon et du cancer du sein. L'hydroxytyrosol et l'oleuropéine s'opposent à la prolifération de cellules du cancer du sein en inhibant la croissance tumorale (apoptose) à différents niveaux (Gigon et Le Jeune, 2011).

*Chapitre II*  
*Généralités sur*  
*Rosmarinus*  
*officinalis*

**II. Généralités sur *Rosmarinus officinalis***

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme car il les utilise pour se nourrir, se soigner et parfois même dans ces cérémonies religieuses (Mebarki, 2010). Actuellement, le romarin est l'une des plantes médicinales les plus intéressantes pour protéger et conserver la santé (Leplate, 2017). C'est une plante commune à l'état sauvage et l'une des plantes les plus appréciées d'Algérie, que l'on retrouve dans tous les jardins et parcs en bordure odorante (Zermane, 2010).

**II.1. Description botanique de romarin**

Le romarin est un arbuste de la famille des Lamiacées, il mesure 50 cm à 1 mètre voire plus, il est toujours vert, très parfumé, très ramifié et très feuillu (Eloutassi, 2004). Les feuilles sont coriaces, persistantes, sessiles, linéaires, entières, avec des bords bouclés, vertes, légèrement formées sur le dessus et blanc duveteux sur le dos (Rameau *et al.*, 2008). L'écorce se détache sur les branches les plus âgées. L'odeur est très parfumée et dure à partir de la période de floraison qui commence à fleurir. Les mois de janvier / février durent jusqu'en avril / mai. (Zeghad, 2009).

Les fleurs sont attachées au sommet des rameaux, bleu clair à blanchâtres, presque sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales, pièces lancéolées tomenteuses (Zeghad, 2009).

Le calice est velu et les dents ont des bords blancs. Comme la plupart des Lamiacées, elles ont deux étamines et de petites dents à la base. Le fruit ovoïde est entouré d'un calice sec de longue durée composé de quatre akènes (Tétrakène). Il attire les insectes (Entomophiles) pour assurer la pollinisation (Entomogame) (Eloutassi, 2004).



**Figure 5** : Tige principale et rameau feuillé à fleurs du Romarin (Eloutassi, 2004).

## II.2. Historique

Le romarin était rempli de symboles variés dans les cérémonies religieuses dans les temps anciens, ce qui en faisait une couronne. Il a été utilisé pour formuler le médicament connu depuis longtemps «l'eau de la reine de Hongrie», qui est en fait une sorte de vin, les médecins arabes utilisaient beaucoup de romarin, et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle (Fuinel, 2002).

## II.3. Etymologie et Noms vernaculaires

Le « romarin » c'est un nom vient du latin « ros marinus » (rosée de mer), ou bien du grec « rhapsmyrinos » (buisson aromatique) ou encore du latin « rhusmarinus » (Sumac de mer) (Helmut, 1996; Rameau, 2008). On l'appelle également « herbe-aux-couronnes » (Huguette, 2008).

Les appellations régionales en Algérie, les plus souvent sont;

- Région de l'Est : Eklil
- Région de l'Ouest : Helhal
- Région du Centre : Yazir. (Makhloof *et al.*, 2010).

### II.2.2. Classification botanique

**Tableau I :** Classification botanique de l'espèce de *Rosmarinus officinalis* (Frouhat *et al.*, 2013).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>

## II.4. Aire géographique

Le romarin volontaire pousse le long de la côte méditerranéenne et du sud-ouest de l'Asie, et est généralement cultivé comme clôture dans les jardins. Il est principalement distribué dans les

arbustes non loin de la mer. En Algérie, le romarin est l'une des sept plantes qui comptent plus de 50 000 hectares sur le territoire du pays (Zoubeidi, 2004; Mokhtari *et al.*, 2008).

**II.3. Composition chimique de *Rosmarinus officinalis***

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance et de récolte ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif (idéal quand le végétal a le maximum d'essence) (Staub *et al.*, 2013).

Dans la feuille, les composés chimiques retrouvés sont, par famille (Bruneton, 2016):

1. Acides phénols ou dérivés caféiques : acides caféique, chlorogénique et rosmarinique. L'acide rosmarinique est un ester de l'acide caféique et de l'acide  $\alpha$ -hydroxy-dihydro caféique.
2. Flavonoïdes : hétérosides du lutéolol, du diosmétol, et flavonesméthoxylées.
3. Diterpènes tricycliques : acide carnosique et carnosol principalement.
4. Triterpènes : acides ursolique et oléanique, et amyryne.
5. Huile essentielle.

**Tableau II :** Composition chimique du Romarin (Zeghad, 2009).

Huiles essentiels	1,8 cinéole, alpha-pinène camphre de romarin camphène
Flavonoïdes	lutéoline, quercetine ,genkwanine, cirsimaritine , ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline , apigénine
Diterpènes	Acide carnosolique, rosmadial
Triterpènes et Stéroïdes	acide aléanolique , acide ursotique
Lipides	n-alkanes, isolalkanes, alkènes
Acides phénoliques	Acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique . Acide rosmarinique, Rosmaricine .

**II.4. propriétés et emploi de romarin**

Les parties utilisées sont les feuilles, les sommités fleuries, séchées, ou l'huile essentielle qui sont utilisées en phytothérapie (Bousbia, 2011).

### II.4.1. Phytothérapie

#### Voie externe

Pour les traitements externes (entorses, foulures, contusions, torticolis), utilisez des tops imbibés d'alcool. L'extrait alcoolique agit lui-même sur les ulcères, les plaies et les maladies parasitaires de la peau. La décoction peut être utilisée dans les gargarismes (amygdalite) et les bains de bouche (aphtes), et peut également être ajoutée aux bains stimulants (**Bousbia, 2011**). L'huile essentielle de romarin soulage les rhumatismes et les troubles de la circulation sanguine optimisme, il peut guérir les blessures, soulager les maux de tête, améliorer la mémoire et la concentration, restaurer le corps, combattre les effets du stress et de la fatigue et traiter l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL (**Dias et al., 2000; Bousbia, 2011**).

#### Voie interne

Le romarin est un médicament stimulant, antispasmodique. Il est stimulant dans la fermentation intestinale, les asthénies, la fatigue, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses et la grippe.

En tant qu'antispasmodique, il est bénéfique pour la mucite bronchique chronique, la coqueluche et les vomissements neurogènes; il est utilisé pour la cholécystite chronique, certaines ascites et la cirrhose du foie, la jaunisse et les maladies bénignes de la vésicule biliaire; c'est aussi un agent menstruel (aménorrhée et dysménorrhée) et des agents diurétiques (agents œdémateux), des médicaments anti-VIH et anticancéreux (**Paris et al., 1993; Haloui et al., 2000**).

### II.4.2. Parfumerie et cosmétique

Le romarin est utilisé dans les parfums, en particulier les parfums masculins, les arômes d'agrumes (eaux de Cologne), de bois et de fougère, et dans la formulation de pommades pour la peau, par ce que le romarin a la capacité de stimuler les terminaisons nerveuses de la peau (**Bousbia, 2011**), il peut être utilisé comme tonique dans des bains moussants, et ecchymose des muscles fatigués. Dans les lotions et les shampooings, l'extrait de romarin stimule le cuir chevelu (**Martini, 2011**).

### II.4.3. Industrie agro-alimentaire

Les extraits végétaux de romarin ont un important pouvoir antioxydant et peuvent être utilisés pour la conservation des huiles alimentaires et lipidiques. Ces propriétés sont attribuées aux acides polyphénoliques et les huiles essentielles (**Ponce et al., 2008; Zoubeidi, 2004**).

**II.4.4. Alimentation**

Les épices et l'huile de romarin sont largement utilisées dans les aliments : les épices sont utilisées dans les aliments cuits, la viande, les condiments, les aliments transformés, les sauces. L'huile est utilisée dans les desserts, les aliments surgelés, les bonbons, les produits de boulangerie, la gélatine, viande, nourriture diététique et tisane (Zoubeidi, 2004; Moino *et al.*, 2008).

**II.4.5. Effets indésirables**

Des réactions allergiques ont également été signalées. Le contact direct avec les plantes ou l'un de leurs extraits peut provoquer une dermatite de contact allergique. Cette réaction est due à la présence de carnosol dans le romarin (Miroddi *et al.*, 2014).

**II.5. Différentes activités biologiques****II.5.1. Activité antimicrobienne****A. Activités antibactérienne**

Le Romarin a été testé sous différentes formes contre différentes bactéries à Gram positif ou négatif responsables de différents types de pathologies :

**Boutabia *et al.*, (2016)** ont étudié l'activité des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* sur trois souches bactériennes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter*sp) par la technique d'aromatogramme, ils ont montré que l'effet antimicrobien de ces huiles est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les bactéries testées.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* ainsi que celle du 1,8-cinéole et de l' $\alpha$ -pinène ont été testées sur trois bactéries à Gram positif (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) et trois bactéries à Gram négatif (*Proteusvulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*). Les principaux composants de l'huile essentielle de Romarin sont le 1,8-cinéole (26,54%) et l' $\alpha$ -pinène (20,14%) ; le camphre (12,88%), le camphène (11,38%) et le  $\beta$ -pinène (6,95%). L'huile essentielle montre une activité antibactérienne plus élevée par rapport au 1,8-cinéole et à l' $\alpha$ -pinène contre toutes les bactéries testées. Les auteurs de cette étude concluent que le Romarin pourrait constituer un antimicrobien naturel dans le domaine alimentaire et l'industrie pharmaceutique (Jiang *et al.*, 2012; Jardak *et al.*, 2017). Une autre étude a révélé que la bactérie *Escherichia coli* est sensible vis-à-vis l'huile essentielle du romarin. L'huile a empêché également la réplication du plasmide métabolique d'*Escherichia coli* (Schelz *et al.*, 2006).

**B. Activité antifongique**

Les huiles essentielles agissent sur un large éventail de moisissures et de levures en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'allongement du mycélium, la formation de spores et la production de mycotoxines (**Jardak, 2017**).

Les levures du genre *Candida* sont des espèces opportunistes, et elles peuvent devenir pathogènes chez les patients fragiles, tels que les patients dont le système immunitaire est affaibli ou les patients qui ont été traités avec des antibiotiques à large spectre pendant une longue période. L'huile essentielle de Romarin montre des CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices) inférieures à celles du bifonazole en particulier contre *Candida albicans* indiquant une action antifongique significative (**Bozin et al., 2007**). Elle a également montré des CMI inférieures à celles du bifonazole surtout contre *Trichophyton tonsurans* et *T. rubrum* qui sont des champignons microscopiques filamenteux, responsables de mycoses des cheveux, des ongles et de la peau [kératine] chez l'Homme (ou l'animal) (**Bozin et al., 2007**).

**II.5.2. Activité antiparasitaire**

L'huile essentielle de romarin et la nanoémulsion ont montré une activité antiparasitaire contre leishmania. Par rapport à la solution témoin, la nanoémulsion a considérablement réduit le nombre de parasites dans les macrophages (**Shokri et al., 2017**).

**II.5.3. Activité antioxydante**

Les antioxydants sont des molécules capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans le corps et aide à maintenir au niveau cellulaire des concentrations non cytotoxiques d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), les mécanismes d'action des antioxydants sont divers incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

Le romarin est l'une des principales ressources en antioxydants naturels. Les composés les plus importants sont : l'acide carnosique et l'acide rosmarinique, Le carnosol (CA) et le rosmanol sont formés par dégradation oxydative de l'acide carnosique et ne sont pas contenus initialement dans les feuilles, Ces composés sont donc des artefacts du processus d'extraction (**Aherne et al., 2007**). L'acide rosmarinique est un polyphénol hydrosoluble qui peut réduire considérablement la production d'acide nitrique dans des chondrocytes (**Chen et al., 2018**).

Le contenu de ces antioxydants dans les feuilles varie dans une large gamme en raison des variations saisonnières, des influences environnementales, des espèces et de l'origine de la culture. Dans la littérature, la teneur en acide carnosique varie de 4 à 30 mg par 1 g de romarin. La concentration massique d'acide rosmarinique dans les feuilles se situe entre 2 et 25 mg/g.

### **II.5.4. Activité anti inflammatoire**

L'extrait aqueux de romarin a été administré par voie orale à des rats souffrant d'arthrite induite par l'adjuvant de Freund. Il réduit les symptômes cliniques de l'œdème des jambes et réduit également le nombre de globules blancs dans l'articulation entre le fémur et le tibia, réduisant ainsi les symptômes biologiques (**Rodrigues et al., 2012**).

### **II.5.5. Activité anti-tumorale**

L'extrait fluide supercritique de romarin présente des propriétés anti-tumorales, en fonction de la dose utilisée. Il agit en synergie avec le 5-fluorouracile sur les cellules cancéreuses du côlon. De plus, en réduisant l'activité des deux enzymes impliquées dans le phénomène de résistance, les cellules résistantes au 5-fluorouracile peuvent être sensibilisées (**Gonzalez et al., 2013**).

# *Partie pratique*

*Chapitre III*  
*Matériel et*  
*méthodes*

### III. Matériel et méthodes

#### III.1 Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive

##### III.1.1. Présentation de la zone d'étude

Notre zone d'étude est la commune de « M'Chedallah », située à 43 km environ à l'est de la wilaya de Bouira, Elle occupe une position stratégique entre la vallée de la Soummam et la plaine de Sahel - El Asnam d'une part, et entre la chaîne de Djurdjura au nord et les hauts plateaux au sud, d'une autre part, comme la montre la figure ci-dessous. La latitude et la longitude de la zone sont respectivement 36°21'55 " N et 4°16'15"E.



Figure 06 : Carte représentant la localisation de la zone d'étude(Google map, 2021).

##### III.1.2. Echantillonnage

Dans notre étude, on a collecté un échantillon d'huile d'olive d'une huilerie traditionnelle à partir de la région « M'Chedallah », L'échantillon d'huile d'olive est mis dans un flacon en verre fumé remplis, étiquetés et stocké à l'abri de la lumière dans l'attente d'être analysé.

**III.1.3. Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive****III.1.3.1. Détermination de l'acidité libre**

L'acidité libre correspond à la teneur en pourcentage acide gras (exprimée en acide oléique) présent dans l'huile olive et représente un paramètre dans l'évaluation de sa qualité (COI, 2017<sup>a</sup>).

L'acidité est déterminée selon la méthode décrite par COI, 2017<sup>a</sup>. Le principe de la méthode consiste en un titrage des acides gras libres présents par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.

Un échantillon d'huile de 5 g est solubilisé dans 20 ml d'un mélange (V/V) diethylether-éthanol à 95%. Le mélange est titré, en agitant, avec une solution d'hydroxyde de potassium(KOH) à 0,1N jusqu'à un virage de l'indicateur coloré (la phénolphthaléine), vers le rose, persistant pendant au moins 10 secondes. Un essai témoin (sans matières grasses) est réalisé dans les mêmes conditions. L'acidité (%) est exprimée en pourcentage de poids d'acide oléique, elle est égale à :

$$A \% = \frac{(V - V_0)}{10 \times m} \times N \times P$$

**V:** nombre de ml de la solution KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon.

**V<sub>0</sub>:** nombre de ml de la solution KOH à blanc.

**m:** prise d'essai en grammes.

**N:** normalité de la solution KOH.

**P:** masse molaire (g/ml) de l'acide oléique qui est égale à 282 g/ml.

**III.1.3.2. Détermination de l'indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon (exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme) qui oxydent l'iodure de potassium avec libération d'iode (COI 2017<sup>b</sup>).

La méthode utilisée est celle décrite par le COI (2017<sup>b</sup>), Placer un échantillon de 2 g d'huile dans une fiole à col rodé et ajouter 10 ml de chloroforme sous agitation pour dissoudre l'huile. Ajouter ensuite 15 ml d'acide acétique glacial et 1 ml d'iodure de potassium saturé, le flacon est rapidement bouché, puis agité vigoureusement pendant 1 minute, puis placé à

température ambiante dans l'obscurité pendant 5 minutes. Ajouter ensuite 75 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon et titrer toute la solution avec du thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) sous agitation vigoureuse (Annexe 3). L'indice de peroxyde (IP) est donné par l'expression ci-après:

$$IP = (N(V - V_0))/(m(meqd'o_2/Kg))$$

**N**: normalité  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0.01N).

**V** : volume en ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  nécessaire pour le titrage de l'échantillon (en ml).

**V<sub>0</sub>** : volume de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc (en ml).

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

### **III.1.3.3. Détermination de l'extinction spécifique dans l'ultraviolet**

L'examen spectrophotométrique dans l'ultra-violet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse, sur son état de conservation, et sur Les changements dus aux processus technologiques. Sous l'action de divers facteurs exogènes et endogènes initiateurs, accélérateurs ou retardateurs , l'oxydation des huiles amènera l'oxygène atmosphérique à provoquer une dégradation de la chaîne d'acides gras insaturés, formant ainsi des produits d'oxydation volatils ou non volatils, tels que l'hydroperoxyde d'acide linoléique qui absorbent la lumière au voisinage de 232 nm. Si l'oxydation se poursuit, des sous-produits d'oxydation se forment, en particulier des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière à environ 270 nm (**Tanouti et al., 2010**).

La méthode utilisée est celle décrite par le **COI (1996)** : 0,25g d'échantillon d'huile filtrée (à travers le sulfate de sodium anhydre) est ajusté à 25ml avec du cyclohexane. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232 nm et 270 nm (Annexe 4). Les coefficients d'extinction E<sub>232</sub> et E<sub>270</sub> sont exprimés par l'équation suivante :

$$E = A_{\lambda} / C \times L$$

**E** : Extinction spécifique à la longueur d'onde  $\lambda$  nm.

**A<sub>λ</sub>** : Densité optique à la longueur d'onde  $\lambda$  nm.

**C** : Concentration de la solution à analyser en g/100 ml.

**L** : Largeur de la cuve en cm (1 cm)

**III.1.4. Dosage des pigments**

Le protocole adopté au dosage des chlorophylles et des caroténoïdes est celui de **Minguez-Mosquera *et al.*, (1991)**. Un échantillon de 7,5g d'huile filtrée est ajusté à 25 ml avec du cyclohexane. Le maximum d'absorption à 670 nm renseigne sur la fraction chlorophyllienne, alors que la fraction caroténoïde est détectée à 470 nm. Les valeurs du coefficient d'extinction spécifique appliqué sont  $E_0=613$  pour la pheophytine comme composant majeur des chlorophylles et  $E_0=2000$  pour la lutéine comme caroténoïde majeur. Ainsi, le contenu en pigments est déterminé comme suit :

$$\text{Chlorophyles} \left( \frac{mg}{Kg} \right) = A_{670} * \frac{10^6}{613} * 100 * T$$

$$\text{Carotenoides} \left( \frac{mg}{Kg} \right) = A_{470} * 10^6 / 2000 * 100 * T$$

**A** : Absorbance

**T** : Trajet optique (largeur de la cuve 1cm).

## III.2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive et l'huile d'olive enrichie par *Rosmarinus officinalis*

### III.2.1. Matériel végétal

Notre étude est portée sur une espèce de plante de la famille des lamiacées (labiées) qui est *Rosmarinus Officinalis*. La partie aérienne de *Rosmarinus Officinalis* a été récoltée au mois d'Avril (03/04/2021) de la forêt Errich située à deux kilomètres au nord de la commune de Bouira.



Figure 07 : Carte représentant la localisation de la zone de récolte (Google map, 2021).

### III.2.2. Préparation de l'huile d'olive enrichie par le romarin

Déposer dans une bouteille propre et sèche 30g de romarin (partie aérienne), Verser 01 litre d'huile d'olive dans la bouteille puis on a conservé la bouteille pendant 02 mois (Du 04/04/2021 Jusqu'au 04/06/2021) à l'abri de l'air et la lumière et à température ambiante.

### III.2.3. Détermination de l'activité antibactérienne

#### ➤ Les souches bactériennes

Nous avons testé l'activité antibactérienne d'huile et l'huile enrichie sur deux souches bactériennes, elles sont sélectionnées en fonction de leur pathogénicité pour l'Homme.

- ✓ **Bactéries à Gram positif**
  - *Staphylococcus aureus*
- ✓ **Bactéries à Gram négatif**
  - *Escherichia coli*

**III.2.3.1. Standardisation des inocula bactériens**

L'activité de tout agent antibactérien dépend de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée. La taille de l'inoculum bactérien est un facteur Apporter une contribution importante à la qualité des résultats de l'activité antibactérienne, d'où la standardisation de l'inoculum bactérien est nécessaire. Ce dernier est Préparé, à partir des deux souches bactériennes purifiées sont mises en culture séparément à 37°C/24 heures sur un bouillon nutritif puis ensemencées sur une gélose nutritive à 37°C/24h. L'étape suivante vise à préparer l'inoculum en prélevant une à deux colonies et les suspendre dans 9 ml d'eau physiologique stérile (9 g NaCl/l). La densité de l'inoculum est fixée entre 0,08 à 0,13 à une longueur d'onde de 625 nm, d'une opacité égale à l'absorbance 0,5 équivalent à 107 UFC/ml. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture si la DO est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte (**Medina et al., 2006**).

**III.2.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et d'huile d'olive enrichie par le romarin**

La figure 8 représente un protocole pour évaluer l'activité antibactérienne d'huile d'olive et huile d'olive enrichie par le romarin (Medina et al., 2006). A partir d'une culture fraîche, nous avons préparé une suspension bactérienne de 107 bactéries / ml. Nous avons ajouté 500µl de cette suspension et 300 µl d'huile d'olive à 4,2 ml du Tampon phosphate salin tween à 0,2 M à pH 7 (annexe 05). Un témoin sans huile est préparé au même temps, L'échantillon ainsi préparé a été incubé dans un bain-marie à agitation à 37 ° C pendant 1 heure. À la fin de la période d'incubation, des dilutions allant jusqu'à 10<sup>-4</sup> sont réalisées, accompagner d'ensemencements sur gélose nutritive (annexe 05) en vue de dénombrer. Effectuer le même protocole, en augmentant à chaque fois le volume d'huile à tester (500 et 700 µl).

Les résultats sont exprimés en Log N0/N (N0: charge initiale, N: charge à t=60 min).

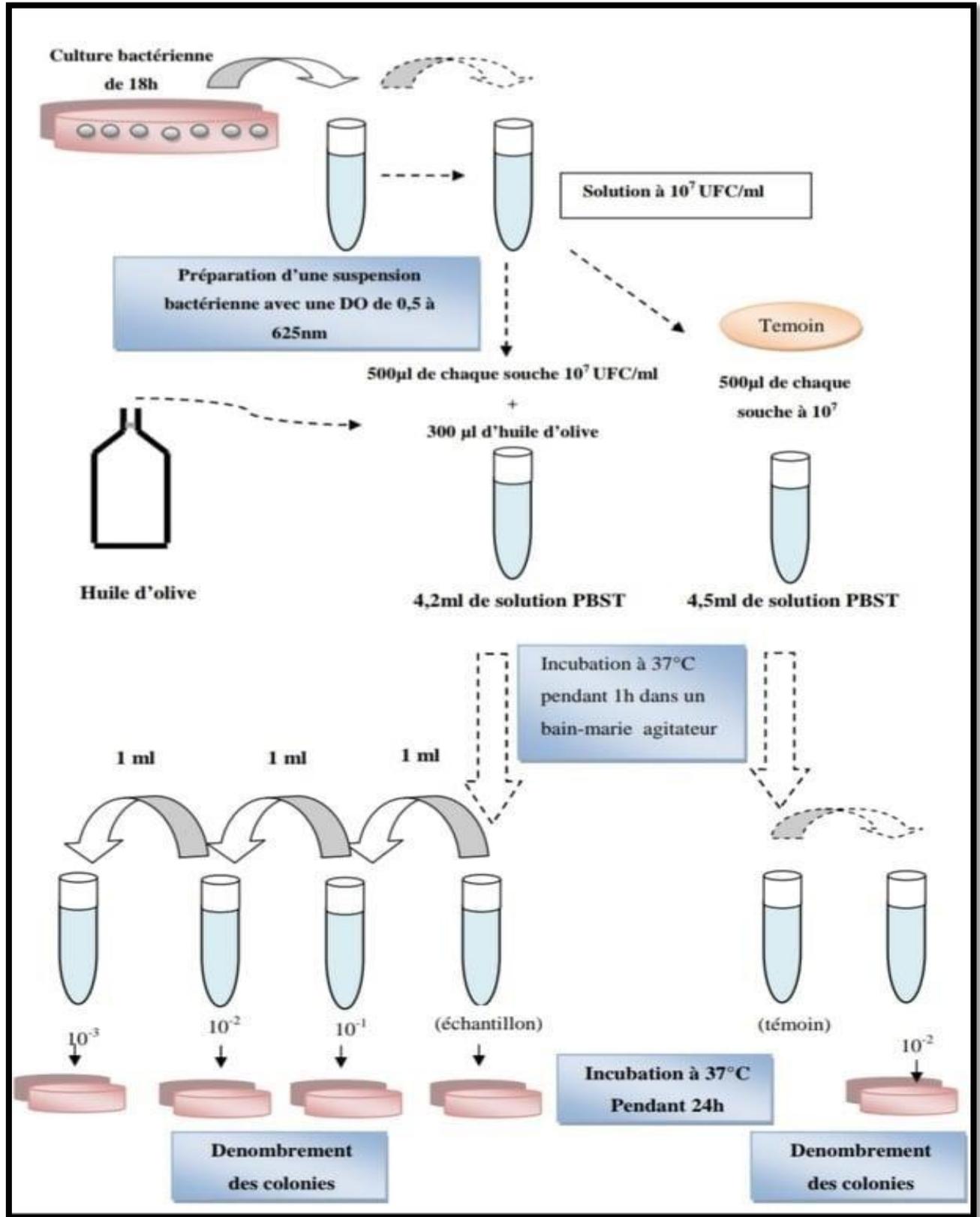


Figure 08 : Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive et l'huile d'olive enrichie par le romarin (Medina et al., 2006).

**III.3. Etude statistique**

Analyse statistique des résultats effectuée à l'aide de l'application "ANOVA" Utilisez ensuite le logiciel STATISTICA 5.5 pour le test Newman-keuls. Le degré de signification des résultats sont obtenues avec la probabilité de  $p < 0,05$ .

*Chapitre IV*  
*Résultats et*  
*discussion*

## IV. Résultats et Discussion

### IV.1. Indices de qualité d'huile d'olive

#### IV.1.1. Acidité

L'acidité est l'un des principaux critères de la qualité de l'huile d'olive, c'est un paramètre qui renseigne sur l'altération des échantillons d'huiles.

Le résultat montre que le pourcentage d'acidité de l'échantillon d'huile d'olive étudiée est de 0.5% d'acide oléique permettant de la classer dans la catégorie des huiles d'olives extra vierges telle quelle est définie par les normes internationales (COI).

Cette valeur est inférieure à celle de l'huile d'olive de la région de Skikda qui a enregistré une acidité de 0,6 % en acide oléique (**Abdallah et al., 2018**), mais elle est supérieure à celles obtenue par **Laincer et al. (2014)** pour les huiles d'olive de Bejaia dont le taux est compris entre 0.05– 0.23% d'acide oléique.

La valeur observée dans cette étude est semblable à celles rapportées par **Tanouti et al., (2011)** et **Condelli et al.,(2015)** qui ont noté que l'acidité libre reste en dessous de 0,8 % respectivement pour les huiles d'olive produites au Maroc oriental et le sud de l'Italie (Basilicata). Fraichement extraite à partir d'olives saines et suivant les bonnes pratiques de la trituration, l'huile d'olive présente une très faible acidité, ce qui est observé par **Manai-Djebali et al., (2012)**.

Cette faible acidité traduit une faible hydrolyse durant l'extraction et le stockage de l'huile. Dans le cas contraire et au cours du stockage, l'huile d'olive peut s'altérer et son acidité augmente suite à la libération d'acides gras par hydrolyse des triglycérides (**Tanouti, 2011**).

#### IV.1.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde de l'huile renseigne sur l'état de son oxydation. Cette huile présente un indice de peroxyde de  $9,56 \pm 0,02$  meq d'O<sub>2</sub>/kg.

En comparant les valeurs de l'indice de peroxyde obtenues à celles de la norme du COI, on constate que l'échantillon analysé présente un indice de peroxyde  $\leq 20$  meq d'O<sub>2</sub>/kg, conforme à la norme fixée pour une huile extra-vierge.

Notre résultat est proche de celui rapporté par (**Sait, 2012**) pour la variété *Chemlal*, Par contre il est supérieur à celui trouvé par **Abdellah et al. (2018)** pour une huile d'olive de

la région de Skikda, l'indice de peroxyde des huiles diminue avec l'avancement de la maturité des olives (Baccouri *et al.*, 2008).

De même Bengana *et al.* (2013) ont rapporté des indices de peroxyde variant de 3,2 à 6 meqO<sub>2</sub>/kg pour des olives avec des indices de maturités de 2,4 et 3,7 respectivement puis augmentent à 9 meq O<sub>2</sub>/kg au dernier stade de maturation correspondant à un indice de maturité de 5,6. D'autre part, l'étude menée par Jolayemi *et al.* (2016) montre que l'élévation de la température lors du malaxage induit une augmentation de l'indice de peroxyde pour la variété turque Memecik.

#### IV.1.3. Absorbance dans l'ultraviolet

Les valeurs des absorptions spécifiques obtenues pour les échantillons étudiés en ultraviolet à 232 nm et à 270 nm sont  $2.06 \pm 0.01$  et  $0.11 \pm 0.02$  respectivement. Le résultat obtenu pour notre échantillon indique qu'elle n'excède pas les limites fixées par le Conseil oléicole International (2019) pour les huiles d'olive Extra vierges qui sont respectivement inférieures ou égales à 2,50 et 0,22, Nos résultats sont proches à ceux trouvés par (Sait, 2012) et (Laincer *et al.*, 2017) pour la variété *chemlal* algérienne.

L'absorption spécifique à 232 nm et à 270 nm d'une huile reflète son état d'oxydation. Plus son extinction à 232 nm est forte, plus elle est peroxydée. De même, plus l'absorbance à 270 nm est forte, plus l'huile est riche en produits d'oxydation secondaire et traduit sa faible aptitude à la conservation (Tanouti *et al.*, 2011; Boulfane *et al.*, 2015).

Plusieurs facteurs peuvent affecter les absorbances dans l'ultraviolet tels que la récolte tardive des olives, une exposition excessive des olives et de l'huile extraite à l'oxygène de l'air et à la lumière, voir aussi à un réchauffement de la pâte lors de la trituration (Dabbou *et al.*, 2009). D'après Kiritsakis *et al.* (1998), les coefficients absorption dans UV (K230 et K270) ne changent pas pour les huiles obtenues des olives stockées à 0 et 5 °C, mais augmentent avec celles stockées à 7,5°C. Di Serio *et al.* (2016) ont révélé que le facteur variétal n'a pas d'effet sur ce paramètre.

Les résultats d'analyses (acidité, indice de peroxyde et des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K232, K270) effectuées sur notre échantillon d'huile d'olive s'inscrivent tous parfaitement dans les limites définies par le COI (2019) pour une huile d'olive extra vierge, ce qui nous permet de classer cet échantillon d'huile d'olive dans cette catégorie «extra vierge».

#### IV.1.4. Dosage des pigments

##### IV.1.4.1. Teneur en chlorophylle

La teneur en chlorophylle de notre échantillon d'huile d'olive étudié est de 1.12 mg/kg, le résultat obtenu est supérieur à celui de la variété algérienne *Chemlal* étudiée par **Sait, (2012)** qui présente une teneur en chlorophylle de 0.2 mg/kg,

La diminution de la teneur en chlorophylle durant la maturation pourrait être expliquée par la transformation de la chlorophylle a et chlorophylle b en phéophytine a et phéophytine b, qui confère à l'huile une coloration jaune (**Bengana et al., 2013; Boulfane et al., 2015**).

**Laincer et al., 2017**, ont étudié 26 échantillons issus de 21 variétés différentes, la teneur en chlorophylle de notre huile a été en accord avec seulement celle de la variété *Bouchouk Guergour*, Tandis qu'elle est supérieure à celle des variétés restantes (20 variétés), mais elle est inférieure à celles obtenues par **Borges et al., (2017)** qui ont noté des teneurs comprises entre 1,39 et 4,38 mg kg<sup>-1</sup> pour des variétés brésiliennes et espagnoles.

##### IV.1.4.2. Teneur en caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes de l'huile analysée est de 0.95 mg/kg, le résultat obtenu est inférieur de celui des variétés tunisiennes étudiées par (**Lazzez et al., 2006**) qui présente une valeur de 6,5 à 2mg/kg pour les caroténoïdes, Alors qu'il est supérieur à celui de la variété étudiée par **Sait, 2012** qui présente une teneur en caroténoïdes de 0.42mg/kg.

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

Le rapport chlorophylle/caroténoïdes est supérieur à l'unité pour notre échantillon d'huile d'olive (1.17), ce qui est en accord avec le résultat d'**Abdallah et al.,(2018)**.

D'après **Criado et al., (2004)**, un rapport chlorophylle/caroténoïdes aux alentours de 1 indique une couleur d'huile entre le vert et le jaune, inférieur à 1 dominance de la couleur jaune et supérieur à 1,6 dominance de la couleur verte (**Cerretani et al., 2008**). D'après cette classification notre huile présente une couleur qui varie entre le jaune et le vert.

**IV.2 Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile d'olive et l'huile d'olive enrichie par le romarin**

Ce travail avait pour but de démontrer si l'huile d'olive et l'huile d'olive enrichie par le romarin ont un pouvoir antibactérien et si cet enrichissement crée une synergie potentialisatrice de cet effet antibactérien.

L'activité antibactérienne des différents échantillons étudiés est testée contre une bactérie à Gram négatif (*Escherichia coli*) et une bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus*), Après 24 heures d'incubation à 37°C, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous.

L'activité antibactérienne se manifeste par une diminution ou bien une disparition de la charge bactérienne après l'ajout de l'huile à tester. les cellules viables sont exprimées en Log cellule/ml (Medina et al., 2006).

**Tableau III :** Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles.

Inoculum standard		10 <sup>7</sup> UFC/ml					
Temps de contact		1 heure					
Taux de réduction logarithmique		(log Ni - log Nf)					
Germe		<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
Volume de l'huile		300µl	500µl	700µl	300µl	500µl	700µl
Type de l'huile	Huile d'olive	4,46 Log h	4.66 log g	5.04 log e	5,25 Log c	7 log a	7 log a
	Huile d'olive aromatisé par le romarin	4,85 Log f	5,29 log d	5,59 log b	7 log a	7 log a	7 log a

**Ni** = concentration initiale des bactéries dans le tube d'essai (10<sup>7</sup> UFC / ml),

**Nf** = concentration finale bactéries (UFC / ml).

**7log** : bactéricide.

**< 7log** : bactériostatique

Les valeurs portant la même lettre sur la même colonne ne présentent aucune différence significative (p< 0,05).

**IV.2.1. L'activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli***

D'après le tableau III, on remarque que notre échantillon d'huile d'olive a montré un effet inhibiteur (effet bactériostatique) vis-à-vis de l'espèce *Escherichia coli*, les taux de réductions enregistrés sont de **4.46 log** une concentration de **300µl/5ml**, de **4.66 log** pour le volume **500µl** et de **5.04 log** pour le volume **700µl**.

L'analyse statistique a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les différentes concentrations de l'huiles d'olive étudié vis-à-vis *Escherichia coli*.

En comparant à l'huile d'olive enrichie par le romarin, il a été remarqué, que cet échantillons est plus active et efficace vis-à-vis *Escherichia coli* par rapport au l'huile d'olive. L'augmentation l'activité antibactérienne a été expliquée par l'enrichissement de l'huile d'olive par le romarin qui est une plante médicinale connue par sa richesse en composés phénoliques. Pour l'huile d'olive aromatisée au romarin, on observe un taux de réduction de **4,85 log**, **5,29 log** et **5,59 log** pour les trois concentrations **300µl/5ml**, **500µl** et **700µl** respectivement.

L'étude statistique a relevé une différence significative entre le taux de réduction logarithmique et le volume d'huile utilisé pour les deux huiles testées, il existe ainsi une différence significative entre le taux de réduction logarithmique de l'huile d'olive pure et l'huile d'olive enrichie par le romarin à toutes les concentrations.

**IV.2.2. L'activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus***

A des concentrations de **500 µl /5ml** et **700 µl /5ml**, *Staphylococcus aureus* s'est montrée sensible à l'échantillon d'huile d'olive, il exerce un effet bactéricide, alors que la concentration **300 µl /5ml** a un effet bactériostatique avec une réduction logarithmique de **5,25 log**.

Les résultats dans le tableau III indiquent que la meilleure activité a été obtenu avec l'huile d'olive enrichie par le romarin, cette dernière exerce un effet bactéricide vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* à toutes les concentrations (**300µl/5ml**, **500µl/5ml** et **700µl/5ml**).

L'étude statistique a relevé une différence significative entre le taux de réduction logarithmique et les concentrations **300µl/5ml** et **500µl/5ml** de l'huile d'olive pure, tandis qu'aucune différence significative n'est notée entre le taux de réduction logarithmique de la concentration **500 µl /5ml** et celui de la concentration **700 µl/5ml** pour les deux huiles testées, on remarque aussi une différence significative entre le taux de réduction logarithmique de l'huile d'olive pure et l'huile d'olive aromatisée au romarin à la concentration **300 µl /5ml**; Néanmoins cette différence significative est absente aux concentrations **500µl/5ml** et **700µl/5ml**.

### IV.2.3. Discussion générale de l'activité antibactérienne

Des études ont démontré qu'une activité antibactérienne est présente dans l'huile d'olive (**Medina et al., 2006, Laincer et al., 2017, Abdallah et al., 2018, Yakhlef et al., 2018**), ainsi que dans l'huile essentielle du romarin (**Boutabia et al., 2016 ; Mouas et al., 2017**). Dans notre travail, cette activité est détectée pour les deux échantillons (huile d'olive et huile d'olive enrichie par le romarin) vis-à-vis des deux souches testées.

Par ailleurs, les résultats obtenus montrent une différence significative dans les taux de réduction logarithmique en fonction du type d'huile utilisée et la souche cible. La variabilité du pouvoir inhibiteur des huiles testées pourrait être due à la sensibilité des souches aux différents composés présents dans l'huile d'olive à savoir : les acides gras (**Desbois et Smith, 2010**), les composés phénoliques (**Karaosmanoglu et al., 2010**), les composés volatils (**Brahmi et al., 2012**).

Les travaux **Huang et al., (2010)** ont montré une meilleure activité antimicrobienne des acides linoléique et oléique vis-à-vis divers microorganismes pathogènes présents dans la cavité buccale (Gram- et + ainsi qu'une levure), par contre **Choi et al., (2013)** ont détecté un effet uniquement en utilisant les acides gras polyinsaturés (C18:2 et C18:3), les saturés et mono insaturés présentent une très faible activité. La relation entre la structure des acides gras et activité antimicrobienne n'est pas claire, il apparait que le nombre des doubles liaisons ainsi que leurs positions renforce cette activité ; plus le nombre des doubles liaisons augmente plus on observe une meilleure action vis-à-vis des souches cibles. En outre, la modification du groupement carboxyle des acides gras engendre une modification d'activité (**Laincer et al., 2017**).

D'autres composés de l'huile d'olive, peuvent avoir un effet antimicrobien, parmi eux on cite les aldéhydes. En effet, une étude réalisée par **De Carvalho et Caramujo, (2008)** ont montré que les aldéhydes saturés et insaturés de l'huile d'olive (hexanal, le nonanal, (E)-2-hexanal, (E)-2-heptanal, (E)-2-octanal et (E)-2-nonanal) sont efficaces contre les souches Gram positif et Gram négatif.

La littérature rapporte que l'activité antibactérienne de l'huile peut être également liée aux composés phénoliques (**Medina et al., 2006 , Karaosmanoglu et al., 2010**), cette action antimicrobienne des composés de l'huile d'olive a été également étudiée *in-vitro* contre *Helicobacter pylori*, l'agent responsable de la plupart des ulcères peptiques et des cancers gastriques (**Romero et al., 2007**). Les polyphénols les plus bactéricides étaient l'Hy-EDA et le Ty-EDA. **Medina et al., (2013)** ont signalé que la présence du tyrosol et de l'hydroxytyrosol dans la structure dialdehydique de base (EDA) augmente leur caractère

lipophile et leur efficacité antibactérienne qui a été supérieure à celles des désinfectants synthétiques.

L'activité antimicrobienne des composés phénoliques a fait l'objet d'un grand nombre de publications. Cependant, la majorité des travaux cités dans ces publications s'arrêtent au niveau de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de ces composés. Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre négligeable. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action. Selon des études concernant les mécanismes d'action antimicrobienne de ces molécules, il semblerait que suite à une désintégration de la membrane cellulaire bactérienne provoquée par ces substances, la fuite des métabolites intracellulaires provoque la mort de la cellule (Cowen, 1999; Fitzgerald *et al.*, 2004; Omar, 2010).

En comparant l'activité des huiles utilisées et la souche cible, Nos huiles testées semblent avoir une meilleure activité à l'égard de *Staphylococcus aureus* à Gram positif que sur *Escherichia coli* à Gram négatif, Nos résultats sont en accord avec ( Sait 2012, Tamendjari *et al.*, 2018; Laincer *et al.*, 2017) qui ont abouti aux mêmes constatations, Cela pourrait être due à une meilleure perméabilité du ou des composé (s) actif(s). Ceci s'expliquerait par des différences dans la constitution de la paroi cellulaire. *Escherichia coli* est une bactérie à Gram négatif, sa membrane est associée à des enzymes dans l'espace périplasmique qui sont capables de détruire les molécules intruses (Masibo et He, 2009). Zheng *et al.*, (2005) ont rapporté que l'acide linoléique inhibe L'énoyl- [acyl-carrier-protein] réductase à NADH (FabI) responsable de la synthèse des acides gras chez *S. aureus* et *E. coli*. D'autre part, Friedman et collaborateurs (2011) ont mis en évidence l'effet bactéricide de l'hydroxytyrosol à l'encontre de *S. aureus* ainsi qu'une inactivation de sa toxine SEA (Staphylococcal Enterotoxine A) par changement de sa conformation l'empêchant ainsi sa fixation sur les cellules hôtes.

Les résultats obtenus à partir de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive et l'huile d'olive enrichie par romarin ont montré une différence significative entre les taux de réduction logarithmique de ces deux huiles à toutes les concentrations chez *E. coli* et à la concentration 300 µl /5ml chez *S. aureus*, cela est dû à l'action synergique des composés d'huile d'olive et du romarin, Le mécanisme d'action des huiles essentielles du romarin est lié essentiellement structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries.

L'huile essentielle exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne : l'augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire ; l'acidification de

l'intérieure de la bactérie, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ; la destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Caillet et Lacroix, 2007, Frouhat, 2013). En revanche, les bactéries à Gram- sont plus résistantes que les Gram+, ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes (Burt, 2004), Boutabia et al., (2016), Mouas et al., (2017) ont montré la sensibilité de *S. aureus* et *E. coli* au romarin avec une sensibilité plus élevée chez *S. aureus* ce qui indique une similitude avec les résultats obtenus dans le présent travail.

Une étude de Jiang et al., (2011) a montré que les principaux constituants de l'huile essentielle de Romarin sont le 1,8-cinéole (26,54%) et l' $\alpha$ -pinène (20,14%) ; le camphre (12,88%), le camphène (11,38%) et le  $\beta$ -pinène (6,95%). L'huile essentielle montre une activité antibactérienne prononcée par rapport au 1,8-cinéole et à l' $\alpha$ -pinène contre tous les microorganismes testés. Les auteurs de cette étude concluent que le Romarin pourrait constituer un antimicrobien naturel dans le domaine alimentaire et l'industrie pharmaceutique.

*Conclusion et  
perspectives*

### Conclusion et perspectives

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à caractériser un échantillon d'huile d'olive issue des fruits d'une variété d'olive cultivée de la région de M'chedallah (Bouira).

L'étude a été basée sur la détermination des indices de qualité de l'huile, le dosage des pigments, l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile ainsi que le potentiel synergique de cette dernière lorsque associée au romarin vis-à-vis de deux souches bactériennes.

La détermination des indices de qualité de l'huile étudiée montrent que les valeurs obtenues d'acidité, d'indice de peroxyde et des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K232, K270) sont conformes aux normes établies par le COI (2019) pour une huile d'olive extra vierge, ce qui nous mène à classer notre huile dans cette catégorie.

Le dosage des pigments a relevé un taux faible en chlorophylle et en caroténoïdes, avec un rapport chlorophylle/caroténoïdes supérieur à l'unité, ce qui indique que la couleur de notre échantillon d'huile d'olive varie entre le jaune et le vert.

Concernant l'étude antibactérienne, Nous avons conclu que notre échantillon d'huile d'olive a une action antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, cette action dépend de volume d'huile d'olive utilisé, En outre nous observons une augmentation de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive enrichie par la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* (le romarin) ce qui signifie la présence d'une synergie entre leurs composants.

L'ensemble des résultats obtenus nous permettent de dégager de nombreuses perspectives. Il serait souhaitable :

- ✓ Elargir l'étude à d'autres variétés et à d'autres régions d'Algérie.
- ✓ Elargir l'éventail des espèces bactériennes testées.
- ✓ Déterminer la composition biochimique de l'échantillon d'huile.
- ✓ Evaluer les composés mineurs en particulier les antioxydants, qui sont responsables des effets bénéfiques sur la santé.
- ✓ Effectuer des enrichissements avec d'autres plantes médicinales, car en effet ces enrichissements constituent un trésor inestimable qui pourrait être valorisé et utilisé ultérieurement comme des produits thérapeutiques.
- ✓ Une recherche sérieuse d'une meilleure exploitation de cette huile dans les domaines pharmaceutiques, et en technologie Agro-alimentaire.

*Références*

*bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

- ✓ **Abdallah, D., Rahal, L., Ruberto, G., & Chérifa, H. (2018).** Antidiabetic effect of extra virgin olive oil from the. *Rougette” variety of the Skikda region of eastern Algeria,” International Journal of Biosciences*, **12**(4): 400-408.
- ✓ **Aissam, H. (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (Margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase.
- ✓ **Aherne, S. A., Kerry, J. P., & O'Brien, N. M. (2007).** Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition*, **97**(2) : 321-328.
- ✓ **Angles. S, (2012).** L'olivier et les territoires méditerranéens. L'histoire de l'olivier, hal-02096367.
- ✓ **Assmann G. and Wahrburg U. (1999).** Effets des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé. Institut de recherche sur l'athérosclérose, Université de Mûnstre, Allemagne, 1-8.
- ✓ **Atikbekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinusofficinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, **7**: 6-11.

### B

- ✓ **Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G., Zarrouk, M. & Daoud Ben Miled, D. (2008).** Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, **109** :743-54.
- ✓ **Baydar H., Sađdic,O., Ozkan G., Karadođan T. (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. **15**:169-172.

- ✓ **Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Caravaca A. M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. and Lercker G. (2007).** Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. *Molecules*, **12** :1679-1719.
- ✓ **Bengana, M., Bakhouché, A., Lozano-Sánchez, J., Amir, Y., Youyou, A., Segura-carretero, A. & Fernández-gutiérrez, A. (2013).** Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*, **54**: 1868-1875.
- ✓ **Benrachou N. (2013).** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. (Université Badji Mokhtar Annaba).
- ✓ **Benlemlih M., Ghanam J. (2012).** Polyphenols d'huile d'olive, trésors santé. *Medicatrix*, 128p.
- ✓ **Benyahia N., Zein K. (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. 2ème Conférence Internationale Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries. Lausanne (Suisse), 7p.
- ✓ **Beuchamp G., Kest R., Morel D., Lin J., Pika J., Han Q., Smith A.B., Breslin., (2005).** Ibuprofen like activity in extra-virgin olive oil. *Revue Nature*, **437**: 45-46.
- ✓ **Bianchi G. (2003).** Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipids and Science Technology*, **105**: 229-242.
- ✓ **Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N., Saija A. (1999).** On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **51**: 971–974.
- ✓ **Borges, T. H., Pereira, J. A., Cabrera-Vique, C., Lara, L., Oliveira, A. F. & Seiquer, I. (2017).** Characterization of Arbequín virgin olive oils produced in different regions of Brazil and Spain: Physicochemical properties, oxidative stability and fatty acid profile. *Food Chemistry*, **215** : 454-462.
- ✓ **Boskou D. (2006).** Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, **17**: 505-512.
- ✓ **Boulfane, S., Maata, N., Anouar, A. & Hilali, S. (2015).** Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, **87** : 8022.

- ✓ **Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- ✓ **Bouzenoune, F., Boudersa, F., Bensaad, A., Harkat, F., & Siad, N. (2009).** Urinary tract infections in Ain M'lila (Algeria). Antibiotic resistance of 239 strains isolated between 2006 and 2007. *Médecine et maladies infectieuses*, **39**(2) : 142-143.
- ✓ **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007).** Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, **55**(19) : 7879-7885.
- ✓ **Brahmi, F., Flamini, G., Issaoui, M., Dhibi, M., Dabbou, S., Mastouri, M. & Hammami, M. (2012).** Chemical composition and biological activities of volatile fractions from three Tunisian cultivars of olive leaves. *Medicinal Chemistry Research*, **21**: 2863-2872.
- ✓ **Breton. C., Berville A. (2012)** . Histoire de l'olivier. Edition Quae. Paris , 27-28.
- ✓ **Breton C., Guerin J., Ducatillon C., Médail F., Kull CA. and Bervillé A. (2008)** . Taming the wild and 'wilding' the tame: tree breeding and dispersal in Australia and the Mediterranean. *Plant Science*, **175**:197-205.
- ✓ **Bruneton Jean (2016).** Pharmacognosie : 5ème édition. Éditions Lavoisier, 1487p.
- ✓ **Burt S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *Int. J. Food Microbiol*, **94** : 223-253.

## C

- ✓ **Caillet S. & Lacroix M.,( 2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, *Resala*, 1-8.
- ✓ **Cerretani, L., Motilva, M.-J., Romero, M.-P., Bendini, A. & Lercker, G. (2008).** Pigment profile and chromatic parameters of monovarietal virgin olive oils from different Italian cultivars. *European Food Research and Technology*, **226**:1251-1258.
- ✓ **Cechini T., Ticli B. (2008).** Les plantes médicinales. Nouvelle Edition Vecchi S.A. Paris, **239** : 212-213,.
- ✓ **Chen, W. P., Jin, G. J., Xiong, Y., Hu, P. F., Bao, J. P., & Wu, L. D. (2018).** Rosmarinic acid down-regulates NO and PGE 2 expression via MAPK pathway in rat chondrocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, **22**(1) : 346-353.

- ✓ **C.O.I. (2015).** Norme commerciale applicable à l'huile d'Olive et à l'huile de grignons d'olive. COI/T. 15/NC n°2/Rev.10.
- ✓ **Choi, J., S., Park, N., H., Hwang, S., & Kwak, I. (2013).** The antibacterial activity of various saturated and unsaturated fatty acids against several oral pathogens. *Journal of Environmental Biology*, **34**: 673-676.
- ✓ **Conseil Oléicole International. (1996).** Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet. Conseil Oléicole International/T20/ Doc 19 6 juin 1996, Madrid. Espagne.
- ✓ **Conseil Oléicole International. (2003).** Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.
- ✓ **Conseil oléicole international. (2007).** Techniques de production en oléiculture, Madrid (Espagne).
- ✓ **Conseil Oléicole International (COI). (2017<sup>a</sup>).** Determination of free fatty acids, cold method.
- ✓ **Conseil Oléicole International (COI). (2017<sup>b</sup>).** Determination of peroxide value. COI/T.20/Doc. No 35/Rev. 1. 5p.
- ✓ **Conseil Oléicole International. (2019).** Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.
- ✓ **Condelli, N., Caruso, M. C., Galgano, F., Russo, D., Milella, L. & Favati, F. (2015).** Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. *Food Chemistry*, **177**: 233-9.
- ✓ **Cowan M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*; **12**: 564- 570.
- ✓ **Covas M.I. (2007).** Olive oil and the cardiovascular system. *Nutritional Pharmacology*, **55** (3):175-186.
- ✓ **Chimi H., (2006).** Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité, transfert de technologie en agriculture. (MADRPM/DERD) Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes, **141** :1-4.
- ✓ **Criado; M, N., Morello J. R., Motilva. (2004).** Effect of Growing Area on Pigment and Phenolic Fractions of Virgin Olive Oils of the Arbequina Variety in Spain. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **81**: 633- 640.

## D

- ✓ **Dabbou, S., Issaoui, M., Servili, M., Taticchi, A., Sifi, S., Montedoro, G. F. & Hammami, M. (2009).** Characterisation of virgin olive oils from European olive cultivars introduced in Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **111** : 392-401.
- ✓ **DE carvalho & Caramujo M. J. (2008).** Ancient Procedures for the High-Tech World: Health Benefits and Antimicrobial Compounds from the Mediterranean Empires. *The Open Biotechnology Journal*, **2**: 235-246.
- ✓ **Desbois, A. P. & Smith, V. J. (2010).** Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *App Microbiol Biotechnol*, **85**: 1629-42.
- ✓ **Diamantakos, P., Velkou, A., Killday, K. B., Gimisis, T., Melliou, E. & Magiatis, P. (2015).** Oleokoronol et oleomissional : deux nouveaux composés phénoliques majeurs de l'huile d'olive vierge extra. *Olivæ*, **122** :23-34.
- ✓ **Dias P.C., Foglio M.A., Possenti A. et De carvalho J.E., (2000)** .Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L., *J. Ethnopharmacol*, **69** : 57 – 62.
- ✓ **Di Serio, M. G., Di Giacinto, L., Di Loreto, G., Giansante, L., Pellegrino, M., Vito, R. & Perri, E. (2016).** Chemical and sensory characteristics of Italian virgin olive oils from Grossa di Gerace cv. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **118** :288-298.
- ✓ **DJadoun. S., (2011).** Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par micro-ondes. Mémoire de magister. Faculté des sciences, département de chimie. UMMTO.
- ✓ **Doveri S, Baldoni L. (2007).** Olive. Fruits and Nuts, *Springer*, 253-264.

## E

- ✓ **Edelfelt, E. G. (2015).** Virgin olive oil and sports. *Olivæ*, **121** : 27-32.
- ✓ **Eloutassi N.(2004).** Elaboration de procédés biotechnologiques pour la valorisation du romarin (*Rosmarinus officinalis*) marocain. Thèse de Doctorat, université de Sidi Mohamed Ben Abdellah ; Fès.

## F

- ✓ **Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises*, **64** : 390-396.
- ✓ **Fitzgerald, D. J., Stratford, M., Gasson, M. J., Ueckert, J., Bos, A. & Narbad, A. (2004).** Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*. *Journal Applied Microbiology*, **97** : 104-13.
- ✓ **Friedman, M., Rasooly, & Henika., (2011).** The olive compound 4-hydroxytyrosol inactivates *Staphylococcus aureus* bacteria and Staphylococcal Enterotoxin A (SEA). *Journal Food Science*, **76**: 58-63.
- ✓ **Frouhat et Lahcini, B.(2013).** Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (Doctoral dissertation).

## G

- ✓ **GaouarBenyelles N., Ilias F., Beghdad C., Gaouar M., Medjdoub K., Allelopathy J. (2014).** Olive antimicrobial activity against its pathogens in Tlemcen region, Algeria. *Allelopathy Journal*, **34** (1):133- 141.
- ✓ **Ghanbari, R., Anwar , F., Alkharfy, K., M., Gilani, A, & Saari, N. (2012).** Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea L.*) A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**: 3291-3340.
- ✓ **Gharabi Z.,S.& R.L., (2008).** *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal plants in North Africa.
- ✓ **Ghedira, K. (2008).** L'olivier. *Phytothérapie*, **6**(2) : 83-89.
- ✓ **Gigon, F. &Le Jeune, R. (2010).** Huile d'olive, *Olea europaea L.* *Phytothérapie*, **8** :129-135.
- ✓ **Gonzalez-Vallinas, M., Molina, S., Vicente, G., de la Cueva, A., Vargas, T., Santoyo, S., ... & de Molina, A. R. (2013).** Antitumor effect of 5-fluorouracil is enhanced by rosemary extract in both drug sensitive and resistant colon cancer cells. *Pharmacological research*, **72**: 61-68.
- ✓ **Gorinstein S., Martin Belloso O., Katrich E., Lojek A., Czek M. and Gligelmo-Miguel N., (2003),** Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the

antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests, *J. Nutr. Biochem.* **14** : 154–159.

- ✓ **Green P.S. (2002).** A revision of *Olea*. (Oleaceae). *Kew Bulletin*, **57**: 91-140.

## H

- ✓ **Haloui M., Louedec L., Michel J.-B. et Lyoussi B., (2000)** .Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *J. Ethnopharmacol.*, **71**: 465 – 472.
- ✓ **Hannachi H., Sommerlatte H., Breton C, Msallem M., El Gazzah M., Ben El Hadj S. and Bervillé A. (2009)** .Oleaster (var. *sylvestris*) and subsp. *cuspidata* are suitable genetic resources for improvement of the olive (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *europaea*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, **56** : 393–403.
- ✓ **Haslam E., (2005).** Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Mode of Action. *J. Nat. Prod.* **59** : 205-15.
- ✓ **Helmut G. (1996).** Etymologisches Wörterbuch der botanischen Pflanzennamen.
- ✓ **Huang, C. B., George, B. & Ebersole, J. L. (2010).** Antimicrobial activity of n-6, n-7 and n-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. *Archives of Oral Biology*, **55**: 555-60.
- ✓ **Huguette M. (2008).** La route des épices.

## J

- ✓ **Jardak, M., Elloumi-Mseddi, J., Aifa, S., & Mnif, S. (2017).** Chemical composition, anti-biofilm activity and potential cytotoxic effect on cancer cells of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from Tunisia. *Lipids in health and disease*, **16**(1):1-10.
- ✓ **Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y. J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C. J., ... & Liu, X. L. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental toxicology and pharmacology*, **32**(1) :63-68.
- ✓ **Joaquin Velasco et Carmen. (2002).** Oxidative stability of virgin olive oil. *Eur. J Lipids Technol*, **104** : 661-676.
- ✓ **Jolayemi, O. S., Tokatli, F. & Ozen, B. (2016).** Effects of malaxation temperature and harvest time on the chemical characteristics of olive oils. *Food Chemistry*, **211** : 776-783.

## K

- ✓ **Karaosmanoglu, H., Soyer, F., Ozen, B. & Tokatli, F. (2010).** Antimicrobial and antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58** : 8238-45.
- ✓ **Kiritsakis, A., Nanos, G. D., Polymenopoulos, Z., Thomai, T. & Sfakiotakis, E. M. (1998).** Effect of Fruit Storage Conditions on Olive Oil Quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **75**:721-724.

## L

- ✓ **Laincer .F.(2017).** Caractérisation et évaluation des activités biologiques de l'huile d'olive de variétés algériennes cultivées dans la région de Bejaia. Thèse de doctorat en sciences, université de Béjaia.
- ✓ **Laincer F., Laribi R., Tamendjari A., Arrarb L., Rovellini P and Venturini S. (2014)** . Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, , antioxidant and antibacterial activities. *Grasas Aceites* , **65** (1): 1-141. DOI: [http:// dx.doi.org/10.3989/gya.035713](http://dx.doi.org/10.3989/gya.035713).
- ✓ **Lazzez A., Cossentini M., Khlif M. et Karray B.(2006).** Etude de l'évolution des stérols, des alcools aliphatiques et des pigments de l'huile d'olive au cours du processus de maturation. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, **8** : 21-32.
- ✓ **Leplate, M.(2017).** Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de doctorat, la faculté de pharmacie de Marseille . Disponible sur <<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01550355>> (Consulté le : 24/04/2021).
- ✓ **Lomenech, H., (2010).** L'olivier: Intérêt dans les produits cosmétiques. *Nantes*, p. 97.
- ✓ **Loussert, R., & Brousse, G. (1978).** L'olivier. Techniques agricoles et production méditerranéennes. *Maisonneuve et Larose*, Paris, 460.

## M

- ✓ **Makhloufi, A. (2013).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru (Doctoral dissertation).

- ✓ **Manai-djebali, H., Krichène, D., Ouni, Y., Gallardo, L., Sánchez, J., Osorio, E., Daoud, D., Guido, F. & Zarrouk, M. (2012).** Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. *Journal of Food Composition and Analysis*, **27**: 109-119.
- ✓ **Martini, M. C. (2011).** Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Lavoisier.
- ✓ **Masibo M. and He Q. (2009).** In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera indica* L. *Malaysian Journal of Microbiology*, **5**(2): 2073-80.
- ✓ **Matos L.C., Cunha S.C., Amaral J.S., Pereira J.A., Andrade P.B., Seabra R.M. et Oliveira B.P.P. (2007).** Chemometric characterization of three varietal olive oils (*Cobrançosa*, *Madural* and *Verdeal Transmontana*) extracted from olives with different Maturation indices. *Food Chemistry*, **102** :406-414.
- ✓ **Medjani, C., & Maguemoun, K. (2017).** Extraction, analyse et évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la cannelle de chine (Doctoral dissertation, UMMTO).
- ✓ **Medina E., De Castro A., Romero C. and Brenes M. (2006).** Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils: Correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 4954-4961.
- ✓ **Medina E., De Castro A., Romero C., Ramírez E., Brenes M. (2013).** Effect of antimicrobial compounds from olive products on microorganisms related to health, food and agriculture. Microbial pathogens and strategies for combating them. *Science, technology and education*; 1087-1094.
- ✓ **Minguez-mosquera, M., Rejano, L., Gandul, B., Higinio, A. & Carido, J. (1991).** Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **68**: 332-336.
- ✓ **Miroddi, M., Calapai, G., Isola, S., Minciullo, P. L., & Gangemi, S. (2014).** *Rosmarinus officinalis* L. as cause of contact dermatitis. *Allergologia et immunopathologia*, **42**(6) : 616-619.

- ✓ **Moñino, I., MARTinez , Sotomayor, J. A., Lafuente, A., & Jordán, M. J. (2008).** Polyphenolic transmission to segureño lamb meat from ewes' diet supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**(9): 3363-3367.
- ✓ **Mokhtari A, Brahim K, Benziada R, (2008).** Architecture et confort thermique dans les zones arides.Application au cas de la ville de Bechar ; *Revue des énergies renouvelables*, **11** : 307-315.
- ✓ **Montpellier, C. (2019).** L'huile d'olive: intérêts alimentaire et cosmétique (Doctoral dissertation, Frédérique Grimaldi).
- ✓ **Mouas Y., Benrebaha F., Chaouia C. (2017) .** Evaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis L.* *Revue Agrobiologia*, **7** : 363-370.

## N

- ✓ **Nenadis N. and Tsimidou M. (2002).** Determination of squalene in olive oil using fractional crystallization for sample preparation. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **79**: 257–259.

## O

- ✓ **Omar, S. H. (2010).** Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Scientia Pharmaceutica*, **78** : 133-54.
- ✓ **Ouaouich, A., & Chimi, H. (2007).** Guide du producteur de l'huile d'olive. *Organisation des Nations Unies pour le Développement industriel*.
- ✓ **Ouedrhiri, M., Benismail, C., El Mohtadi, F., & Achkari-Begdouri, A. (2017).** Évaluation de la qualité de l'huile de pulpe d'olive vierge de la variété Picholine marocaine. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, **5**(2).
- ✓ **Owen R.W., Mier W., Giacosa A., Hull W.E., Spiegelhalder B. and Bartsch H. (2000).** Phenolic Compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chemistry. Toxicology*. **38**: 647-659.

## P

- ✓ **Paris A., Strukel., Renko M., Turk V., Puki M., Umek A. et Korant B.D., (1993) :** Inhibitory effect of carnosolic acid on HIV-1 protease in cell-free assays. *J. Nat. Prod.* **56**: 1426 – 1430.
- ✓ **PérezJiménez, F., Ruano, J., PerezMartinez, P., LopezSegura, F., & LopezMiranda, J. (2007).** The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Molecular nutrition & food research*, **51**(10): 1199-1208.
- ✓ **Perona, J. S., Alonso, A., Martínez-González, M. A., & Ruiz-Gutiérrez, V. (2010).** Virgin Olive Oil and Blood Pressure in Hypertensive Elderly Subjects. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 807-812). *Academic Press*.
- ✓ **Perrin J.L. (1992).** Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et recherche*, **4** : 25-31.
- ✓ **Piroddi, M., Albini, A., Fabiani, R., Giovannelli, L., Luceri, C., Natella, F., ... & Galli, F. (2017).** Nutrigenomics of extra-virgin olive oil: A review. *Biofactors*, **43**(1): 17-41.
- ✓ **Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., & Moreira, M. R. (2008).** Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest biology and technology*, **49**(2) : 294-300..

## R

- ✓ **Rameau J., Mansion D., Dumé G. (2008).** Flore forestière française : Région méditerranéenne.
- ✓ **Rodrigues, M. R. A., Kanazawa, L. K. S., das Neves, T. L. M., da Silva, C. F., Horst, H., Pizzolatti, M. G., ... & de Paula Werner, M. F. (2012).** Anti-nociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Journal of ethnopharmacology*, **139**(2): 519-526.
- ✓ **Romero C., Medina E., Vargas J., Brenes M., De Castro A. (2007)** *In vitro* activity of olive oil polyphenols against *Helicobacter pylori*. *J. Agric. Food Chemistry*; **55**: 680-686.
- ✓ **Ryan D., Robards K. and Lavee S.. Olivae. (1998).** Assessment of quality in olive oil .**72**: 23-41.

## S

- ✓ **Sait, S. (2012).** Activités antioxydante et antibactérienne des huiles d'oléastres (*Olea europaea* var. *oleaster*) de la région de Béjaïa.
- ✓ **Schelz Z., Molnar J, Hohmann J. (2006);** Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*. **77**: 279-285.
- ✓ **Servilli M., Selvaggini R., Esposito S. (2004).** Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography*, **1054**: 113-127.
- ✓ **Servili, M., Sordini, B., Esposito, S., Urbani, S., Veneziani, G., Di Maio, I., ... & Taticchi, A. (2014).** Biological activities of phenolic compounds of extra virgin olive oil. *Antioxidants*, **3**(1) : 1-23.
- ✓ **Shokri, A., Saeedi, M., Fakhar, M., Morteza-Semnani, K., Keighobadi, M., Teshnizi, S. H., ... & Sadjadi, S. (2017).** Anti-leishmanial activity of *Lavandula angustifolia* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and nano-emulsions on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). *Iranian journal of parasitology*, **12**(4): 622.
- ✓ **Smith, T.J., Yang, G., Seril, D.N., Liao, J., Kim, S., (1998).** Inhibition of 4- (methyl nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lungtumori genesis by dietary olive oil and squalene. *Carcinogenesis*, **19**: 703-706.
- ✓ **Staub, H., & Bayer, L. (2013).** Traité approfondi de phyto-aromathérapie: avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Grancher.

## T

- ✓ **Tanouti K., Serghini-Caid H., Chaieb E., Benali A., Harkous M. et Elamrani A. (2011).** Quality improvement of olive oils produced in the eastern Morocco. *Les technologies de Laboratoires*, **22**(6): 1-12.
- ✓ **Tamendjari, A., Sait, S., Lincer, F., Rovellini, P., & Venturini, S. (2018).** Quality, antioxidant and antibacterial activity of olive oil from wild olives (Oleasters). *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, **95**(3) :195-203.

- ✓ **The Angiosperm Phylogeny Group, (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **161**: 105-121.
- ✓ **Trichopoulos A., Lagiou P., Kuper H., Trichopoulos D., (2000).** Cancer and Mediterranean dietary traditions. Department of Hygiene and Epidemiology, University of Athens Medical School, Greece. *Cancer Epidemiol Biomarkers*, Sep, **9**: 869-873.
- ✓ **Tuck K.L. and Hayball P.J. (2002).** Major phenolic compounds in olive oil : metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**(11): 636-644.

## **U**

- ✓ **Uzzan A.( 1994).** Huile d'olive. In : manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. *Technique et documents*, pp. 763-766.

## **tf**

- ✓ **Veillet S. (2010).** Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Marseille (France) ; 153p.
- ✓ **Villa P., (2003).** La culture de l'olivier, Editions De Vecchi S.A. Paris, 143p.

## **W**

- ✓ **Wallander, E., & Albert, V. A. (2000).** Phylogeny and classification of Oleaceae based on rps16 and trnL-F sequence data. *American Journal of Botany*, **87**(12) : 1827-1841.

## **Y**

- ✓ **Yakhlef W., Arhab R., Romero C., Brenes M., De Castro A., Medina E. (2018)** .Phenolic composition and antimicrobial activity of Algerian olive products and by-products. *Food Science and Technology*, **93**: 323-328.
- ✓ **Yesil, O. Y., Kocabas, E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., & Baser, K. H. C. (2007)**. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, **100**(2) : 553-559.

## Z

- ✓ **Zaidi- Yahiaoui R., Zaidi F .et Ait Bessai A .(2008)**.Influence of gallic and tannicacids on enzymatic activity and growth of *Pectobacterium chrysanthemi* , *African Journal of Biotechnology*, **7**: 482-486.
- ✓ **Zermane A. (2010)**. Etude de l'extraction supercritique Application aux systèmes Agroalimentaires ; Thèse de doctorat, université de Mentouri ; Constantine.
- ✓ **Zeghad, N. (2009)**. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. *Constantine: université Mentouri*.
- ✓ **Zheng, C. J., Yoo, J. S., Lee, T. G., Cho, H. Y., Kim, Y. H., & Kim, W. G. (2005)**. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS letters*, **579**(23) : 5157-5162.
- ✓ **Zoubeidi, C. (2004)**. Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis labiatea* (Doctoral dissertation, Ouargla, Université Kasdi Merbah. Faculté des Sciences et Sciences de L'ingenieur).
- ✓ **Zbakh H., El Abbassi A. (2012)**. Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. *Journal of functional food*, **4**: 53-65.

# *Annexes*

## Annexe 1

**Tableau I** : Les différentes catégories de l'huile d'olive et leurs critères de qualité (COI 2019).

Huile paramètre	Huile d'olive Extra vierge	Huile d'olive vierge	Huile d'olive Vierge courante	Huile d'olive Vierge lampante
Caractéristiques Organoleptiques -Fruité -Défaut	Me > 0 Me = 0	Me > 0 0 < Me < 2,5	Me = 0 2,5 < Me < 6,0	Me > 6,0
Acidité libre (% acide oléique)	≤ 0,8	≤ 2	≤ 3,3	> 3,3
Indice de peroxyde (meq O <sub>2</sub> /Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité
Extinction spécifique (UV) K <sub>232</sub> K <sub>270</sub>	≤ 2,5 ≤ 0,22	≤ 2,6 ≤ 0,25	≤ 0,3	/ /

## Annexe 2

**Tableau II** : Matériel et réactifs relatifs à l'indice d'acidité.

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balance analytique</li> <li>• Burette graduée</li> <li>• Agitateur magnétique</li> <li>• Bécher de 250ml</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solution de diethyl-ether à 95 %</li> <li>• Solution de phénolphtaléine 0.1N</li> <li>• Solution d'hydroxyde de sodium 0.1N</li> </ul>

## Annexe 3

Tableau II : Matériel et réactifs relatifs à l'indice de peroxyde

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balance analytique</li> <li>• Burette graduée</li> <li>• Ballon de 250ml</li> <li>• Agitateur magnétique</li> <li>• Pipette</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau distillée</li> <li>• Chloroforme</li> <li>• Acide acétique</li> <li>• Empois d'amidon</li> <li>• Solution aqueuse saturée d'iodure de potassium</li> <li>• Solution aqueuse de thiosulfate de sodium (<math>\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3</math>) 0.01N</li> </ul>

## Annexe 4

Tableau IV : Matériel et réactifs relatifs à l'extinction UV

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blanc analytique</li> <li>• spectrophotomètre</li> <li>• Cuvette de plastique 1 cm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cyclohexane</li> </ul>

**Annexe 5**

**Préparation du tampon phosphate salin tween20**

Tampon phosphate salin tween20 (PBST) est préparée en mélangeant 100 mM phosphate de sodium dibasique avec 100 mM phosphate de sodium monobasique dans un rapport 2:1, ce mélange est ajouté à 1:1 NaCl 150 mM et Tween 20 est incorporé à 0,25% (p / p) de la concentration final.

**Composition du milieu de culture**

- **Milieu PCA (Plate Count Agar).**

Peptone de viande ou de gélatine .....	5g
Extrait de levure .....	2.5g
Glucose.....	1g pH : 7
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

## Résumé

Le premier aspect traité dans ce travail est la caractérisation de la qualité de l'huile d'olive issue du processus d'extraction traditionnel de la région de M'chedallah (willaya de Bouira), l'huile d'olive a été analysée par des tests physico-chimiques comprenant : l'acidité libre, l'indice de peroxyde, la mesure des valeurs standards d'absorption UV (K232, K270), ainsi qu'un dosage en pigments a été réalisé, L'évaluation des indices de qualité nous permet de classer l'huile d'olive testée dans la catégorie « extra-vierge», le taux en pigments est faible et présente un rapport caroténoïdes / chlorophylles supérieur à l'unité.

Le deuxième volet de cette étude concerne la détermination de l'activité antibactérienne, *in vitro* de cette huile ainsi que le potentiel synergique de cette dernière lorsqu'enrichie par la plante médicinale "*Rosmarinus officinalis*", les résultats obtenus montrent une amélioration d'activité après enrichissement vis-à-vis des souches testées soit : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec un effet bactéricide à l'égard de *Staphylococcus aureus*.

**Mots-clés :** Huile d'olive, Qualité de l'huile d'olive, *Rosmarinus officinalis*, Enrichissement, Activité antibactérienne, Potentiel synergique.

## Abstract

The first aspect treated in this work is the characterization of the quality of olive oil obtained via a traditional extraction in the region of M'chedallah (Bouira), the olive oil was analyzed by physicochemical tests including: free acidity, peroxide value, measurement of standard UV absorption values (K232, K270), As well as a dosage in pigments was carried out, The evaluation of the quality index of this oil allows classifying it in the « extra virgin olive oil». The pigment content is low, and presents a higher than the unit chlorophylls/carotenoids ratio.

The second part of this study concerns the determination of the antibacterial activity, *in vitro* of this oil as well as the synergistic potential of the olive oil when enriched by the medicinal plant "*Rosmarinus officinalis*", the experimental results show that the enrichment of olive oil leads to a significant increase in antibacterial activity on the tested strains: *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, with a bactericidal effect on *Staphylococcus aureus*.

**Key words:** Olive oil, Olive oil quality, *Rosmarinus officinalis*, Enrichment, Antibacterial activity, Synergistic potential.

## المخلص

الجانب الأول الذي تم التطرق اليه في هذا العمل هو تصنيف جودة زيت زيتون مستخلصة عن نمط العصر التقليدي بمنطقة مشدالة (ولاية البويرة). تم تحليل زيت الزيتون بواسطة اختبارات فيزيائية بما في ذلك : الحموضة الحرة , مؤشر بيروكسيد قياس قيم امتصاص الأشعة فوق البنفسجية وفقا للمعايير الدولية, كما تم قياس تركيز الكلوروفيل و الكاروتينات, أظهرت النتائج بان عينة زيت الزيتون ذات جودة عالية و تحتوي على نسبة منخفضة من الكلوروفيل و الكاروتينات مع نسبة كلوروفيل/كاروتينات أكبر من الوحدة.

الجزء الثاني من هذه الدراسة يتعلق بتحديد النشاط المضاد للبكتيريا لعينة زيت الزيتون قبل و بعد إثرائها بالنبتة الطبية "اكليل الجبل", أظهرت النتائج التجريبية تحسنا في النشاط المضاد للبكتيريا لزيت الزيتون بعد إثرائها ضد السلالتين *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* مع تأثير مبيد ضد السلالة *Staphylococcus aureus*.

**الكلمات المفتاحية:** زيت الزيتون, جودة زيت الزيتون, اكليل الجبل, إثراء, النشاط المضاد للبكتيريا.