

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité antimicrobienne de l'huile d'oléastre enrichie par une plante
médicinale (romarin)**

Présenté par :

LALAOUI Nesrine & KAIDI Imène

Soutenu le : 13 septembre 2022

Devant le jury composé de :

Mme SAIDANI Karima	MCB	Présidente
Mme SAIT-DIB Sabrina	MCA	Promotrice
Mme DJAOUD Kahina	MCA	Examinatrice

Année universitaire: 2021/ 2022

Remerciements

En premier lieu, on remercie le bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, la patience pour accomplir ce travail.

*Nous tenons très sincèrement à remercier notre promotrice Mme **SAIT-DIB** Sabrina, Pour nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail et aussi pour sa confiance, son soutien, sa gentillesse, sa patience, sa disponibilité et pour ses conseils pratiquement et théoriquement tout au long de ce travail. Merci pour son aide précieuse et son regard critique qui nous ont été grandement utiles au cours de notre travail et lors de la rédaction de ce manuscrit.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à Mme **SAIDANI Karima** d'avoir accepté de présider notre jury et à Mme **DJAOUD Kahina** pour avoir bien accepté d'examiner notre travail.*

Nos remerciements s'adressent 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 s'adressent aussi à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail et toute l'équipe de laboratoire de recherche 3BS.

Nos très grands mercis à nos familles, pour leurs encouragements et leurs soutiens ainsi à tous nos amis et amis proches.

Dédicace

Tout d'abord, je remercie Allah Tout-Puissant qui a tracé le chemin de ma vie et qui m'a donné la volonté, la santé et la patience tout au long de mon parcours pour réaliser ce travail que je dédie :

Aux êtres les plus chers de ma vie, mon support, ma source d'amour, ceux qui ont fait de moi qui je suis maintenant, mes chers parents pour leur confiance, sacrifices, tendresse et leurs soutiens.

A ma chère sœur Nassima pour son soutien moral, financier et son aide durant le long de mes études.

A mon cher frère Nabil et sa femme Meriem pour leurs encouragements et leurs générosités.

Celle que j'ai l'immense plaisir de partagé ce travail ; ma chère binôme et amie Imène

A mes chères amies : Naziha, Hassiba, Ibtissem, Massilia, Dihia, Lydia, Sarah pour leurs amours et encouragements, en souvenir de nos éclats de rire et des bons moments qu'on a vécu ensemble.

A tous les membres et adhérents de l'association "El Salam" et à Rafik, Nadjim et Nesrine pour leurs encouragements.

A ma famille et à tous les personnes qui m'ont encouragés de loin ou du pré.

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.

Nesrine

Dédicace

En premier lieu je remercie le bon dieu le tout puissant de m'avoir donné la volonté et le courage pour réaliser ce travail que Je dédie avec un profond amour :

A la lumière de ma vie mes parents (Farouk et Nacéra)

Qui tiennent une place immense dans mon cœur, je leurs dois la reconnaissance, le respect et l'estime, je vous remercie pour votre soutien, votre amour, vos encouragements, vos prières étaient pour moi la clé de la réussite. Que Dieu vous donne bonne santé et longue vie.

A ma chère et unique sœur adorée Célia et son mari Nabil

Que je remercie pour leurs aident, leurs soutiens et leurs encouragements.

A mon cher unique frère Amine

Que je remercie pour son soutien, et son aide.

A mes chères cousines

Mina, Amel, Anaïs, Leticia.

A ma chère binôme Nesrine

Qui est aussi mon amie, que je remercie pour tout, celle que j'ai l'imminence plaisir de partagé avec elle ce travail.

A mes amis

Merci pour tous les moments partagés ensemble et tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail

Et A tous ceux que j'aime.

Imène

Liste des abréviations

ATCC : Américain Type Culture Collection

COI : Conseil Oléicole International.

GN : Gélose nutritive.

KOH : solution d'hydroxyde de potassium.

Meq : Le milliéquivalent

ORL: Oto-rhino-laryngologie.

PBST: Tampon phosphate salin tween.

PCA: Plate Count Agar.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline.

UFC : Unité formant colonie.

UV : Ultraviolet.

VIH : Virus immunodéficiência humaine.

Liste des tableaux

Tableau I: Taxonomie botanique	4
Tableau II: Principaux triglycérides présent dans l'huile d'oléastre.....	5
Tableau III : Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	9
Tableau IV : Composition chimique du romarin	10
Tableau V : Caractéristiques des souches cibles utilisées	17
Tableau VI : Indices de qualité des huiles étudiées.	23
Tableau VII : Evaluation de l'activité antibactérienne des huile.....	27
Tableau VIII : Evaluation de l'activité antifongique	30

Liste des figures

Figure 1 : Photographie de Rosmarinus Officinalis	9
Figure 2 : Evaluation de l'activité antimicrobienne des différentes variétés de l'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par le romarin.....	19
Figure 3 : Teneur en chlorophylles des échantillons d'huiles étudiées.....	25
Figure 4 : Teneur en caroténoïdes des échantillons d'huiles étudiées	25

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction ***1***

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'oléastre et l'huile d'oléastre

I.1. Généralités sur l'oléastre..... 3

I.2. Classification et description botanique d'oléastre 3

I.3. Huile d'oléastre 4

I.3.1. Définition de l'huile d'oléastre 4

I.3.2. Composition chimique de l'huile d'oléastre 4

I.3.2.1. Fraction saponifiable..... 5

I.3.2.2. Fraction insaponifiable..... 6

I.3.3. Technologie d'obtention de l'huile d'oléastre 6

I.4. Propriétés antibactériennes de l'huile d'oléastre..... 7

I.4.1. Activité antibactérienne de l'huile d'oléastre 7

I.4.2. Activité antibactérienne des composés phénoliques 7

Chapitre II : Généralités sur *Rosmarinus officinalis*

II.1. Généralités et historique sur *Rosmarinus officinalis* 8

II.2. Description et classification botanique du romarin 8

II.3. Etymologie et noms vernaculaires..... 9

II.5. Composition chimique du romarin 9

II.6. Utilisation du romarin..... 10

II.6.1. Utilisation phytothérapie 10

II.6.2. Parfumerie et cosmétique	11
II.6.3. Alimentation	11
II.6.4. Effets indésirables.....	11
II.7. Activités biologiques	11
II.7.1. Activités antimicrobiennes	11
II.7.2. Activité antiparasitaire.....	12
II.7.3. Activité antioxydante.....	12
II.7.4. Activité anti-inflammatoire	13
II.7.5. Activité antitumorale	13

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

III.1. Présentation de la zone d'étude et l'échantillonnage	14
III.2. Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'oléastre	14
III.2.1. Détermination de l'acidité libre.....	14
III.2.1. Détermination de l'indice de peroxyde	15
III.2.3 Détermination de l'extinction spécifique dans l'ultraviolet.....	15
III.2.4. Dosage des pigments	16
III.3. Enrichissement de l'huile d'oléastre par <i>Rosmarinus officinalis</i>	16
III.3.1. Matériel végétale	16
III.3.2. Préparation de l'huile d'oléastre enrichie au romarin	17
III.3.2.1 Analyses physico-chimiques de l'huile d'oléastre aromatisée.....	17
III.3.3. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par <i>Rosmarinus officinalis</i>	17
III.2.3.1. Standarisation des inocula bactériens.....	18
III.2.3.2. Standarisation des inocula fongiques	18
III.2.3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne d'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par le romarin	18

III.3. Etude statistique	20
--------------------------------	----

Résultats et discussion

IV.1. Indices de qualité de l'huile d'oléastre	21
IV.1.1. Acidité	21
IV.1.2. Indice de peroxyde	22
IV.1.3. Absorbance dans l'ultraviolet	23
IV.1.4. Dosage des pigments	24
IV.1.4.1. Teneur en chlorophylle	24
IV.1.4.2. Teneur en caroténoïdes	25
IV.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne d'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par le romarin	26
IV.2.1. Activité antibactérienne à l'égard des Gram négatif	28
IV.2.1.1. Activité antibactérienne vis-à-vis d' <i>Escherichia coli</i>	28
IV.2.1.2. Activité antibactérienne vis-à-vis de <i>K.pneumoniae</i>	28
IV.2.2. Activité antibactérienne à l'égard des Gram positif	28
IV.2.2.1. Activité antibactérienne vis-à-vis de <i>SARM</i>	28
IV.2.2.2. Activité antibactérienne vis-à-vis de <i>B.cereus</i>	29
IV.2.2.3. Activité antibactérienne vis-à-vis de <i>B.Subtillis</i>	29
IV.2.3. Activité antifongique	30
IV.2.3.1. Activité antifongique vis-à-vis de <i>Candida albicans</i>	30
IV.2.3.2. Activité antifongique vis-à-vis d' <i>Aspergillus Niger</i>	31
II.2.4. Discussion générale de l'activité antimicrobienne	31
<i>Conclusion</i>	35

Références bibliographiques

Introduction

Introduction

L'émergence de microorganismes pathogènes multi résistants, due à l'usage abusif et inapproprié des antibiotiques, pose actuellement un problème de santé publique assez préoccupant. En effet, la résistance des bactéries aux antibiotiques rend parfois le traitement thérapeutique inefficace, et met le praticien dans des situations délicates, surtout lorsque la vie du malade en dépend. (**Chebaibi et al., 2015**). La solution de ce problème s'avère donc urgente et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Le recours aux plantes médicinales, aux huiles essentielles et aux huiles végétales à propriétés antimicrobiennes constitue alors une des plus intéressantes pistes à explorer (**Girard, 2010**).

L'oléastre « *Olea Europea L. subsp .Europae avar. Sylvestris* » appartient à la végétation naturelle des aires méditerranéennes, dont l'infertilité avec les cultivars est connue. Sa présence généralisée dans tous les pays du bassin méditerranéen et la possibilité d'introgression génétique des populations locales d'oléastres dans les variétés sélectionnées successivement, ont déterminé non seulement la variabilité génétique actuelle mais également l'adaptation de l'olivier à différents environnements (**Breton et al., 2006**).

Des travaux réalisés ont montré que l'olivier sauvage présente une huile de haute qualité comparable à celle des variétés cultivées les plus connues (**Baccouri et al., 2008; Dabbou et al., 2011; Sait, 2012; Tamendjari et al., 2018**). Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude des molécules antioxydants et antimicrobiennes comme, caroténoïdes et les polyphénols de cette l'huile (**Laincer, 2017**).

Le romarin « *Rosmarinus officinalis* » est l'une des plantes aromatiques les plus utilisées dans la médecine traditionnelle et les produits pharmaceutiques en Algérie en général. Elle est très appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, hépatoprotectrices, emménagogues et antitumorales (**Athamena, 2009 ; Haida et al., 2013; Boutabia et al., 2016**).

Au cours des 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'oléastre par la plante médicinale *Rosmarinus Officinalis* afin d'améliorer ses activités antimicrobiennes. Le choix de cette

plante effectuée tient compte de l'importance de la famille à laquelle elle appartient (Lamiacées) et de son utilisation fréquente en médecine traditionnelle.

A la base de ces données, ce travail vise à connaître l'effet antimicrobien de l'huile d'oléastre avant et après enrichissement. Notre travail sera présenté comme suit :

- La première partie bibliographique divisée en 2 chapitres portant sur : Des généralités sur l'huile d'oléastre et sa description botanique ainsi ses vertus thérapeutiques et le deuxième chapitre sur le *Rosmarinus officinalis* et ses activités biologiques.

- La deuxième partie est consacrée au travail expérimental qui comprend deux parties : matériel et méthodes où sont détaillées les analyses qualitatives et l'évaluation de l'activité antimicrobiennes de l'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par le romarin puis la partie résultats et discussion est dédiée à l'interprétation et la discussion des différents résultats obtenus.

- Nous terminons ce travail par une conclusion générale et des perspectives à ce travail.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I
Généralités sur
l'oléastre et l'huile
d'oléastre

I. Généralités sur l'oléastre et l'huile d'oléastre

I.1. Généralités sur l'oléastre

L'oléastre "*Olea europea L. subsp .Europae avar. Sylvestris* ou *Aleaster*" en français l'oléastre ou l'olivier sauvage appartenant à la famille des *Oléacées* (Azeboj en kabyle) ; est un arbre vivace et thermophile qui résiste bien à la sécheresse et poussent d'une façon naturel spontané. Il mesure de 2 à 15m de hauteur, dans les rameaux ont une section presque carrés et épineux à feuilles persistantes et des petites fleurs blanc jaunâtre, leurs fruits sont moins charnus et fournissent moins de l'huile, originaire d'Afrique du nord (**Besnard et Bervillé, 2000**).

Caractérisés par la lenteur de croissance et le passage tardif en phase de production ainsi qu'une remarquable longévité. Il est présenté sous deux formes non distinguables morphologiquement, soit indigène, soit férale dérivant de descendant ensauvagé d'olivier (**Besnard et Bervillé, 2000 ; Lumaret et al., 2004**).

Le bassin méditerranéen reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture de l'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température mais aussi au niveau de l'hydrométrie (**Carrion et al., 2010**).

L'olivier sauvage se reproduit sexuellement et les graines sont dispersées par le vent et les oiseaux (**Alcantara et Rey, 2003**). Sa présence est considérée comme bon indicateur de la région floristique méditerranéenne. D'un point de vue écologique, il possède un rôle dans la protection des sols des éventuelles désertifications due à sa résistance aux conditions environnementales défavorables (**Mulas et Deidda, 1998**).

I.2. Classification et description botanique d'oléastre

Selon la classification de **Gherdia, (2010)**, l'oléastre appartient à la famille des *oléacées*, le genre appelé *Olea* qui comporte 30 espèces différentes. L'espèce méditerranéenne est *Olea europaea*, dans laquelle on trouve l'oléastre ou l'olivier sauvage.

Tableau I : Taxonomie botanique selon Gherdia, (2010).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Dialypetales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Familles	<i>Oleaceae</i>
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europaea L</i>
Sous espèce	<i>O. Europaea subsp sylvestris</i>

L'oléastre est un arbre non-cultivé avec un aspect buissonnant, caractérisé par des fruits de petite taille avec une faible teneur en l'huile et par un stade juvénile long. Les populations d'olivier sauvage sont limités à quelques secteurs isolés des forêts natales de la Méditerrané (**Hannachi et al., 2009**).

L'oléastre pousse sur des terrains relativement pauvres à reliefs accidentés. Dans des zones semi-arides comme dans le sud de l'Espagne et en Afrique du nord, Il peut être rencontré sur les rives de cours d'eau temporaires (**Durand et Terral, 2005**). Il possède un rôle dans la protection des sols éventuelles désertifications due à sa résistance aux conditions environnementales défavorables (**Mullas et Deidda, 1998**).

Feuille : courtes, arrondies et plus rides que celle d'olivier cultivé, a disposition opposé-décussée sur les rameaux.

Fruits : drupes, arrondies, de petites taille de 0.5-1.2 cm en comparaison a l'olivier cultivé de 1.2-4 cm, un mésocarpe peu épais, et donnent peu d'huile, et un épicarpe qui varie de vert au début de maturation au noir a pleine maturation.

I.3. Huile d'oléastre

I.3.1. Définition de l'huile d'oléastre

L'huile d'oléastre est une huile végétale obtenue par extraction par pression à froid des fruits de l'*Olea europaea. L. Subsp. Oleaster* qui lui permet de garder toute sa richesse.

I.3.2. Composition chimique de l'huile d'oléastre

La composition de l'huile d'oléastre dépend principalement de la qualité et la composition du fruit, de la zone de culture et des conditions climatique, degré de maturité, technique d'extraction et conditions de stockage (**Djadoun, 2011**).

L'huile d'oléastre est composée de deux types différents : d'une fraction saponifiable (triglycéride, acide gras) et fraction insaponifiable (les constituants mineurs).

I.3.2.1. Fraction saponifiable

Fraction saponifiable dite aussi glycéridique représente 99% de la totalité de la composition de l'huile ; elle se constitue essentiellement de :

✚ Acides gras

La composition en acides gras constitue un aspect essentiel pour l'évaluation qualitative d'une huile et elle a été utilisée par quelques auteurs comme paramètre de classification des huiles d'olive (**Baccouri et al., 2007a**). Des normes telles que celle du (COI) (Conseil Oléicole International) régulent la variabilité des taux en acides gras en plaçant des limites hautes et basses sur les proportions de chacun des acides gras.

D'après **Dabbou et al. (2011)** et **Hannachi et al. (2012)**, l'huile d'oléastre représente une composition en acide gras comparable à celle d'une huile de variété cultivée, et elle est conforme aux normes données par COI.

Une prédominance de l'acide oléique caractérise le profil d'acide gras totaux pour l'huile d'oléastre il présente 71,1_86% (**Hannachi et al., 2009**), et selon **Maestro et Borjas, (1990)** et **Boskou., (1996)** la quantité d'acide oléique présente dans l'huile d'oléastre relativement plus élevé que celle présent dans l'huile d'olive ; ainsi le taux des acides palmiques et d'acides linoléiques est relativement bas.

✚ Triglycérides

Les triglycérides représentent 95% des lipides totaux et les diglycérides environ 2.6% et les triglycérides majoritairement présent dans l'huile sont sous forme des trioléines (**Zarrouk et al., 1996**).

Tableau II : Principaux triglycérides présent dans l'huile d'oléastre (**Ben Tekaya et Hassouna, 2005 ; Tanouti et al., 2011**).

Triglycérides	Teneur en %
Trioléine « OOO »	47,54-58,34
Diolopalmitine « POO »	18,72-21,81
Dioléolimoléine « OOL »	15,10-20,9
Palmitooléolinoléine « POL »	3,16-6,94
Autres triglycérides	0.5-2

I.3.2.2. Fraction insaponifiable

S'avère intéressant parce qu'il produit une huile de bonne qualité en terme de composés mineurs comparée à l'huile d'olive, ces composés mineurs (alcools, composés phénoliques, chlorophylle, caroténoïdes stérols, tocophérols et flavonoïdes) contribuent à la qualité organoleptique et à la valeur nutritive (**Sait, 2012**).

Composés phénoliques

Les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal, L'huile d'olive est quasiment la seule huile contenant des quantités notables de substances phénoliques naturelles, qui lui confèrent son goût et selon **Leger (2003)**, les composés phénoliques participent à la stabilité de l'huile, et réduisent les risques de maladies cardiovasculaires (**Ollivier et al., 2004**).

Baccouri et al. (2008) rapportent que les teneurs en phénols et en O-diphénols d'huile d'oléastre oscillent entre 186 - 435 mg/kg et 105-217 mg/kg respectivement et sont hautement affectés par le facteur génétique. Les huiles d'olives sont riches en composés phénolique appartenant à diverses familles (phénols et hydroxy phénols, acides et alcools phénols, sécoiridoïdes, lignanes, flavonoïdes) (**Ollivier et al., 2004**).

Pigments

La présence de pigments naturels est parmi les facteurs majeurs affectant la qualité d'une huile, et on trouve deux type de pigments sont responsables de la teinte de l'huile d'olive : les caroténoïdes et les chlorophylles (**Boskou, 2000**). La teneur en pigments est influencée par le cultivar, l'indice de maturation des olives, la zone de production, le système d'extraction et les conditions de stockage (**Boskou , 2006**).

Selon **Boskou, (2015)** les tocophérols, les stérols, les composés volatils, représentent aussi une partie de la fraction insaponifiable.

I.3.3. Technologie d'obtention de l'huile d'oléastre

La technologie de production de l'huile d'olive se fait uniquement par des procédés physique dans des conditions thermiques qui sert à préserver les constituants mineurs et n'entraînent pas l'altération de l'huile (**Codex Alimentarius, 1989; COI, 2016**).

Les olives cueillis doivent être saines, mures et propres (**Metzidakis et al, 1995**). La fabrication se fait par deux étapes : le broyage pour écraser le fruit et faire sortir les gouttelettes d'huile puis l'extraction pour recueillir l'huile (**Bolmont et al, 1998**).

Le liquide obtenue est composé d'eau de végétation et d'huile qui seront séparés grâce à la différence de densités, l'huile est filtrée pour éliminer les impuretés puis stockée dans des cuves en inox pour éviter toute oxydation (**Uzzan, 1994 ; Benyahia et Zein, 2003**).

I.4. Propriétés antibactériennes de l'huile d'oléastre

I.4.1. Activité antibactérienne de l'huile d'oléastre

Les acides gras issus d'huile d'olive ont été responsable de l'activité antibactérienne et il a été rapporté qu'ils possèdent aussi une activité antimicrobienne, le fait que seul l'huile d'olive présente cette activité a suggéré que les composants mineurs de l'huile devraient être impliquée dans cette propriété biologique (**Medina et al., 2006**).

I.4.2 Activité antibactérienne des composés phénoliques

Brenes et al. (2007), Romero et al. (2007), ont rapporté que les composés phénoliques sont considérés comme étant des agents antibactériens promoteurs pour le traitement des infections de système gastro-intestinaux ou du système respiratoire.

Les polyphénols hautement hydroxylés présentent un potentiel important en tant qu'agents antibactérien (**Cowan , 1999 ; Friedman et al, 2003**), et selon **Boskou (2009)**, les effets antibactériens des composés phénoliques soient bien établis, leur mécanisme d'action n'est pas encore élucidé, plusieurs hypothèses ont été proposées afin d'éclaircir leur activité.

Le mécanisme d'action des composés phénoliques sur la bactérie se fait selon les trois étapes qui suivent (**Bruneton, 1999**), après son adsorption à la surface de la bactérie :

- Saturation des sites de la paroi cellulaire ;
- Saturation des sites de la membrane cytoplasmique ;
- Pénétration dans le cytoplasme.

Chapitre II
Généralité sur
Rosmarinus officinalis

II.1. Généralités et historique 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. 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 (**Leplate, 2017**).

Le *Rosmarinus officinalis* est une plante pousse spontanée de tout le bassin méditerranéen et du sud-ouest de l'Asie, qui demande un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec, il est généralement cultivé comme clôture dans les jardins (**Mokhtari et al., 2008**). En Algérie, le romarin est l'une des sept plantes qui comptent plus de 100000 hectares sur le territoire du pays (**Bensebia et al., 2009**).

Le romarin est un stimulant naturel très efficace, il détoxifie l'organisme, tonifie le foie, réduit le stress, calme les troubles rhumatismaux, les ballonnements, les crampes d'estomac, soulage les aphtes et on peut l'utiliser pour multiples raison.

Dans le temps anciens, le romarin a été utilisé pour formuler le médicament « l'eau de la reine de Hongrie » qui est en fait une sorte de vin. Les médecins arabes utilisent beaucoup le romarin, et ce sont eux qui ont réussi les premiers à extraire l'huile essentielle (**Fuinel, 2002**).

II.2. Description et classification botanique du romarin

Le romarin « *Rosmarinus officinalis* » est un arbuste de la famille des Lamiacées, il mesure environ un mètre de hauteur, il est toujours vert, très parfumé, très ramifié et très feuillu (**Eloutassi, 2004**). Ses feuilles sont persistantes opposées, étroites, presque en forme d'aiguille, d'un vert sombre sur le dessus et blanchâtres en dessous (Figure 1). Ses fleurs qui apparaissent en mai-juin, varient du bleu pâle au violet, qui est disposés en épis vers le sommet des rameaux (**Rameau et al., 2008**).



Figure 1: Photographie de *Rosmarinus Officinalis* (Goetz et Ghedira, 2012).

Tableau III : Classification botanique de *Rosmarinus officinalis* (Frouhat *et al.* 2013).

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

II.3. Etymologie et noms vernaculaires

Le « romarin » c'est un nom qui vient du latin « *ros marinus* » (rosée de mer). Il possède plusieurs appellations :

- **Berbère :** Azir, iazirou ou yiazir (Bellakhdar, 2006).
- **Arabe :** Iklil el jabal (Ducros, 1930).
- **Français :** Herbe aux couronnes, romarin des troubadours, rose marine, encensier (Anton et Lolestein, 2005).
- **Anglais :** Rosemary (El Rhaffari, 2008).

II.5. Composition chimique du romarin

La composition chimique des plantes est influencée en général par le lieu de croissance et de récolte ainsi que la période de récolte dans le cycle végétatif (Staub *et al.*, 2013). Le romarin est composé principalement de l'huile essentielle et des composés phénoliques cités dans le tableau IV.

Tableau IV : Composition chimique du romarin (Zeghad, 2009).

Huiles essentielles	1,8 cinéole, alpha-pinène camphre de romarin camphène
Acides phénols ou dérivés caféiques	Acide caféique, chlorogénique, acide vanillique, acide rosmarinique, rosmarine, acide P-coumarique
Flavonoïdes	Lutéoline, quercétine, genkwanine, cirsimaritrine, ériocitrine, hespéridines, diosmine, apigénine
Diterpènes	Acide carnosolique, rosmadial
Triterpènes et stéroïdes	Acide aléanolique, acide ursotique
Lipides	N-alkanes, isolalkanes, alkènes

II.6. Utilisation du romarin

Généralement, dans le romarin les parties utilisées sont les feuilles, les sommités fleuries, séchées, ou l'huile essentielle (Bousbia, 2011).

II.6.1. Utilisation phytothérapie

Le romarin peut être utilisé en infusion, sous forme de poudre, d'extrait sec ou d'autres préparations galéniques par voie interne et/ou externe pour le soulagement ou le traitement de nombreuses pathologies (Bousbia, 2011).

❖ Voie interne

Le romarin est un stimulant antispasmodique et cholagogue. Il est recommandé par ses propriétés stimulantes dans le soulagement des états adynamiques des fièvres typhoïdes et de la grippe, des fermentations intestinales, des asthénies, des dyspepsies atoniques. D'après les bénéfices rapportés contre la coqueluche et les vomissements neurogènes, il est considéré comme un antispasmodique. Le romarin est un bon cholagogue pour la cholécystite chronique, certaines ascites et la cirrhose du foie .il est aussi considérés comme un anti-VIH et un anticancéreux. (Paris *et al.*, 1993 ; Haloui *et al.*, 2000).

❖ Voie externe

Pour un usage externe, il est employé comme sommités infusés dans l'alcool, lui-même agit sur les ulcères, les plaies, les dermatoses parasitaires. La décoction peut être utilisée dans les bains de bouches pour les aphtes et pour les gargarismes (amygdalite) (Bousbia, 2011). L'huile essentielle du romarin soigne les blessures et l'inflammation des voies respiratoires et la sphère ORL, soulage les maux de têtes et les troubles rhumatismaux. (Dias *et al.* 2000).

II.6.2. Parfumerie et cosmétique

Rose marine a des propriétés dermo-purifiantes qui permettent son utilisation dans les préparations du déodorant, lotions et shampoing.

Selon **Martini, (2011)**, le romarin est considéré comme un composant des parfums masculins, des eaux de Cologne, ainsi dans la formulation des pommades dermiques. **Faucon, (2012)** a rapporté que l'huile essentielle du romarin est utilisée pour parfumer les produits d'hygiène.

II.6.3. Alimentation

Le romarin est une bonne source naturel de composés antioxydants, largement utilisé dans l'industrie alimentaire comme alternative aux additifs chimiques pour la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer (**bousbia, 2011**). Il est aussi utilisé comme épice dans les aliments cuits, la viande, les condiments et les aliments transformés. L'huile du romarin est utilisée dans les desserts, les aliments surgelés, les bonbons, les produits de boulangerie, la gélatine, nourriture diabétique et tisane (**Zoubeidi, 2004; Monino et al., 2008**).

II.6.4. Effets indésirables

Le contact direct avec la plante ou l'un de ses extraits peut provoquer une réaction allergique due à la présence de carnosol dans le romarin (**Miroddi et al., 2014**).

II.7. Activités biologiques

II.7.1. Activités antimicrobiennes

✓ Activité antibactérienne

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

L'activité des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* sur trois souches bactériennes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter* sp.) par la technique d'aromatogramme montre que le pouvoir antimicrobien de ces huiles est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les germes suscités (**Boutabia et al., 2016**). Selon **Jiang et al., (2011)** et **Jardak et al., (2017)**, le romarin pourrait montrer un effet antimicrobien naturel dans le domaine alimentaire et l'industrie pharmaceutique. Les résultats **Tavassoli et al., (2011)**, indiquent la puissance de l'huile essentielle de *R. officinalis*

comme conservateur naturel dans les produits alimentaires contre *L. mesenteroides*, *L. delbruekii*, *S. cerevisia* et *C.krusei*.

Haida et al., (2013) ont montrés le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques de romarin testé sur trois souches de bactéries différentes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*), seules les fractions apolaires ont répondu positivement aux tests.

✓ **Activité antifongique**

D'après **Jardak et al., (2017)**, les huiles essentielles ont un effet inhibiteur sur la croissance des levures et la germination des spores, l'allongement du mycélium, la formation de spores et la production de mycotoxines.

L'huile essentielle du romarin pourrait être utilisée comme un agent de conservation dans certains types d'aliments pour prévenir le développement d'espèces fongiques toxigènes (**Rasooli et al., 2008**).

Les levures du genre *Candida* sont des espèces opportunistes pouvant devenir pathogènes chez les patients fragilisés, comme par exemple les patients immunodéprimés. Les infections à *Candida* ont augmenté ces dernières années et sont devenues des causes de mortalité.

Dans le cadre de lutte contre ce pathogène, L'huile essentielle de romarin montre des concentrations minimales inhibitrices) surtout contre *Candida Albicans* indiquant un effet antifongique significatif (**Bozin et al ., 2007**).

Sclerotinia sclerotiorum, champignon terricole provoquant des maladies importantes des plantes partout dans le monde. C'est un pathogène qui peut infecter les feuilles et les racines de la carotte. **Ojaghian et al., (2014)** ont montré que les extraits de romarin possèdent un potentiel antifongique inhibiteur équivalent à 50,4%.

II.7.2. Activité antiparasitaire

Une activité antiparasitaire contre *Leishmania* a été montrée par **Shokri et al., (2017)** de l'huile essentielle du romarin et nanoémulsion, cette dernière a considérablement réduit le nombre de parasite dans les macrophages.

II.7.3. Activité antioxydante

Une grande partie de l'intérêt des recherches porte sur l'étude des molécules antioxydantes et leur incidence sur les radicaux libres (**Rios-Evans et al ., 1997**).

Les antioxydants sont des agents qui peuvent prévenir les dommages oxydatifs grâce à leur capacité à capter les radicaux libres. Ces antioxydants peuvent avoir plusieurs origines, ils peuvent être produits dans l'organisme ou apportés par l'alimentation ou bien sont issus d'une synthèse chimique (**Kalander et al., 2012**).

Le romarin est l'une des principales ressources en antioxydants naturels de ce fait de sa richesse en 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**).

Environ 90% de l'activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis* est principalement attribuée à une teneur élevée en composants non volatils comme l'acide carnosique, le carnosol (diterpènes phénoliques) et l'acide rosmarinique (**Bradley, 2006**).

II.7.4. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse complexe de l'hôte à une lésion, impliquant le recrutement de leucocytes et l'extravasation des protéines plasmatiques (**Rodriguez et al., 2015**).

Extraits du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) ont été évalués pour leur activité anti-inflammatoire. 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.7.5. Activité antitumorale

Le romarin a un extrait fluide supercritique qui présente des propriétés antitumorales, 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**).

De plus, l'acide rosmarinique est un puissant inhibiteur de l'intégrase du VIH-1. En outre, le carnosol et l'acide carnosique ont des propriétés anti-carcinogènes et anti-inflammatoires (**Gonzalez et al., 2013**).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche BBBS (biochimie, biophysiques, biomathématiques et Scientométrie), à l'université de Abderrahmane-Mira Bejaia. Elle consiste à l'enrichissement de l'huile d'oléastre par *Rosmarinus officinalis*, et l'étude de ses caractères physicochimiques, ainsi que leur pouvoir antagonistes vis-à-vis de 7 souches pathogènes référencées.

III.1. Présentation de la zone d'étude et l'échantillonnage

Notre zone d'étude est le village « Khelil » de la commune Barbacha, situé à environ 49Km de la wilaya de Bejaia. Latitude et longitude de cette région sont respectivement 36° 32' 4" N et 4° 56' 19" E. On a collecté un échantillon de l'huile d'oléastre (1 litre) d'une huilerie traditionnelle, L'échantillon d'huile d'oléastre est mis dans un flacon en verre fumé remplis, étiquetés et mis au réfrigérateur (4°C) jusqu'à l'utilisation ultérieure.

III.2. Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'oléastre

III.2.1. Détermination de l'acidité libre

L'acidité qui mesure le pourcentage en acides gras libres, est déterminée selon la méthode décrite dans le règlement CEE/2568/91. Le principe de la méthode consiste en un titrage des acides gras libres présents par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (COI,2017a).

Un échantillon d'huile de 5 g est solubilisé dans 20ml d'un mélange (V/V) diethylther-éthanol à 95%, puis le mélange est titré en agitant, avec une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 0.1N jusqu'à virage de couleur vers le rose (indicateur coloré la phénolphtaléine) (Annexe 02), persistant pendant au moins 10 secondes. Réalisation d'un témoin dans les mêmes conditions (sans matière grasse). L'acidité (%) est exprimée en pourcentage de poids d'acide oléique, elle est égale à :

$$A \% = \frac{(V - V0) \times N \times P}{10 \times m}$$

V et V0 : volume en ml de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon et le blanc, respectivement ;

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

N : normalité de la solution KOH.

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

III.2.1. Détermination de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde représente la quantité de substances de l'échantillon exprimée en meq d'O₂ actif /Kg, qui oxydent l'iodure de potassium avec libération d'iode, ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation des huiles (**COI 2017b**).

La méthode utilisée est celle décrite par le **COI (2017b)**. Un échantillon de 2 g d'huile est introduit dans une fiole à col rodé, 10 ml de chloroforme sont ajoutés, tout en agitant, afin de dissoudre l'huile ; suite à quoi 15 ml d'acide acétique glaciale et 1 ml d'une solution d'iodure de potassium saturée sont ajoutés, la fiole est bouchée rapidement, puis agitée vigoureusement pendant 1 minute et laissée à l'obscurité pendant 5 min à température ambiante. 75 ml d'eau distillée sont ensuite ajoutées ainsi que quelques gouttes d'empois d'amidon, le tout est titré avec le thiosulfate de sodium (Na₂ S₂ O₃) à 0,01 N en agitant vigoureusement (Annexe 3). L'indice de peroxyde est donné par l'expression ci-après :

$$IP = \frac{(V - V_0) * 1000}{m \text{ (meqd'o}_2\text{/Kg)}}$$

N : normalité Na₂S₂O₃ (0.01N).

V, V₀ : volume en ml de Na₂S₂O₃ nécessaire pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc, respectivement ;

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

III.2.3 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 formes des produits volatils et non volatils dus à la dégradation de la chaîne d'acide gras insaturés par l'oxygène atmosphérique, 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., 2011**).

La méthode utilisée est celle décrite par le **COI (1996)**: Un échantillon de 0,25g d'huile filtrée (à travers le sulfate de sodium anhydre) est ajusté à 25ml avec du l'hexane (annexe 03). L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232 nm et 270 nm

respectivement. Les coefficients d'extinction E232 et E270 sont exprimés par l'équation suivante :

$$E = \frac{A\lambda}{C * L}$$

E : Extinction spécifique à la longueur d'onde λ nm.

A λ : Densité optique à la longueur d'onde λ nm.

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

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

III.2.4. Dosage des pigments

La méthode utilisée est celle décrite par **Minguez-Mosquera et al. (1991)**. Un échantillon de 7,5g d'huile filtrée est ajusté à 25 ml avec de l'hexane (annexe 04). La fraction chlorophyllienne absorbe au voisinage de 670nm, alors que la fraction caroténoïde est détectée à 470nm. 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 :

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

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

A : Absorbance

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

III.3. Enrichissement de l'huile d'oléastre par *Rosmarinus officinalis*

III.3.1. Matériel végétale

Notre étude est portée sur le romarin (*Rosmarinus officinalis*) qui appartient à la famille des Lamiacées. La partie aérienne de cette plante a été récolté en mois d'avril (10/04/2022) du foret de Leflaye qui se situe à la daïra de Sidi-aich de la wilaya de Bejaia.

III.3.2. Préparation de l'huile d'oléastre enrichie au romarin

Mettre 15 g de la partie aérienne du romarin dans une bouteille en verre propre et sèche .verser 500 ml d'huile d'oléastre dans la bouteille puis conserver pendant 2 mois (12 /04/2022) au (12/06/2022) à l'abri de l'air, la lumière et à une température ambiante.

III.3.2.1 Analyses physico-chimiques de l'huile d'oléastre aromatisée

Détermination des indices de qualité et le dosage des pigments de l'huile d'oléastre aromatisée ont été analysés après deux mois de conservation.

III.3.3. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par *Rosmarinus officinalis*

Sept souches sur lesquelles nous avons testées l'activité antimicrobienne d'huile et l'huile enrichie, ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'Homme. Elles sont issues de sources différentes (tableau VI).

Tableau VI : Caractéristiques des souches cibles utilisées.

	Souches cibles	Référence	Gram	Pathogénicité	Antibiorésistance
S ₁	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Souches de laboratoire	Négatif	Opportuniste pathogène important (pneumonies)	Quinolones, piperacillin-tazobactam
S ₂	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négatif	Pathogène	Béta-lactames
S ₃	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant a la Méricilline (SARM)	ATCC 43300	Positif	Pathogène	Méricilline
S ₄	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Positif	Pathogène	Erythromycine, kanamycine, lipcomycine, spectinomycine, tétracycline
S ₅	<i>Bacillus cereus</i>	Souches de laboratoire	Positif	Pathogène	Erythromycine, kanamycine, lipcomycine, spectinomycine, tétracycline

S ₆	<i>Candida sp</i>	Souche de laboratoire	/	Candidoses	/
S ₇	<i>Aspergillus niger</i>	Souche de laboratoire	/	Pathogène	/

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 élément primordial contribuant de façon essentielle à la qualité des résultats de l'activité antibactérienne, d'où la nécessité de standardiser l'inoculum bactérien. Ce dernier est préparé, dans l'eau physiologique, à partir d'une culture pure et fraîche (18 heures). L'inoculum est ajusté à 0,5 Mc Ferland correspondant à une densité optique de (0,08 à 0,10) à 625 nm. La concentration finale de l'inoculum est de 10⁸ UFC/ml (**CA-SFM / EUCAST 2021**).

III.2.3.2. Standardisation des inocula fongiques

Préparation d'un inoculum en prélevant des colonies et les suspendre dans 9 ml d'eau physiologique stérile (9 g NaCl/l). La densité de l'inoculum est fixée entre 0,5 à une longueur d'onde de 540 nm, équivalent à 10⁸ spores/ml.

III.2.3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne d'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par le romarin

Le protocole pour évaluer l'activité antimicrobienne d'huile d'oléastre avant et après enrichissement par le romarin (**Medina et al., 2006**) est représenté dans la figure 04.

Un volume de 4,2 ml d'une solution tampon PBST (phosphate-buffered saline tween) stérile (0,2 M, pH 7) est additionné à 300 µl d'huile d'olive stérile, la suspension estensemencée avec 500 µl d'une suspension microbienne préparée à partir d'une culture fraîche à 10⁷ cellule/ml des différents germes cibles (DO de 0,50 aux absorbances déterminées). Le mélange est incubé sous agitation à 37° C pendant une heure. Un tube témoin est réalisé en remplaçant 300 µl d'huile d'oléastre par 100 µl de la solution tampon PBST. Au terme de la période d'incubation, des dilutions allant jusqu'à 10⁻⁴, suivies d'ensemencements sur gélose PCA pour les bactéries et milieu Sabouraud pour les champignons sont réalisés en vue de dénombrer (**Annexe 05**). Effectuer le même protocole, en augmentant à chaque fois le volume d'huile à tester (500 et 700 µl).

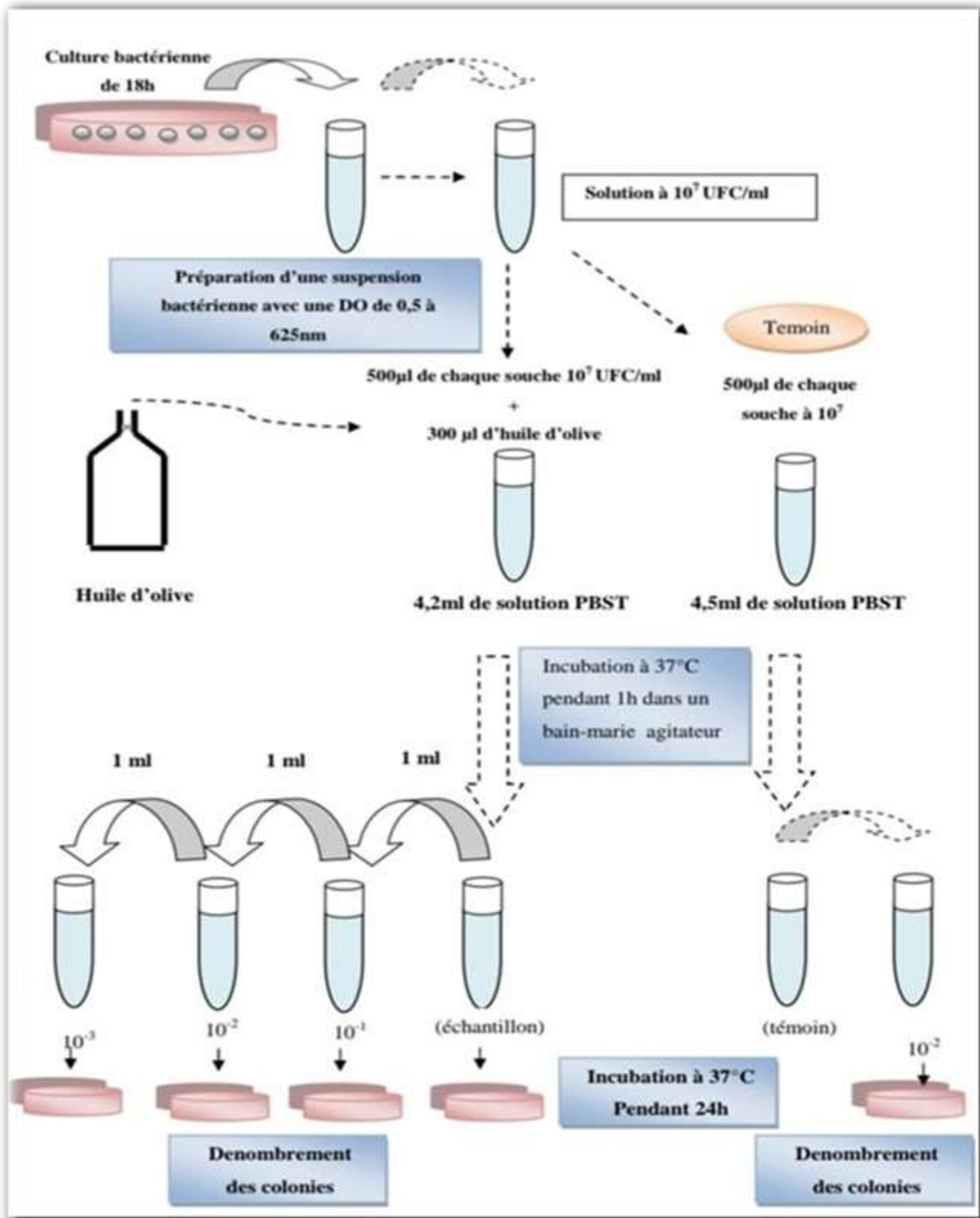


Figure 2 : Evaluation de l'activité antimicrobienne des différentes variétés de l'huile d'oléaste et l'huile d'oléaste enrichie par le romarin (Medina *et al.*, 2006).

III.3. Etude statistique

Une étude statistique des résultats est réalisée à l'aide de l'application ANOVA. Ensuite le logiciel JMP pour le test HSD de Tukey-Kramer. 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 de l'huile d'oléastre

IV.1.1. Acidité

L'acidité libre est l'un des paramètres qui nous renseigne sur l'altération des échantillons d'huile et l'un des principaux critères de qualité.

Le résultat montre que le pourcentage d'acidité de l'échantillon d'huile d'oléastre étudiée est de 0,14% d'acide oléique (Tableau VII) permettant de la classer dans la catégorie des huiles d'olives extra vierges telle qu'elle 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**), elle est inférieure à celles obtenue par **Oueddrhiri et al., (2017)**, pour les huiles d'olive du Maroc dont le taux est compris entre 0,43-0,48% d'acide oléique.

Notre huile présente une acidité inférieure à celle de quelques huiles d'oléastres tunisiennes qui ont enregistré des acidités de 0,3 à 0,5 % en acide oléique (**Baccouri et al., 2007a**), et aussi sont inférieures de celles obtenues par **Dabbou et al. (2010)** pour les oléastres tunisiens (Oléastre K, Oléastre M) dont le taux est compris entre 0,17 et 0,34.

Par contre, elle est semblable à celles rapportées par **Laincer et al., (2014)** pour les huiles d'olive de Bejaia dont les valeurs d'acide oléique comprises entre 0,05-0,23%. **Tanouti et al., (2011)** et **Condelli et al., (2015)** ont noté une 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) qui sont supérieur à celle qu'on a observée.

La connaissance d'indice d'acides d'un corps gras est un bon moyen pour déterminer son altération par hydrolyse. C'est un critère de pureté de l'huile (**Benosman et Mamchaoui, 2005**) et pour **Tanouti et al., (2011)** l'huile d'olive peut s'altérer et son acidité augmente suite à la libération d'acides gras par hydrolyse des triglycérides.

Cette valeur enregistrée de 0,14 % indique une faible hydrolyse au cours de l'extraction et le stockage d'huile (**COI, 2019**).

Après deux mois de conservation de l'huile enrichie à une température ambiante et à l'abri de l'air et de la lumière, on a enregistré une augmentation de taux d'acidité qui est de

1,28% par rapport à l'huile d'oléastre cette augmentation peut être due à une hydrolyse des triglycérides en acides gras au cours de stockage (**Tanouti et al., 2011**).

IV.1.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est utilisé en tant que révélateur de la détérioration d'huile par oxydation (**Barone et al., 1994**). Il est également utilisé pour surveiller tout problème de production, qui se produit après la récolte et pendant le traitement (**Kiritsaki et Markakis, 1998**). 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. Cette huile présente un indice de peroxyde de $11 \pm 0,5$ meq d'O₂/kg (Tableau VII).

En comparant la valeur de l'indice de peroxyde obtenue à celle de la norme du COI, on constate que l'échantillon analysé présente un indice de peroxyde ≤ 20 meq d'O₂/kg, conforme à la norme fixée pour une huile extra-vierge.

Cette valeur est proche de celles obtenue par **Oueddrhiri et al., (2017)** pour les huiles d'olive de Maroc dont le taux est compris entre 10,8-12,1 meq d'O₂/kg. Elle est supérieure à celle rapportée par **Tamendjari et al., (2018)** pour les huiles d'olive et d'oléastre de Bejaia dont les valeurs sont comprises entre 3,25-9,4 meq d'O₂/kg et celui trouvé par **Abdellah et al., (2018)** pour une huile d'olive de région de Skikda. Mais sont proches de celles obtenues par **Boulfane et al., (2015)** pour les huiles d'olives marocains dont le taux est compris entre 10,96 et 18,70 meq d'O₂/kg et sont comparables à ceux des huiles d'oléastres Pakistanaises qui varient de 3,4 à 13,1 meq O₂/kg (**Gulfraz et al., 2006**).

L'huile d'olive sauvage analysée présente un indice de peroxyde plus faible que ceux obtenus par **Issaoui et al., (2007)** sur des huiles de variétés tunisiennes qui dépassent parfois la limite fixée par les réglementations internationales (entre 4,7 et 22 meq O₂/Kg), mais peu élevée comparé aux huiles d'oléastres analysées par **Baccouri et al., (2007a)** dont les valeurs oscillent entre 2,4 à 7,66 meq O₂/Kg.

L'huile enrichie par le romarin présente une valeur de $18,5 \pm 0,5$ meq d'O₂/kg qui est plus élevé en comparant avec l'huile d'oléastre normal. Cette différence de valeur revient à l'oxydation primaire lors de conservation de l'huile enrichie par le romarin (**COI, 2019**).

IV.1.3. Absorbance dans l'ultraviolet

L'extinction spécifique des huiles dans l'ultraviolet est un paramètre important de sa qualité. En effet, à 232 nm, elle permet d'évaluer la présence de produits primaires d'oxydation des acides gras (hydroperoxydes linoléiques...), tandis qu'à 270 nm les produits secondaires d'oxydation des acides gras (alcools, cétones...) sont détectés (Tanouti *et al.*, 2011).

Les valeurs des absorptions spécifiques obtenues pour les échantillons étudiés en ultraviolet à 232 nm et à 270 nm sont 1,72 et 0,10 respectivement (Tableau VII). 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.

Notre l'huile présente des coefficients d'extinction spécifiques proches à ceux enregistrés par Tamendjari *et al.*, (2018) qui sont comprise entre (1,70-2,28 pour le coefficient K232, 0,09-0,15 pour le coefficient K270). Par contre en comparant aux résultats obtenus par Bendi et Belkherroubi, (2022) qui sont comprise entre (0,02-0,07 pour le coefficient K232 et 0,01-0,05 pour le K270) on remarque que nos résultats sont plus élevés.

Notre huile présente des coefficients d'extinction spécifiques K232 proches à ceux des huiles d'oléastres tunisiennes (Baccouri *et al.*, 2007a), Par contre pour coefficients d'extinction spécifiques K 270 sont inférieures (Baccouri *et al.*, 2007a).

Tableau VII : Indices de qualité des huiles étudiées.

Huile		Huile d'oléastre	Huile d'oléastre aromatisé
Indice			
Indice d'acidité(%)		0,14	1,28
Indice de peroxyde (meq d'O2/kg)		11 ± 0,5	18,5± 0,5
Absorbance dans l'ultraviolet	K232	1,72	2,44
	K270	0,10	0,09

Après deux mois de conservation de l'huile enrichie par le romarin une augmentation de coefficient d'extinction spécifique (K232: 2,44) par rapport celle enregistré de l'huile d'oléastre qui peut être due à la formation des hydroperoxydes linoléiques qui absorbent la lumière a K232 avec une valeur de 0 ,09 qui n'est pas loin de la valeur de l'huile d'oléastre qui indique absence d'oxydation secondaire lors de stockage (COI,2019).

IV.1.4. Dosage des pigments

L'huile d'olive contient des composés mineurs qui lui confèrent ses qualités organoleptiques et nutritionnelles. Parmi ces composés mineurs les pigments, qui jouent un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile au cours de son stockage et dans la préservation de sa qualité (**Tanouti et al., 2011**). Ils sont responsables de la couleur verdâtre à jaune de l'huile (**Benrachou, 2013**).

Deux sortes de pigments sont présentes dans l'huile d'oléastre : les chlorophylles et les caroténoïdes.

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

IV.1.4.1. Teneur en chlorophylle

La chlorophylle est un caractère de l'huile d'olive vierge, elle dépend de plusieurs facteurs comme le facteur génétique, le stade de maturité, la qualité de fruits, le procès d'extraction et les conditions de stockage (**Malheiro et al., 2013**).

La teneur en chlorophylle de notre échantillon d'huile d'oléastre est de 0,84 mg/kg (figure 05). Cette valeur est supérieure à celle obtenue par **Sait, (2012)** de la variété algérienne *Chemlal* qui présente une teneur en chlorophylle de 0,2 mg/kg et sont faibles comparées à ceux des huiles d'oléastres de la région de Bejaia 0,3 jusqu'à 1,22mg/kg (**Tamendjari et al., 2018**), et celles des variétés brésiliennes et espagnoles étudiées par **Borges et al. (2017)** qui ont notés des teneurs comprises entre 1,39 et 4,38 mg/kg.

Notre échantillon de l'huile enrichie par le romarin a enregistré une valeur de 5,74 mg/kg qui est plus élevé que celle d'huile d'oléastre non enrichie (figure 5). Cette augmentation peut être justifiée par la présence du romarin dans l'huile pendant deux mois qui est une plante riche en chlorophylle.

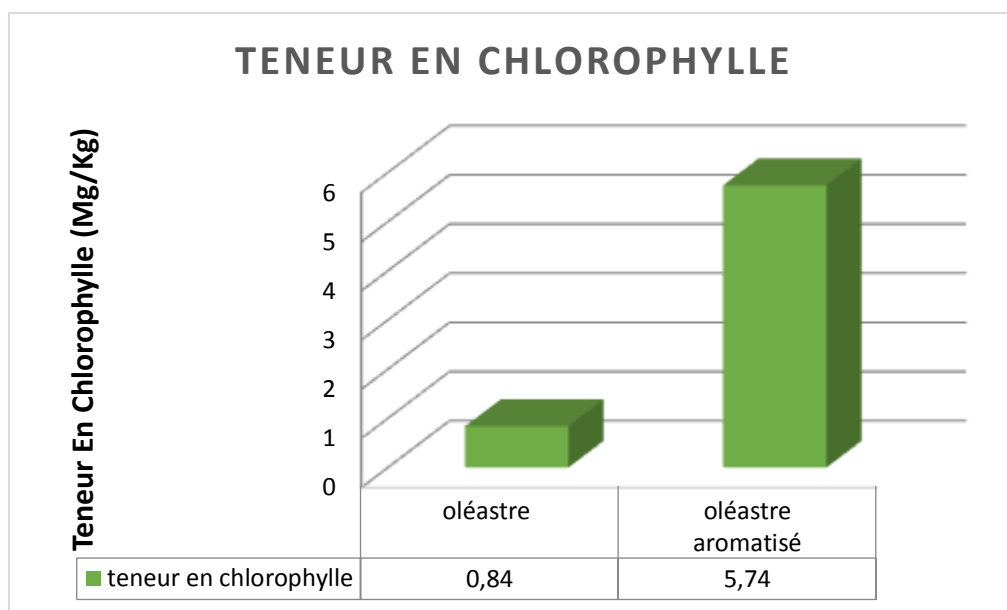


Figure 3 : Teneur en chlorophylles des échantillons d’huiles étudiées.

IV.1.4.2. Teneur en caroténoïdes

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).

La teneur en caroténoïdes de l’huile d’oléastre analysée est de 0,88 mg/kg (figure 6), ce résultat est proche de celui obtenu par Fendri *et al.*, (2021) variété tunisienne dans l’échantillon SM138 qui a enregistré une valeur de 0,7mg/kg tandis que l’échantillon SM100 a enregistré une valeur de 6,2mg/kg qui est supérieure à notre valeur.

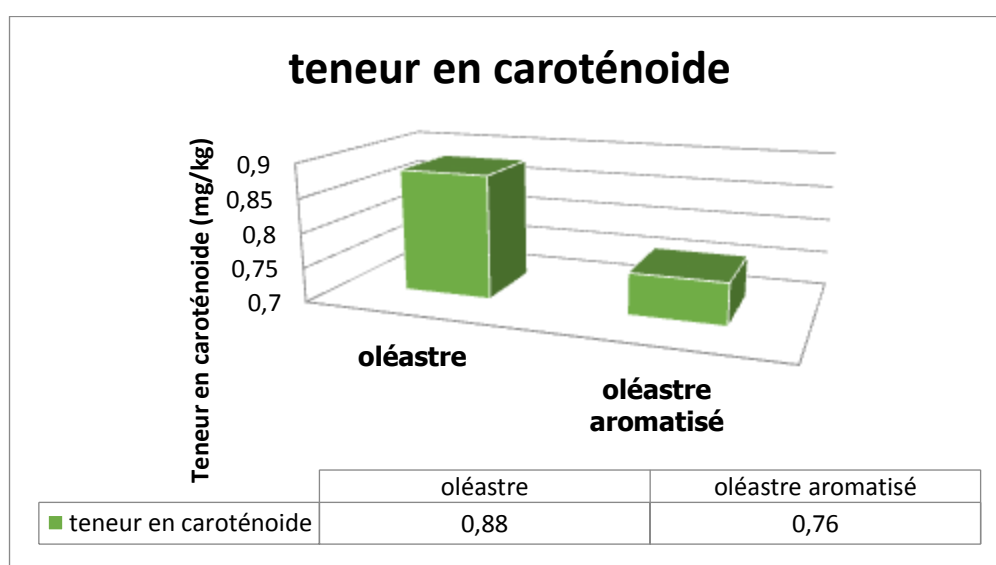


Figure 4 : Teneur en caroténoïdes des échantillons d’huiles étudiées.

Notre échantillon d'huile présente un taux très faible en caroténoïdes comparé à ceux des huiles d'oléastres tunisiennes (entre 1,68 à 4,9 mg/Kg) analysées par **Baccouri et al., (2007a)** et ceux obtenu par **Cerretani et al., (2008)** pour des variétés italiennes (entre 2,93 à 14,6 mg/Kg).

Par contre cette valeur obtenue est supérieure à celle enregistré par **El Moudden et al., (2020)** de la variété marocaine qui est comprise entre 0,13-0,63 mg/kg.

Le rapport chlorophylle/caroténoïdes pour notre échantillon est de 0,95 qui sont inférieur à 1.

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 supérieure à 1,6 dominance de la couleur verte (**Cerretani et al., 2008**). D'après cette classification notre huile présente une dominance de la couleur jaune.

La teneur en caroténoïdes de l'huile d'oléastre enrichie par le romarin a enregistré une valeur de 0,76 mg/kg qui est proche de la teneur de l'huile de l'oléastre, donc le romarin n'a pas exercer un changement remarquable dans la teneur en caroténoïdes.

IV.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne d'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par le romarin

Ce travail avait pour but de démontrer si l'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie par le romarin ont un pouvoir antimicrobien, ainsi que le potentiel synergique d'huile d'oléastre lorsqu'elle est enrichie par la plante médicinale "*Rosmarinus officinalis*",

L'effet des deux échantillons étudiés à l'égard de sept souches microbiennes. Trois souches à Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus méthiciline résistant*), deux souches Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) et une levure (*Candida albicans*) et une moisissure (*Aspergillus niger*). Les cultures microbiennes ont été effectuées dans des milieux PBST supplémentés d'huile d'oléastre aux différents volumes (300, 500 et 700 µl) avec un témoin sans huile. L'activité antimicrobienne se manifeste par une diminution ou bien une disparition de la charge microbienne après l'ajout de l'huile à tester, les cellules viables sont exprimées en Log cellule/ml (**Medina et al., 2006**).

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles étudiées.

Inoculum standard		10 ⁷ UFC/ml														
Temps de contact		1 heure														
taux de réduction logarithmique		(logN _i -logN _f)														
Germe		Gram négative						Gram Positive								
		<i>Escherichia coli</i>			<i>K.pneumoniae</i>			<i>SARM</i>			<i>B.Cereus</i>			<i>B.Subtillis</i>		
Volume de l'huile (µl)		300	500	700	300	500	700	300	500	700	300	500	700	300	500	700
Type de l'huile	Huile d'oléastre (Log)	4,43 n	7,00 a	7,00 a	4,58 m	5,20 h	5,72 e	4,74 j	5,30 g	7,00 a	4,67 l	5,06 i	6,52 b	5,52 f	5,88 d	7,00 a
	L'huile d'oléastre enrichie par le romarin (Log)	7,00 a	7,00 a	7,00 a	4,70 k	6,30 c	7,00 a	7,00 a	7,00 a	7,00 a	7,00 a	5,52 f	5,88 d	7,00 a	7,00 a	7,00 a

N_i = concentration initiale des bactéries dans le tube d'essai (10⁷ UFC / ml),

N_f = concentration finale bactéries (UFC / ml).

7log : bactéricide.

< **7log** : bactériostatique

* Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (p<0,05).

IV.2.1. Activité antibactérienne à l'égard des Gram négatif

IV.2.1.1. Activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli*

D'après le tableau VIII, on remarque que notre échantillon d'huile d'oléastre a montré un effet inhibiteur (effet bactériostatique) pour le volume 300 µl/5 ml vis-à-vis de l'espèce *Escherichia coli* avec un taux de réduction logarithmique de 4,43 Log. A ce volume, des différences significatives ($p < 0,05$) sont relevées entre l'huile d'oléastre et celle enrichie par le romarin qui a montré avec un effet bactéricide de 7 log. Néanmoins aucune différence n'est notée entre ces huiles pour les volumes 500 µl et 700 µl vis-à-vis *Escherichia coli* (annexe 06). Cet effet a été expliqué par l'enrichissement de l'huile d'oléastre par le romarin qui est une plante médicinale connue par sa richesse en composés phénoliques (**Haida et al., 2013**) et les huiles essentielles (**Boutabia et al., 2016**).

IV.2.1.2. Activité antibactérienne vis-à-vis de *K.pneumoniae*

Pour l'huile d'oléastre, *K.pneumoniae* a montré un effet bactériostatique pour les trois volumes 300, 500 et 700 µl, avec un taux de réduction logarithmique de 4,58, 5,20 et 5,72 log.

En comparant avec l'huile d'oléastre enrichie par le romarin, on observe que cet échantillon est plus actif avec un taux de réduction de 4,70 et 6,30 log, pour les volumes 300 et 500 µl ; par contre le volume 700 µl a enregistré un effet bactéricide de 7 log.

L'analyse statistique a révélée des différences significatives ($p < 0,05$) entre les deux types d'huile vis-à-vis *K.pneumoniae* à ces volumes.

IV.2.2. Activité antibactérienne à l'égard des Gram positif

IV.2.2.1. Activité antibactérienne vis-à-vis de *SARM*

Un taux de réduction de 4,74 et 5,30 log pour les volumes 300 et 500 µl qui indique un effet inhibiteur bactériostatique de l'huile d'oléastre vis-à-vis *SARM* et pour le volume 700 µl /5ml, l'huile a montré un effet bactéricide de 7 log.

En examinant les résultats des huiles vis-à-vis *SARM*, elle semble plus sensible par rapport aux deux autres bactéries à gram positifs, on observe aucune croissance de cette souche en présence l'huile d'oléastre enrichie par le romarin qui a exercé un effet bactéricide de 7 log pour les trois volumes 300, 500 et 700 µl. L'étude statistique montre une différence significative ($p < 0.05$) entre cette huile et celle aromatisée a des volumes de 300 et 500 µl,

mais aucune différence significative ($p < 0,05$) n'est relevée entre ces deux échantillons vis-à-vis de *S. aureus* a un volume 700 μl .

El amri et al., (2014) ont montrés un effet inhibiteur très important des huiles essentielles du romarin contre *Staphylococcus aureus multi résistant* (SARM).

IV.2.2.2. Activité antibactérienne vis-à-vis de *B.cereus*

Les résultats représentés dans le tableau VIII indiquent que les deux échantillons montrent un effet inhibiteur vis-à-vis du *B.cereus*. Des variations significatives sont détectées entre ses deux échantillons.

Pour les trois volumes 300, 500 et 700 μl , l'huile d'oléastre a exercée un effet bactériostatique avec un taux de réduction logarithmique de 4,67, 5,05 et 5.52 log sur *B.cereus*.

D'après les résultats obtenus d'oléastre enrichie par le romarin a enregistré un effet bactériostatique pour les deux volumes 300 et 500 μl avec une réduction de 5 ,69 et 5,82 log. Pour le volume 700 μl l'huile enrichie a exercé un effet bactéricide de 7 log.

IV.2.2.3. Activité antibactérienne vis-à-vis de *B.Subtilis*

L'étude statistique a montré une différence significative ($P < 0,05$) entre les huiles étudiées vis-à-vis de *B. subtilis*.

D'après le tableau VIII, l'huile d'oléastre a montré un effet bactériostatique pour les deux volumes 300 et 500 μl avec un taux de réduction logarithmique de 5,52 et 5,88 log. Par contre un effet bactéricide de 7 log a été enregistré pour le volume 700 μl .

On n'enregistre aucune colonie de *B.Subtilis* au bout d'une heure d'incubation en présence des huiles enrichies pour les trois volumes (300, 500 et 700 μl).

IV.2.3 Activité antifongique

L'activité antifongique des huiles étudiées est résumée dans le tableau IX.

Tableau IX : Évaluation de l'activité antifongique.

Inoculum standard		10 ⁷ Spores/ml					
Temps de contact		1 heure					
Taux de réduction logarithmique		(LogN _i -LogN _f)					
Germe		<i>Candida Albicans</i>			<i>Aspergillus Niger</i>		
Volume de l'huile (µl)		300	500	700	300	500	700
Type de l'huile	L'huile d'oléastre (Log)	5,61 f	5,74 e	6,39 b	5,25 i	5,30 h	5,56 g
	l'huile d'oléastre enrichie par le romarin (Log)	7,00 a	7,00 a	7,00 a	5,62 f	5,85 d	6,00 c

N_i = concentration initiale des bactéries dans le tube d'essai (10⁷ Spores / ml),

N_f = concentration finale fongiques (Spores/ml).

7 logs : fongicides.

< 7 log : fongistatique

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

IV.2.3.1. Activité antifongique vis-à-vis de *Candida albicans*

D'après tableau IX, un effet bactériostatique de l'huile d'oléastre a été enregistré pour les trois différents volumes (300, 500 et 700µl) avec un taux de réduction de 5,61, 5,74 et 6,39 Log, respectivement.

L'analyse statistique a révélé des différences significatives (p<0,05) entre les différentes concentrations de l'huiles d'oléastre étudié vis-à-vis de *Candida albicans* (annexe 07).

En comparant à l'huile d'oléastre enrichie au romarin, il a été remarqué, que cet échantillon est plus actif et efficace vis-à-vis de *Candida Albicans* par rapport au l'huile d'oléastre pure. L'augmentation l'activité antimicrobienne a été expliquée par l'enrichissement de l'huile d'oléastre par le romarin qui est une plante médicinale connue par sa richesse en composés phénoliques et les huiles essentielles. Pour l'huile d'oléastre enrichie, on observe un taux de réduction de 7 log pour les trois volumes 300, 500 et 700µl respectivement, donc a montré un effet bactéricide.

IV.2.3.2. Activité antifongique vis-à-vis d'*Aspergillus Niger*

Pour l'huile d'oléastre, un taux de réduction logarithmique de 5,25, 5,30 et 5,56 Log pour les différents volumes qui indique un effet inhibiteur bactériostatique, de même pour l'huile d'oléastre enrichie avec des taux de réduction logarithmique (5,62, 5,85 et 6Log) pour les trois volumes 300, 500 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'oléastre avant et après enrichissement à tous les volumes.

II.2.4. Discussion générale de l'activité antimicrobienne

Divers études *in vitro* ont prouvés les propriétés antibactériennes de l'huile d'Olive (Sumer *et al.*, 2013; Heidari *et al.*, 2016; Laincer *et al.*, 2017; Abdallah *et al.*, 2018; Tamendjari *et al.*, 2018; Gabriel *et al.*, 2019; Fei *et al.*, 2019), ainsi que dans l'huile essentielle du romarin (Boutabia *et al.*, 2016) et les composés phénoliques du romarin (Haida *et al.*, 2013). Dans notre travail, cette activité a été détectée pour les deux échantillons (huile d'oléastre avant et après enrichissement) vis-à-vis les souches testées.

Nombreux chercheurs ont confirmé l'effet antibactérien de l'huile d'olive vis-à-vis les deux souches *E. coli* et *Staphylococcus aureus*. Citant Laincer *et al.*, (2014), qui ont pu prouver que les différents extraits d'huiles d'olive extra vierge de onze variétés d'olives algériennes étaient décelés pour leur activité antibactérienne contre les souches précédemment cités. Pareille pour Djedioui (2018), qui a conclu que l'huile d'olive issue de la région de Skikda, présente une CMI de 10-2 mg/ml contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et de 0,5.10 - 3mg/ml contre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

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 (Rodriguez *et al.*, 2021), les composés volatils (Brahmi et al., 2012).

Romero *et al.*, (2007) ont rapporté que l'extrait phénolique de l'huile d'olive est bactéricide sur *Helicobacter pylori* à 380 µg/ml. L'hydroxytyrosol est hautement toxique sur *Pseudomonas syringae* et *Corynebacterium michiganense*, qui sont des phytopathogènes.

Medina et al., (2013) ont signalé que la présence du tyrosol et de l'hydroxytyrosol dans la structure dialdéhydrique de base (EDA) augmente leur caractère lipophile et leur efficacité antibactérienne qui a été supérieure à celles des désinfectants synthétiques.

Laribi (2015), qui a testé l'effet de l'huile d'olive de onze variétés algériennes sur plusieurs souches bactériennes a démontré que les composés phénoliques présents dans les extraits testés semblent avoir une meilleure activité à l'égard des bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif, ce qui était en accord avec **Rahman et al., (2009)**. Cette différence de l'intensité de l'activité antibactérienne contre les deux types de bactéries a été expliquée par la présence de la bicouche lipidique chez les Gram négatif, qui constitue une barrière pour l'action des polyphénols (**Masibo et He, 2009**).

Plusieurs auteurs ont rapporté que la concentration en polyphénols n'est pas le seul paramètre qui gère le potentiel antimicrobien mais également la nature des composés présents dans les extraits. En effet, les formes dialdéhydriques des décarboxyméthyl oleuropéine et ligstroside aglycone présents dans l'huile d'olive exercent une activité bactéricide (**Laincer, 2017**).

Les travaux de **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 apparaît 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 comparant l'activité des huiles utilisées et la souche cible. Nos huiles testées semblent avoir une meilleure activité à l'égard des Gram positif que sur les Gram négatif. Nos résultats sont en accord avec (**Sait 2012, Tamendjari et al., 2018 ; Laincer et al., 2017**), ces résultats peuvent s'expliquer par la différences dans la constitution de la paroi cellulaire qui a due à une meilleure perméabilité du ou des composé (s) actif(s) chez les Gram positif où le peptidoglycane n'entrave pas l'entrée des molécules à petit poids moléculaire (**Hogan et Kolter, 2002**).

En effet, l'activité antifongique des huiles utilisées se démarque par son efficacité à l'égard de *Candida Albicans* qui est similaire aux résultats obtenue par **Laincer, (2017)**.

L'effet inhibiteur dépend du volume d'huile utilisé, on note une hausse d'activité en passant de 300 à 700 µl vis-à-vis des souches cibles. Plusieurs auteurs ont constaté la relation relative entre l'activité et la concentration de la substance active (**Nychas et al., 1990; Sousa et al., 2006 et Zoric et al., 2016**).

Les résultats obtenus à partir de l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile d'oléastre avant et après enrichissement ont montrés une différence significative entre les taux de réduction logarithmique de ces deux huiles chez les souches cible, cela est dû à l'action synergique des composés d'huile d'olive et du romarin. L'huile essentielle et l'extrait des parties aériennes de romarin exercent une activité antibactérienne et antifongique inhibant la prolifération des bactéries, la croissance mycélienne et la germination des spores. Cette activité est due aux principaux constituants de l'extrait brut : acide carnosique, carnosol et 12-methoxy-transacide carnosique et aux principaux constituants de l'huile essentielle : le 1,8-cineole, le camphre, le bornéol, l' α -pinene et autres constituants (**Goetz, et Ghedira, 2012**).

L'huile essentielle de romarin a démontré un potentiel inhibiteur et bactéricide sur *staphylococcus aureus* et *staphylococcus epidermidis*. Cette activité serait principalement due à la forte concentration en composés monoterpéniques de l'huile (plus de 60%) et en particulier à la présence du 1,8-cinéole (**Jardak et al., 2017**). En outre, les études de **Doukkali et al. (2018)** ont montrés l'efficacité in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite de *Rosmarinus officinalis* L contre le développement d'*Erwinia amylovora* (Burrill) qui est une bactérie de Gram-négative.

D'après **Pandey et al., (2017)** les bactéries à Gram- négatif sont moins sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram-positif. La membrane externe des bactéries à Gram-négative contient des lipopolysaccharides hydrophiles (LPS) qui agissent comme une barrière contre les macromolécules et les composés hydrophobes, offrant ainsi une tolérance accrue aux composés antimicrobiens hydrophobes tels que ceux trouvés dans les huiles essentielles.

Sehari (2018) montre que l'effet antifongique des huiles essentielles de romarin est bien remarqué sur *Aspergillus niger* et *Aspergillus Flavius*.

D'après **Djabi et Khobizi (2018)** et dans le but de l'étude de l'effet de l'extrait aqueux et éthanolique de romarin sur la croissance des champignons phytopathogènes, l'extrait aqueux utilisé a montré un bon effet inhibiteur de croissance sur le *Penicillim sp* (taux d'inhibition entre 2 et 40%), sur *Aspergillus Flavius* (taux d'inhibition entre 2 et 23%) et un

faible effet sur *Aspergillus niger* (taux d'inhibition entre 6 et 11%). Cependant son effet est nul sur les deux espèces *Fusarium verticillioide* et *Fusarium sp.*

Dans le cadre de lutte contre *Candida Albicans*, plusieurs études ont été réalisés parmi celle-ci nous citons celle qui a pour objectif de tester l'activité antifongique des huiles essentielles sur *Candida*. **Bozin et al., (2007)** qui indique un effet antifongique significatif de l'huile essentielle de romarin contre *Candida Albicans*.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion

L'intérêt de l'huile d'oléastre est mal élucidé, trop peu de gens peuvent prétendre savoir que l'oléastre donne une huile appréciée notamment en pharmacologie. Cette huile très rare se vend en Kabylie.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à caractériser un échantillon d'huile d'oléastre de la région de Khelil (Béjaia) et son enrichissement par une plante médicinale le romarin. Depuis son existence, l'huile d'oléastre a fait ses preuves d'efficacité contre plusieurs maladies. C'est dans ce contexte que nous avons visé notre objectif sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile d'oléastre et l'huile d'oléastre enrichie. L'étude a été basée sur la détermination des indices de qualité de l'huile, le dosage des pigments ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne, vis-à-vis de sept souches microbiennes.

Dans nos expérience, il ressort que les résultats obtenus des paramètres de qualité (acidité libre, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV) permet de classé notre l'huile dans catégorie des huiles extra-vierge établis par les normes **COI 2019**.

Le dosage des pigments a relevé un taux faibles en chlorophylle et en caroténoïdes, avec un rapport chlorophylle/caroténoïdes inférieur à l'unité, ce qui indique que la couleur de notre échantillon d'huile d'oléastre est de couleur jaune.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des échantillons d'huile d'oléastre indique que l'activité dépend de l'huile, le volume d'huile ainsi que la souche cible.

A propos de l'activité antimicrobienne, on conclut que notre échantillon d'huile d'oléastre a une action antimicrobienne sur les souches testées (*Escherichia coli*, *SARM*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aspergillus niger*, *Candida Albicans*), cette action dépend du volume de l'huile utilisé. Par contre nous avons observé une augmentation de l'activité antimicrobienne jusqu'à l'obtention d'un effet bactéricide sur quelques souches de l'huile d'oléastre enrichie par une plante médicinale « *Rosmarinus officinalis* » ce qui signifie la présence d'une synergie entre leurs composants.

L'effort de valorisation de cette huile doit être poursuivi car il peut, par ses retombés positifs, participer de façon déterminante au développement du secteur oléicole. Pour cela différents axes de recherche peuvent être soulevés :

- Elargir l'échantillonnage sur d'autres oléastres et dans d'autres régions ;
- Etudier l'activité antimicrobienne des extraits ainsi que les principaux composés phénoliques individuels à l'égard d'autres souches ;
- Déterminer la composition biochimique de l'échantillon d'huile ;
- 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 ;
- Déterminer les composés responsables de l'excès d'amertume et chercher des stratégies visant à diminuer ou masquer cette amertume ;
- Faire exploiter cette huile dans les différents domaines tel que : domaine 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.
- ✓ **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.
- ✓ **Alcantara, J.M. and Rey, P.J.** (2003). Conflicting selection pressures on seed size: evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16: 1168-1176.
- ✓ **Anton, R. et Lobstein, A.** (2005). *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huiles essentielles*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 522p.
- ✓ **Athamena, S.** (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. mémoire de magistère. Université d'El hadj Lakhdar de Batna.

B

- ✓ **Baccouri, B. Ben Tamime, S. Taamalli, W. Daoud D. M'Sallem, M. and Zarrouk, M.** (2007a). Analytical characteristics of virgin olive oils from two new varieties obtained by controlled crossing on Meski variety. *Journal of food lipids*, 14:19-34.
- ✓ **Baccouri, B. Zarrouk, W. Baccouri, O. Guerfel, M. Nouairi, I. Krichene, D. Daoud D. and Zarrouk, M.** (2008). Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olive (*Olea europaea L. subsp. Oleaster*).GRASAS Y.
- ✓ **Barone, E. Gullo, G. Zappia, R. and Inglese, P.** (1994). Effect of crop load on fruit ripening and olive oil quality. *Journal of Horticultural Science*, 69 (1) : 67-73.
- ✓ **Baydar, H. Sağdic, O. Ozkan, G. Karadoğan, 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.

- ✓ **Bellakhdar, J.** (2006). Plantes médicinales au Maghreb et soins de base : précis de phytothérapie moderne. Le Fennec, 2ème éd, Casablanca, 385p.
- ✓ **Ben Takaya, I. and Hassouna, M.** (2005). Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. Oléagineux Corps Gras Lipides ,12 (5-6) : 447-456.
- ✓ **Bendi Djelloul, M. et Belkherroubi, L.** (2022). Contrôle de qualité et de conformité d'étiquetage de quelques huiles d'olive commercialisées à Tlemcen. 1 Département d'Agronomie, 2 Laboratoire d'écologie et de gestion des écosystèmes naturels, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen Algérie, Volume : 09 / N° : 02 (2022), p 96-115.
- ✓ **Benosman et Mamchaoui.** (2005). Contribution au contrôle de qualité physicochimique d'échantillons d'huiles d'olives. Mém. Ing. Bio. Université de Tlemcen, p103.
- ✓ **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).
- ✓ **Bensebia, O. Barth, D. Bensebia, B. Dahmani, A.** (2009). Supercritical CO2 extraction of rosemary: Effect of extraction parameters and modeling. Journal of Supercritical Fluids, 2(49), 161–166.
- ✓ **Benyahia, N. and Zein, K.** (2003). Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solution récemment développées. Contribution Spécial De Sustainable Business Associates(Suisse) à AESECII, p : 1-3.
- ✓ **Besnard, G. and Bervillé, A.** (2000). Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea Europaea* L. Subsp *europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. CR. Acad. Sci. Paris série III 323 :173–181.
- ✓ **Bolmont, R. Buessler, L. et Jaubert, J. P.** (1998). L'olivier. BT1075. 19p.
- ✓ **Borges, T. H. Pereira, J. A. Cabrera-Vique, C. Lara, L. Oliveira, A. F. & Seiquer, I.** (2017). Characterization of Arbequinavirgin 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.** (1996) .Olive Oil; Chemistry and Technology. American Oil Chemist's Society .Press champaign, IL, USA, pp .52-83.
- ✓ **Boskou, D.** (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science & Technology, 17: 505-512.

- ✓ **Boskou, D.** (2009). Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil in Olive oil: minor constituents and Health. Ed. CRC press. pp 11-44.
- ✓ **Boskou, D.** (2000). Olive Oil. In World Reviews of Nutrition and Dietetics, A.P. Simopoulos, and F. Visioli, eds. (Basel: KARGER), pp. 55-77.
- ✓ **Boskou, D.** (2015). Olive Oil. In Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition, (Elsevier), pp.3-38.
- ✓ **Boualem, B.** (2009). Bejaïa : L'olivier sauvage délaissé. Revue de presse, J. El Watan. 20/07/2009.
- ✓ **Bousbia, N.** (2011). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- ✓ **Boutabia, L. Telailia, S. Bouguetof1, I. Guenadil1, F. et Chefrou, A.** (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie), Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85:174 – 189.
- ✓ **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, 19(55), 7879-7885.
- ✓ **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, 19(55), 7879-7885.
- ✓ **Bradley, P.** (2006). British herbal compendium: à handbook of scientific information on widely used plant drugs, companion to the British herbal pharmacopoeia. British Herbal Medicine Association (BHMA), Bournemouth, United Kingdom.
- ✓ **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.
- ✓ **Brenes, M. Medina, E. Romero, C. & De Castro, A.** (2007). Antimicrobial activity of olive oil. Agro Food Industry Hi Tech, 18: 6-8.

- ✓ **Breton, C. Médail, F. Pinatel, C. Bervillé, A.** (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers Agricultures, 15 (4) : 1-8.
- ✓ **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier, 3: 123-166.

C

- ✓ **Carrion, Y. Tinou, M. et Badal, E.** (2010). *Olea europaea* L. in North Mediterranean a Basin during the pleniglacial and the Early-Middle Holecene. Quaternary Science Reviews. pp: 29:952-968.
- ✓ **Cerretani, L. Motilva, M.-J. Romero, M.-P. Bendini, A. & Lercker, G.** (2008). Pigment profile and chromatic parameters of mono varietal virgin olive oils from different Italian cultivars. European Food Research and Technology, 226:1251- 1258.
- ✓ **Chebaibi, A. Marouf, Z. Rhazi-Filali, F. Fahim, M. Ed-Dra, A.** (2015). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc, p : 1.
- ✓ **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 médecine, 22(1), 346-353.
- ✓ **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.
- ✓ **Codex Alimentarius.** (1998). Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).
- ✓ **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.
- ✓ **Conseil Oléicole International.** (1996). Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet. Conseil Oléicole International/T20/ Doc 19 6 juin 1996, Madrid. Espagne.
- ✓ **Conseil Oléicole International.** (2016). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. N°3/ Rév. 8-Février 2015. Newsletter Marché Oléicole N°105- Mai 2016.
- ✓ **Conseil Oléicole International (COI).** (2017a) .Determination of free fatty acids, cold method.

- ✓ **Conseil Oléicole International (COI).** (2017b). 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.
- ✓ **Cowan, M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4) : 564-582.
- ✓ **Criado, M. N. Morello, J. Motilva, R.** (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.
- ✓ **Cronquist, A.** (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, USA. p : 1262.

D

- ✓ **Dabbou, S. Dabboua, S. Selvaggini, R. Urbanib, S. Taticchib, A. Servili, M. and Hammami, M.** (2011). Comparison of the Chemical Composition and the Organoleptic Profile of Virgin Olive Oil from Two Wild and Two Cultivated Tunisian *Olea europaea*. *Chemistry & biodiversity*, 8: 189-202.
- ✓ **Desbois, A. P. & Smith, V. J.** (2010). Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *App Microbial Biotechnology*, 85: 1629-42.
- ✓ **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.
- ✓ **Djabi, A. et Khobizi, B.** (2018). Etude de l'effet des extraits aqueux et éthanolique de Romarin sur la croissance de quelques champignons phytopathogènes. Mémoire de fin d'étude en Protection des Végétaux. Univ de Bouira. p 48-49.
- ✓ **Djadoun, S.** (2011). Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignons d'olive assistée par micro-ondes. Mémoire de magister. Université Mouloud Maamari Tizi Ouazou.
- ✓ **Djedioui, A.** (2018). Caractérisation d'une huile d'olive vierge algérienne d'une variété cultivée dans la région de Skikda. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba.

- ✓ **Doukkali, L. Tahiri, A. Tazi, B. et Guenoun, F.** (2018). Chemical Composition and Antibacterial Activity of two Essential Oils of rosemary Against *Erwinia amylovora* the causal agent fire blight. *Journal of Materials and Environmental Sciences*. Vol 5, n°10. P 2913-2918.
- ✓ **Ducros, A. H.** (1930). *Essais sur le droguier populaire arabe de l'inspectorat des pharmacies du Caire*, Institut Français d'Archéologie Orientale, 166p.
- ✓ **Durand, A. and Terral, J-F.** (2005). Regarder autrement le charbon de bois archéologique : l'exemple de l'irrigation des plantations d'oliviers en France méridionale et en Catalogne (IXe-XVe siècle). "Archéologie du Midi Médiéval 23-24 ; 75-92.

E

- ✓ **El Amri, J. El Badaoui, K. Zair, T. Bouharb, T. Chakir, S. and Alaoui, T.M.** (2014). Ethnobotanical study of medicinal plants in the region El Hajeb (central Morocco). *Journal of Research in Biology*, 4(8): 1568– 1580.
- ✓ **El Mouden, H. El Idrissi, Y. El Guezzane, C. Belmaghraoui, W. El Yadini, A. Harhar, H. and Tabyaoui, M.** (2014). Tradition Mills' Picholine Olive Oil Physicochemical Characterization and Chemical Profiling across Different Cities in Morocco. *The Scientific World Journal*, 2020: 1-9.
- ✓ **EL Rhaffari, L.** (2008). *Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes*, l'Organisation Non Gouvernementale Italienne : movimondo, Maroc, 14 p.
- ✓ **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

- ✓ **Faucon, M.** (2012). *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements et aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques*, Sang de la Terre, Paris, 880p.
- ✓ **Fei, P. Xu, Y. Zhao, S. Gong, S. & Guo, L.** (2019). Olive oil polyphenol extract inhibits vegetative cells of *Bacillus cereus* isolated from raw milk. *Journal of dairy science*, 102(5), 3894-3902.
- ✓ **Fendri, M. Mhamdi, S. Jendoubi, F. and Ajmi, L.** (2021). Non-Invasive Rapid Method to Evaluate Tunisian Virgin Olive Oil Based on color Measurement by Digital

Images and Chlorophyll-Carotenoids Content. *Asian Food Science Journal* 20(4): 121-130.

- ✓ **Friedman, M. Henika, P.R. and Mandrell, R.E.** (2003). Antibacterial activities of phenolic benzaldehydes and benzoic acids against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enteric*. *Journal of Food Protection*, 66(10) : 1811- 1821.
- ✓ **Frouhat et Lahcini, B.** (2013). Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (Doctoral dissertation).

G

- ✓ **Gabriel, P. O. Aribisala, J. O. Oladunmoye, M. K. Arogunjo, A. O. & Ajayi-Moses, O. B.** (2019). Therapeutic Effect of Goya Extra Virgin Olive Oil in Albino Rat Orogastrically Dosed with *Salmonella typhi*. *South Asian Journal of Research in Microbiology*, 1-9.
- ✓ **Ghedira, K.** (2008). L'olivier. *Phytothérapie*. 6 ; 83-89.
- ✓ **Girard, G.** (2010). Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d'hier à aujourd'hui. Mise au point d'un modèle préclinique de lésion buccale de type aphte pour tester les effets thérapeutiques des huiles essentielles. Thèse. Université Henri Poincaré – Nancy. France
- ✓ **Goetz, P. & Ghedira, K.** (2012). Introduction à la phytothérapie anti-infectieuse. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 3-14). Springer, Paris.
- ✓ **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.
- ✓ **Gulfraz, M. Parveen, R. Musseddque, Y. Nisar, U. Ithisham, M. and Rehman, S.** (2006). Determination of Essential Oil Content of Wild Olive and Its Comparison with Olive Oil. *Ethnobotanical Leaflets*, 10: 1-12.

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.

- ✓ **Haida, S. Kribi, A. Habsaoui, A. Ounine, K. Kribi, A.** (2013). Evaluation du pouvoir antioxydant et antibactériens des extraits du romarin. 3e JJC 2014 « Innovation Thérapeutique : du Fondamental à l'Appliqué ».
- ✓ **Hannachi, H. Nasri, N. Elfalleh, W. Tlili, N. Ferchichi, A. and Msallem, M.** (2012). Fatty Acids, Sterols, Polyphenols and Chlorophylls of Olive Oils Obtained from Tunisian Wild Olive Trees (*Olea Europaea* L. Var. *Sylvertis*). *International Journal of Food Properties*. 37-41.
- ✓ **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.
- ✓ **Heidari-Soureshjani, R. Obeidavi, Z. Reisi-Vanani, V. Ebrahimi Dehkordi, S. Fattahian, N. & Gholipour, A.** (2016). Evaluation of antibacterial effect of sesame oil, olive oil and their synergism on *Staphylococcus aureus* in vitro. *Advanced Herbal Medicine*, 2(3).
- ✓ **Hogan, D. Kolter, R.** (2002). Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Current Opinion in Microbiology*, 5(5), 472–477.

I

- ✓ **Issaoui, M. Dabbou, S. Echbili, A. Rjiba, I. Gazzah, N. Trigui, A. and Hammami, M.** (2007). Biochemical characterisation of some Tunisian virgin olive oils obtained from different cultivars growing in Sfax National Collection. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5 (1) : 17-21

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.
- ✓ **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

- ✓ **Kalander, Y. Kayaa, S. Durakb, D., Uzuma, F.G. Demira, F.** (2012). Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, **33**:141-148.
- ✓ **Kiritsakis, A. and Markakis, P.** (1998). Olive Oil: A Reviews. In advances in Food Research, (Elsevier), pp. 453-482.
- ✓ **Koutsaftakis, A. and Stefanoudaki, E.** (1995). L'extraction de l'huile d'olive par un décanteur à deux phases : résultats obtenus. *Olivae*, **56** : 44-47.

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. Arrar, L. Rovellini, P. &Venturini, S.** (2014). Olive oils from Algeria : Phenolic compound, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y Aceites*, **65** (1), 001.
- ✓ **Laribi, R.** (2015). Les composés phénoliques de quelques variétés de l'huile d'olive algérienne : identification et propriétés. Thèse de doctorat, Université de Bejaia.
- ✓ **Leger, C.L.** (2003). L'huile d'olive : sa place dans l'alimentation humaine. In : Lipides et corps gras alimentaires. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp.81-101.
- ✓ **Leplate, M.** (2017). Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de doctorat, la faculté de pharmacie de Marseille.
- ✓ **Lumaret, R. Ouazzane, N. Michuad, H. Vivier, G. Deguilloux M-F. And Di Giusto, F.** (2004). Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean basin. *Heredity*, **92**: 343-351.

M

- ✓ **Maestro, R. & Borjas, R.** (1990). La calidad del aceite de oliva en relacion con la composicion y maduracion de la aceituna. *Grasas aceites Journal*, **41** :171-178.
- ✓ **Malheiro, R. Casal, S. Teixeira, H. Bento, A. and Pereira, J. A.** (2013). Effect of Olive Leaves Addition during the Extraction Process of Overmature Fruits on Olive Oil Quality. *Food Bioprocess Technology*, **6**:509–521

- ✓ **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.
- ✓ **Mebarki, N.** (2010). Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse - antimicrobienne. Thèse doctorat. Université M'hamed Bougara.
- ✓ **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.
- ✓ **Metzidakis, I. Gerasopoulos, D. and Kiritsakis, K.** (1995). Effet de la durée du séjour des olives dans les filets sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*, 56 : 40-43.
- ✓ **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.
- ✓ **Mokhtari, A. Brahimi, 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.
- ✓ **Moñino, I. Martinez, C. 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.

- ✓ **Mulas, M. and Deidda, P.** (1998). Domestication of woody plants from Mediterranean maquis to promote crops for mountain lands. *Acta Horticulturae* 457: 295–301.

N

- ✓ **Nychas, G. J. E. Tassou, S. C. & Board, R. G.** (1990). Phenolic extract from olive: inhibition of *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, 10, 217-220.

O

- ✓ **Ojaghian, M. R. Chen, Y. Chen, S. Cui, Z. Xie, G. L. Zhang, J.** (2014). Antifungal and enzymatic evaluation of plant crude extracts derived from cinnamon and rosemary against *Sclerotinia carrot rot*. *Annals of Applied Biology*, 3(164), 415-429.
- ✓ **Ollivier, D. Boubault, E. Pinatel, C. Souillol, S. Guérère, M. and Artaud, J.** (2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique (2ème Semestre)*, 965:169-196.
- ✓ **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).

P

- ✓ **Pandey, A-K. Kumar, P. Singh, P. Tripathi, N-N. ET Bajpai, V-K.** (2017). Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in microbiology*. Vol 7. p 2161.
- ✓ **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.

R

- ✓ **Rameau, J. Mansion, D. Dumé, G.** (2008). Flore forestière française : Région méditerranéenne.
- ✓ **Rahman, A. Kim, E. L. & Kang, S. C.** (2009). Antibacterial and antioxidant properties of *Ailanthus altissima Swingle* leave extract to reduce food borne pathogens and spoiling bacteria. *Journal of food safety*, 29 (4), 499-510.
- ✓ **Rasooli, I. Fakoor, M. H. Yadegarinia, D. Gachkar, L. Allameh, A. Rezaei, M. B.** (2008). Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and

Trachyspermum copticum L. essential oils. International Journal of Food Microbiology, 1-2(122), 135-139.

- ✓ **Rios-Evans, C. Miller, N. Paganga, G.C.** (1997). Antioxidant properties of phenolic compound. *Trend in Plant Sciences* 2 (4):152-159.
- ✓ **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). Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 139(2), 519-526.
- ✓ **Rodriguez, O. J. Cell, P. S. Lima, D. G. Da Silva, W. M. C. T. De Tarso, P. V. R. Maria, A. M.** (2015). Evaluation of in vitro anti-inflammatory effects of crude ginger and rosemary extracts obtained through supercritical CO₂ extraction on macrophage and tumor cell line: the influence of vehicle type. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1(15).
- ✓ **Rodrígueza, I. R. Illescas-Montesa, V. Javier Costela-Ruiza, J. Ramos-Torrecillasa. Elvira de Luna-Bertosa, O. García-Martínez. Concepción Ruiza.** (2021). Antimicrobial properties of olive oil phenolic compound and their regenerative capacity towards fibroblast cells. *Journal of Tissue Viability*
- ✓ **Romero, C. Medina, E. Vargas, J. Brenes, M. and De Castro, A.** (2007). In vitro activity of olive polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (3): 680-686.

S

- ✓ **Sait, S.** (2012). Activités antioxydante et antibactérienne des huiles d'oléastres (*Olea europaea* var. *oleaster*) de la région de Béjaia.
- ✓ **Sehari, N-H.** (2018). Etude de l'effet de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* et de la *Mentha pulegium* dans la lutte biologique contre les parasites des denrées stockées. Thèse de Doctorat en Biodiversité Végétale. Univ de Djilali Liabes de Sidi Bel Abbas. p 71-72.
- ✓ **Shokri, A. Saedi, M. Fakhar, M. Morteza-Semnani, K. Keighobadi, M. Teshnizi, S. H. & Sadjadi, S.** (2017). Antileishmanial 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.
- ✓ **Sousa, A. Ferreira, I. C. Calhelha, R. Andrade, P. B. Valentao, P. Seabra, R. Estevinho, L. Bento, A. & Pereira, J. A.** (2006). Phenolics and antimicrobial activity

of Traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 8533-8.

- ✓ **Staub, H. & Bayer, L.** (2013). *Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues*. Grancher.
- ✓ **Sumer, Z. Yildirim, G. Sumer, H. & Yildirim, S.** (2013). Cytotoxic and antibacterial activity of the mixture of olive oil and lime cream *in vitro* conditions. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10 (4): 137-143.

T

- ✓ **Tamendjari, A. Sait, S. Lancer, F. Rovellini, P. & Venturini, S.** (2018). Quality, antioxidant and antibacterial activity of olive oil from wild olive (Oleasters). *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 95(3) :195-203
- ✓ **Tanouti, K. Serghini-Cald, H. & Chaleb, E.** (2011). Amélioration qualitative d'huile d'olive produites dans le Maroc oriental. *Les technologies de laboratoire*, 6 :22.
- ✓ **Tavassoli, S. K. Mousavi, S. M. Emam-Djomeh, Z. and Razavi, S. H.** (2011). Chemical composition and evaluation of antimicrobial properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. *African Journal of Biotechnology*. 10(63):13895-13899.

U

- ✓ **Uzzan, A.** (1994). *Huile D'olive .IN : Manuel De Corps Gras*. Lavoisier, Ed .Technique Et Documents, Pp.763-766.

Z

- ✓ **Zarrouk, M. Marzouk, B. Ben Miled, D. and Cherif, A.** (1996). Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. *Olivae*, 61 :41-45.
- ✓ **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.
- ✓ **Zoric, N. Kopjar, N. Kraljic, K. Orsolc, N. Tomic, S. & Kosalec, I.** (2016). Olive leaf extract activity against *Candida Albicans* and *C. dubliniensis* - the *in vitro* viability study. *Acta Pharmaceutica*, 66, 411-21.
- ✓ **Zoubeidi, C.** (2004). Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis*. labiatea (Doctoral dissertation, Ouargla, Université Kasdi Merbah. Faculté des Sciences et Sciences de L'ingénieur).

Annexes

Annexes

Annexe 01

Tableau I : 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 ₂ /Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité
Extinction spécifique (UV) K ₂₃₂ K ₂₇₀	≤ 2,5 ≤ 0,22	≤ 2,6 ≤ 0,25	≤ 0,3	/ /

Annexe 02

Tableau II : Matériels et réactifs de l'indice d'acidité

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

Annexe 03

Tableau III : Matériel et réactifs de l'indice de peroxyde

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Balance analytique • Burette graduée • Ballon de 250ml • Agitateur magnétique • Pipette 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillé • Chloroforme • Acide acétique • Empois d'amidon • Solution aqueuse saturée d'iodure de potassium • Solution aqueuse de thiosulfate de sodium (Na₂ S₂ O₃) 0.01N

Annexe 04

Tableau IV : Matériel et réactifs de l'extinction de l'UV et les pigments

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

Annexe 05

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.

Annexe 06

Composition des milieux de cultures pour un litre de l'eau distillée

- **Milieu GN (gélose agar)**

Tryptone.....5g
Extrait de viande1g
Extrait de levure2g
Chlorure de sodium.....5g
Agar agar bactériologique12g

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

Peptone de viande ou de gélatine5g
Extrait de levure.....2.5g
Glucose.....1g pH : 7
Agar-agar.....15g

- Milieu Sabouraud

- Peptone de viande.....5g
- Peptone de caséine.....5g
- Glucose.....20g
- Agar20g
- PH...5-5.

Annexe 07

Résultats d'études statistique

Sans titre - Ajuster Y en fonction de X de Colonne 2 par Colonne 1

Page 19 de 51

ANOVA à un facteur de Colonne 2 en fonction de Colonne 1

Comparaisons de moyennes

Comparaisons pour toutes les paires en utilisant le HSD de Tukey-Kramer

Matrice des seuils des différences les moins significatives

Abs(Dif)-HSD

E.coli huile enrichie700 ul staph huile enrichie 300 ul staph huile enrichie 50

Les valeurs positives montrent des paires de moyennes qui sont significativement différentes.

Rapport de connexion de lettres

Niveau		Moyenne
E.coli huile enrichie700 ul	A	7,000000
staph huile enrichie 300 ul	A	7,000000
staph huile enrichie 500 ul	A	7,000000
staph huile enrichie 700 ul	A	7,000000
staph huile 700 ul	A	7,000000
staph huile enrichie 300 ul	A	7,000000
bacillus cereus huile enrichie 700 ul	A	7,000000
bacillus cereus huile enrichie700 ul	A	7,000000
bacillus subtilis huile 700 ul	A	7,000000
bacillus subtilis huile enrichie 300 ul	A	7,000000
bacillus subtilis huile enrichie 500 ul	A	7,000000
staph huile enrichie 500 ul	A	7,000000
bacillus subtilis huile enrichie700 ul	A	7,000000
E.coli huile enrichie 300 ul	A	7,000000
E.coli huile 500 ul	A	7,000000
E.coli huile 700 ul	A	7,000000
E.coli huile enrichie 500 ul	A	7,000000
staph huile enrichie 700 ul	A	7,000000
K Pneumoniae huile enrichie700 ul	A	7,000000
bacillus cereus huile 700 ul	B	6,520000
K Pneumoniae huile enrichie 500 ul	C	6,300000
bacillus cereus huile enrichie 500 ul	D	5,880000
bacillus subtilis huile 500 ul	D	5,880000
K Pneumoniae huile 700 ul	E	5,720000
bacillus cereus huile enrichie 300 ul	F	5,520000
bacillus subtilis huile 300 ul	F	5,520000
staph huile 500 ul	G	5,300000
K Pneumoniae huile 500 ul	H	5,200000
bacillus cereus huile 500 ul	I	5,060000
staph huile 300 ul	J	4,740000
K Pneumoniae huile enrichie 300 ul	K	4,700000
bacillus cereus huile 300 ul	L	4,670000
K Pneumoniae huile 300 ul	M	4,580000
E.coli huile 300 ul	N	4,430000

Les niveaux non connectés par la même lettre sont largement différents.

Annexe 07

Niveau										Moyenne
C albicans huile enrichie 300 ul	A									7,0000000
C albicans huile enrichie 500 ul	A									7,0000000
C albicans huile enrichie700 ul	A									7,0000000
C albicans huile 700 ul		B								6,3900000
A. niger huile enrichie700 ul			C							6,0000000
A. niger huile enrichie 500 ul				D						5,8500000
A. niger huile enrichie 500 ul				D						5,8500000
C albicans huile 500 ul					E					5,7400000
A. niger huile enrichie 300 ul						F				5,6200000
A. niger huile enrichie 300 ul						F				5,6200000
C albicans huile 300 ul						F				5,6100000
A. niger huile 700 ul							G			5,5600000
A. niger huile 500 ul								H		5,3100000
A. niger huile 500 ul								H		5,2950000
A. niger huile 300 ul									I	5,2500000
A. niger huile 300 ul									I	5,2500000
A. niger huile 300 ul									I	5,2500000

Résumé

Cette étude a été faite en deux parties, la première consiste à déterminer la qualité de l'huile d'oléastre de la région Khelil de la wilaya de Béjaia. Des tests physico-chimiques ont été réalisés sur cette huile d'oléastre pure ainsi que l'huile enrichie par le romarin comprenant : l'acidité libre, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV (K232, K270) et un dosage de pigments. D'après les normes de COI 2019 et les résultats obtenus ; des indices nous ont permis de classer l'huile dans la catégorie « extra-vierge ». Le taux en pigments de cette huile est faible et elle présente un rapport chlorophylle/caroténoïdes inférieur à l'unité. La seconde partie de cette étude concerne la détermination de l'activité antimicrobienne in vitro de cette huile et le potentiel synergique de cette dernière enrichie par la plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*). Les résultats obtenus montrent une amélioration d'activité après enrichissement vis-à-vis des souches testés, une activité avec un effet bactéricide a été remarqué à l'égard de : *Escherichia coli*, *SARM*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*.

Mots-clés : huile d'oléastre, *Rosmarinus officinalis*, paramètres de qualité, enrichissement, activité antimicrobienne.

Abstract

This study was made in two parts, the first consists in determining the quality of oleaster oil from the Khelil region of city Bejaia. Physico-chemical tests were carried out on the pure oleaster oil as well as the oil enriched with rosemary comprising: free acidity, peroxide index, UV absorbance (K232, K270) and determination pigments. According to COI2019 standards and the results obtained; clues allowed us to classify the oil in the "extra-virgin" category. The pigment content of this oil was low and it has a chlorophyll/carotenoid ratio of less than one. The second part of this study concerns the determination of the in vitro antimicrobial activity of this oil and the synergistic potential of the latter enriched by the medicinal plant (*Rosmarinus officinalis*). The results obtained show an improvement in activity after enrichment with respect to the strains tested, an activity with a bactericidal effect was noticed with regard to: *Escherichia coli*, *SARM*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*.

Key words: oleaster oil, *Rosmarinus officinalis*, quality parameter, enrichment, antimicrobial activity.

المخلص

تتكون هذه الدراسة من جزئيين، الأول يتمثل في تحديد نوعية زيت الزيتون من منطقة خليل بولاية بجاية، وقد أجريت الاختبارات الفيزيائية والكيميائية على زيت الزيتون النقي وكذلك الزيت المخصب بإكليل الجبل والذي يحتوي على: الحموضة الحرة، مؤشر البيروكسيد، امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (K232, K270) وجرعة من الأصباغ. وفقاً لمعايير COI 2019 سمحت لنا النتائج التي تم الحصول عليها من المؤشرات بتصنيف الزيت في فئة "البكر الممتاز". محتوى الصبغة لهذا الزيت منخفض ويحتوي على نسبة كلوروفيل / كاروتينويد أقل من واحد. يتعلق الجزء الثاني من هذه الدراسة بتحديد النشاط المضاد للميكروبات في المختبر لهذا الزيت والإمكانات التأزيرية لهذا الزيت المخصب بالنبات الطبي (*Rosmarinus officinalis*). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تحسناً في النشاط بعد التخصيب فيما يتعلق بالسلالات المختبرة، ولوحظ نشاط له تأثير مبيد للجراثيم فيما يتعلق بـ: *Bacillus subtilis*, *Candida Albicans*.

الكلمات المفتاحية: زيت الزيتون، إكليل الجبل، معامل الجودة، الإثراء، نشاط مضاد للميكروبات.