



République Algérienne Démocratique et populaire



Ministère de l'Éducation Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Alimentaires

Option : Biochimie de la Nutrition

Thème

Evaluation de quelques activités biologiques d'extraits de sous-produits oléicoles et de *Carthamus caeruleus* L en vue de leur application sur une matrice alimentaire.

Présenté par :

M^{elle} DENGAR Dihia

M^{elle} DJEBBAR Melissa

Devant le jury composé de :

Président : M^r TITOUCHE Y.

MCA à l'UMMTO.

Promotrice : M^{elle} DERMECHE S.

MCB à l'UMMTO.

Examinatrice : M^{me} AFIF CHAOUCHE T.

MCA à l'UMMTO.

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

En premier lieu, nous remercions LE BON DIEU le Tout Puissant de nous avoir accordé la volonté, la santé et le courage durant ces années d'études.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à **M^{elle} DERMECHE Samia**, pour nous avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique ; sa disponibilité, ses conseils, ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.

Nous tenons également à adresser nos plus sincères remerciements aux membres du jury :

M^r TITOUCHE Y
M^{me} AFIF CHAUCHE T

Nous assurons notre profonde gratitude à **M^r TITOUCHE Yacine** nous vous remercions énormément pour toutes vos aides, pour vos remarques judicieuses, pour votre gentillesse et serviabilité.





Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient montrer la gratitude, la reconnaissance, le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toute les personnes a qui je dédie ce travail :

À mes très chers parents **RACHID** et **NADIA** qui m'ont tout donné sans rien en retour, Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la source de tendresse, le symbole de la bonté par excellence, la lumière qui illumine mon chemin, sans vos encouragements, vos sacrifices, vos prières, vos efforts que vous avez déployés durant le long chemin de mes études et de toute ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, J'implore Dieu le tout puissant, de vous accorder une bonne santé, beaucoup de bonheur, une longue vie et vous bénisse pour moi. Je vous aime énormément. J'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

À mes très chers frères **LOUNES** et **SOFIANE**, Je vous exprime à travers ce travail mes Sentiments de fraternité et d'amour. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite.

À **Mes grands parents** que dieu vous accorde une bonne santé et une longue vie

À **MELISSA** chère amie avant d'être binôme pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet ainsi que sa famille.

À mes meilleures amies **CHAHRAZED**, **AMEL**, **MOUNA**, **IMANE** en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.

À toutes les personnes qui m'aiment et que j'aime

Dihia



Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents **RACHID** et **FERROUDJA**, pour leur patience, leur amours, leur sacrifices, leur tendresses et soutien durant mes études, que dieu vous procure bonne santé et longue vie.

A mon binôme **DIHIA** et sa famille.

A mes amies **CHAHRAZED**, **AMEL**, **IMANE** et **MOUNA**
et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis
merci.

Melissa

Résumé

De nos jours, la recherche de nouvelles techniques basées sur l'utilisation des composées naturelles pour la conservation des aliments, afin de protéger la santé du consommateur suscite beaucoup d'intérêt. Dans ce contexte plusieurs recherches se sont focalisées sur l'exploitation de la biomasse végétale.

En effet la richesse des plantes en molécules bioactives d'origine naturelle les rend un potentiel réservoir de composés phénoliques, c'est le cas des sous-produits agricoles qui constituent une source précieuse de bio-phénols naturels.

L'objectif du présent travail est d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits organiques d'une plante médicinale *Carthamus caeruleus* L et de margines brutes (M-A) ou acidifiée (M-A-A), récoltées en kabylie, en vue d'une application sur une matrice alimentaire.

Les meilleurs pouvoirs anti-radicalaires sont enregistrés pour les extraits de margines (M-A-A : 91,99% ; M-A : 93,78%) comparativement à ceux de *Carthamus caeruleus* L (C-ETH : 61.07% ; C-A-A : 32.28%). Les extraits ont également montré des activités antibactériennes intéressantes, plus particulièrement l'extrait M-A-A, avec une zone d'inhibition de $16 \pm 1,41$ mm contre *Bacillus licheniformis*. Dans un autre volet, l'incorporation des extraits dans la préparation d'un film alimentaire construit à base d'un biopolymère a montré des résultats satisfaisants lors des essais de conservation d'échantillons de viande vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Les résultats obtenus pour l'ensemble des essais menés à travers cette expérimentation sont prometteurs et méritent d'être approfondis.

Mots clés: Margines ; Extrait ; Antimicrobien ; Antioxydante ; Film ; Viande ; Conservation.

Abstract

Nowadays, the search for new techniques based on the use of natural compounds for the preservation of food, in order to protect the health of the consumer is of great interest. In this context, several researches are focused on the exploitation of the plant biomass.

Indeed, the richness of plants in bioactive molecules of natural origin makes them a potential reservoir of phenolic compounds; it is the case of agricultural by-products which constitute a valuable source of natural bio-phenols.

The objective of the present work is to evaluate the antioxidant and antibacterial activity of organic extracts of a medicinal plant *Carthamus caeruleus* L and of raw (M-A) or acidified (M-A-A) OMW, harvested in kabylie, for application on a food matrix.

The best antiradical powers are recorded for the extracts of OMW (M-A-A: 91.99%; M-A: 93.78%) compared to those of *Carthamus caeruleus* L (C-ETH: 61.07%; C-A-A: 32.28%). The extracts also showed interesting antibacterial activities, especially the M-A-A extract, with an inhibition zone of 16 ± 1.41 mm against *Bacillus licheniformis*. In another aspect, the incorporation of the extracts in the preparation of a food film based on a biopolymer showed satisfactory results during the conservation tests of meat samples against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The results obtained for all the tests carried out through this experimentation are promising and deserve to be deepened.

Key words: Olive Mill Wastewater; Extract; Antimicrobial; Antioxidant; Film; Meat; Conservation.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

Table de matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Première Partie : Synthèse bibliographique

I. Métabolites secondaires

I.1. Généralités 3

I.2. Composés phénoliques 3

I.2.1. Généralités, structures et classification 3

I.2.2. Principales classes des composés phénoliques..... 4

I.2.2.1. Formes les plus simples..... 4

I.2.2.2. Formes condensées..... 6

I.3. Rôles biologiques des polyphénols 7

I.4. Propriétés biologiques des polyphénols 7

II. Caractéristiques et origine des extraits étudiés

II.1. Plantes médicinales 10

II.2. Présentation de *Carthamus caeruleus* L..... 10

II.2.1. Classification systématique..... 10

II.2.2. Description morphologique 11

II.2.3. Habitat et répartition géographique 12

II.2.4. Utilisation traditionnelle 12

II.2.5. Les parties exploitées de la plante 13

II.2.5.1. Le rhizome 13

II.2.5.2. Les feuilles..... 13

II.2.6. Composition phytochimique de *Carthamus caeruleus* L 13

II.2.7. Quelques travaux scientifique réalisés sur *Carthamus caeruleus* L 14

II.3. Généralités sur l'oléiculture en Algérie 14

II.3.1. Technologie d'extraction de l'huile d'olive	15
II.3.2. Système d'extraction de l'huile d'olive	15
II.3.3. Sous-produits de l'oléiculture	15
II.4. Généralités sur les margines	17
II.4.1. Composition des margines	17
II.4.1.1. Fraction minérale	18
II.4.1.2. Fraction organique	18
II.4.2. Caractéristiques microbiologiques	18
II.4.3. Activités antimicrobiennes des margines	19
II.4.4. Impacts des margines sur l'environnement.....	19
II.4.5. Valorisation des margines.....	20

III. Généralités sur les emballages comestibles et /ou bioactifs

III.1. Emballages comestibles	22
III.1.1. Définition.....	22
III.1.2. Qualités requise et fonctions des films et enrobages comestibles	22
III.1.3. Application des films et enrobages comestibles	23
III.1.3.1. Films et enrobages comestibles sans additif bioactif.....	23
III.1.3.2. Films et enrobages bioactifs	23

IV. Bioconservation de la viande

IV.1. Qualité de la viande	26
IV.2. Facteurs d'altérations de la viande	26
IV.3. Contamination de la viande.....	27
IV.4. Conséquence sanitaire	27
IV.5. Méthodes de conservation de la viande	27
IV.5.1. Utilisation des bioconservateurs antioxydants	28
IV.5.2. Conservation sous vide.....	28

Deuxième partie. Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel.....	30
I.1.1. Appareillage et verrerie de laboratoire	30
I.1.2. Matériel végétal.....	31
I.2. Méthodes expérimentales	32
I.2.1. Préparation des extraits	32
I.2.1.1. Extraction de composés bioactifs de la plante de <i>Carthamus caeruleus</i> L	32
I.2.1.2. Extraction de composés bioactifs des margines.....	33
I.2.2. Dosage des phénols totaux	35
I.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante via le test avec le radical DPPH.....	37
I.2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne	38
I.2.4.1. Souches microbiennes utilisées	39
I.2.4.2. Revivification des souches bactériennes	39
I.2.4.3. Culture des souches bactériennes.....	39
I.2.4.4. Préparation de l'inoculum	40
I.2.4.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits	40
I.2.4.6. Lecture des résultats.....	40
I.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des films préparés.....	40
I.2.5.1. Préparation des films avec ou sans extraits de margines.....	40
I.2.5.2. Evaluation de l'activité antioxydante des films en utilisant le test DPPH	42
I.2.5.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des films.....	42
I.2.6. Application des films sur une matrice alimentaire	42
I.2.6.1. Préparation des échantillons	42
I.2.6.2. Emballage des échantillons et conservation	43
I.2.6.3. Analyse microbiologique des échantillons après conservation	43

II. Résultats et discussion

II.1. Dosage des polyphénols extraits à partir des margines et des racines de <i>C. caeruleus</i> L.....	44
II.2. Activité antioxydante des extraits	45
II.3. Activité antimicrobienne des extraits.....	47
II.3.1. Activité antimicrobienne des extraits de margines.....	48
II.3.2. Activité antimicrobienne des extraits de racines de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	49

II.4. Activité antioxydante des films alimentaires.....	50
II.5. Activité antibactérienne des films alimentaires	51

Conclusion	55
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

N°	Intitulé	Page
1	Exemple de quelques acides phénols	5
2	Structure de base des flavonoïdes	6
3	Effets biologiques des polyphénols	9
4	Différentes parties de <i>Carthamus caeruleus</i> L	12
5	Procédé d'extraction de l'huile d'olive	16
6	Conséquences environnementales des rejets de margines dans le milieu naturel	20
7	Différentes filières de valorisation des margines	21
8	Diagramme récapitulant les étapes de récupération de la poudre de <i>Carthamus caeruleus</i> L	31
9	Diagramme récapitulant les différentes étapes de l'extraction des composés phénoliques de la poudre de <i>Carthamus caeruleus</i> L	32
10	Diagramme récapitulant les différentes étapes de l'extraction des CP des margines	34
11	Photographie montrant la séparation de phases après centrifugation	35
12	Protocole de dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu	36
13	Courbe étalon établie pour le dosage des polyphénols des extraits phénoliques	36
14	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre radicalaire DPPH et un antioxydant	37
15	Diagramme récapitulant le protocole de l'étude de l'activité antioxydante des extraits	38
16	Photographie des différents films préparés	41
17	Protocole de l'évaluation de l'activité antioxydante des films	42
18	Concentrations des extraits	44
19	Concentrations du % d'inhibition de l'activité antioxydante des extraits	46
20	Activité antioxydante des films alimentaires exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH	51

Liste de tableaux

N°	Intitulé	Page
I	Principales classes des composés phénoliques	4
II	Quelques activités biologiques identifiées <i>in vitro</i> chez certaines plantes	8
III	Différentes appellations de <i>Carthamus caeruleus</i> L	10
IV	Classification de <i>Carthamus caeruleus</i> L selon APGIII (2009)	11
V	Tests phytochimiques des racines et feuilles de <i>Carthamus caeruleus</i> L	13
VI	Composition chimique des margines	17
VII	Substances minérales des margines	18
VIII	Caractéristiques qualitatives importantes de la viande	26
IX	Germes pathogènes de la viande et signes cliniques	27
X	Appareils et matériel utilisés	30
XI	Milieux de cultures, solvants et réactifs utilisés	31
XII	Souches bactériennes testées	39
XIII	Estimation de la sensibilité des souches	40
XIV	Résultats des testes de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis de différentes souches testées	47
XV	Résultats des tests antibactériens obtenus avec des films alimentaires	52
XVI	Effets de l'incorporation des extraits de margines dans le film alimentaire sur la croissance de <i>S. aureus</i> ATCC 25923 aux cours de la conservation de la viande	52

Liste des abréviations

AC	Acétate d'éthyle
ATCC	American Type Culture Collection
C-ETHA	L'extrait de <i>Carthamus caeruleus</i> L avec de l'éthanol
C-A-A	L'extrait de <i>Carthamus caeruleus</i> L avec de l'acétate d'éthyle
CP	Composés phénoliques
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	Diphényl Picryl Hydrazyle
IC 50	Concentration inhibitrice à 50 %
I%	Pourcentage d'inhibition
KDa	Kilodalton
M-A	Extrait de margines avec l'acétate d'éthyle
M-A-A	Extrait de margines avec l'acétate d'éthyle après acidification
MH	Muller Hinton
PPT	Polyphénols Totaux
UFC	Unité Formant Colonie



Introduction

Depuis l'antiquité à ce jour l'homme continue à utiliser de très nombreuses plantes, comme ingrédient ou comme remède en médecine traditionnelle. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

Les plantes médicinales sont ainsi importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration de médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs (Aissaoui, 2019). La recherche actuelle s'intéresse beaucoup à la valorisation directe des composés bioactifs contenus dans les plantes médicinales ou sous-produits agricole à l'exemple de la plante *Carthamus caeruleus* L ou de margines issues des industries oléicoles.


Carthamus caeruleus L est une plante qui pousse dans le Nord d'Algérie et est couramment utilisée en médecine traditionnelle par les guérisseurs et la population locale, en raison de ses avantages thérapeutiques pour le traitement des problèmes de la peau et des brûlures. La littérature existante indique sa richesse importante en composés phénoliques et que ces composants chimiques présentent plusieurs activités pharmacologiques (Suman, 2010).

Les margines sont des eaux de végétation générées lors de l'extraction de l'huile d'olive. Ce sont des effluents riches en matières organiques et plus particulièrement en composés phénoliques (CP), lipides et sucres. Les CP de l'olivier ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs propriétés biologiques (Lopez-Miranda, 2010 ; Ghanbari *et al.*, 2012). Ils sont doués de diverses activités antioxydantes, antivirales, anti-inflammatoires, antiallergiques et antimicrobiennes (D'angelo *et al.*, 2005 ; Visioli *et al.*, 2005 ; Brenes *et al.*, 2007). Ces propriétés ont orienté les chercheurs, vers l'extraction et la valorisation de ces polyphénols dans divers domaines (agriculture, pharmacologie, agro-alimentaire) (Paredes *et al.*, 2000 ; Bouaziz *et al.*, 2008 ; Lee *et al.*, 2009).

Ces dernières années, en plus de la caractérisation des activités biologiques des biomolécules, les travaux de recherche se sont également orientés vers de nouvelles méthodes d'application à l'exemple de leur utilisation comme agents de conservation des aliments fragiles dont la viande, le lait et dérivés. Parmi ces méthodes figure l'utilisation de probiotiques et des composés bioactifs des plantes. Dans ce contexte l'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits de *Carthamus caeruleus* L et des margines et d'effectuer un essai de bioconservation de la viande vis-à-vis de *S. aureus*.

Introduction

Le manuscrit est scindé en trois parties. La première partie est consacrée à l'étude bibliographique comportant l'essentiel des connaissances actualisées sur les métabolites secondaires, caractéristiques des extraits étudiés, généralités sur les emballages alimentaires comestibles et/ou bioactifs. Quant à la seconde partie, celle-ci retrace le matériel et les méthodes utilisées dans l'étude expérimentale. La troisième partie porte sur la discussion des résultats expérimentaux obtenus achevée avec une conclusion et des perspectives.



1^{ère} partie :
Synthèse
bibliographique

I. Métabolites secondaires

I.1. Généralités

Les végétaux ont la capacité à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, glucides, protéides, lipides, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires. Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix *et al.*, 2005).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge *et al.*, 2002). Ces métabolites exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux agents biotiques (phytopathogènes, herbivores) et abiotiques (UV, température) (Bourgaud, 2013).

Les métabolites secondaires peuvent être scindés en plusieurs grands groupes parmi lesquels on trouve les polyphénols, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés dotés d'une très large gamme d'activités en biologie humaine (Abdarezak et Joel, 2007).

I.2. Composés phénoliques

I.2.1. Généralités, structures et classification

Les CP, ou polyphénols participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales (Gee et Johnson, 2001). Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une des caractéristiques d'une sous-classe des flavonoïdes (El Gharras, 2009). Les polyphénols, qui forment une grande famille de plus de 8000 composés naturels, ils sont divisés en plusieurs catégories :

- Flavonoïdes représentant plus de la moitié des polyphénols;
- Tanins résultant de la polymérisation des flavonoïdes;
- Acides phénoliques ;
- Coumarines ;
- Lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (Dacosta, 2003).

De nombreux résultats de recherche sont en faveur d'un impact positif de leur consommation sur la santé. En effet, les polyphénols pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer (Brown *et al.*, 1998), les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (Paganga *et al.*, 1999). Un encouragement à la consommation d'aliments

d'origine végétale riches en CP constitue désormais l'une des principales recommandations en santé publique. Parmi les antioxydants végétaux, les CP apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (Gee et Johnson, 2001). L'élément structural fondamental qui caractérise les CP est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...) (Bruneton, 1999). Les CP sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (Dacosta, 2003) (tableau I).

Tableau I. Principales classes des composés phénoliques (Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2004).

Nombre d'atome	Squelette de base Structure	Classes	Molécules	Exemples de plantes
6	C6	Phénols simples	Cathécol, Hydroquinone	Busserole
7	C6-C1	Acides phénols Benzoïques	Ac. Gallique, Ac. Salysalique, vaniline	Artichaut Saule
8	C6-C2	Acétophénones	3-acétyl6-Méthoxybenzaldehe	Saule
9	C6-C3	Acides phénols Cinnamiques	Ac. Coumarique Ac. Caféique	Romarin Marronnier d'inde
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine	Drosera spp.
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline, Mangoctine	Racine de Gentiane Centaurée
14	C6-C2-C6	Stiblènes	Hydrangénol, Inosylvine	Raisin Pin
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, Roténoïde	Ginkgo Thym Camomille
18	(C6-C3) ₂	Lignanes	Matairésinol	Chardon
30	(C6-C3-C6) ₂	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, Hinokiflavone	Garcinia Hypeicum
N	(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	Aesculitanins	- Marronnier d'inde - Vigne

I.2.2. Principales classes des composés phénoliques

I.2.2.1. Formes les plus simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C15 et

à des molécules proches. Sauf exceptions, ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole (Macheix *et al.*, 2006).

- **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont largement distribués dans les fruits (Garcia-Viguera *et al.*, 1994), les tiges et les feuilles des légumes (Morton *et al.*, 2000) et le thé (Harbowy et Balentine, 1997). Ils sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires (Bruneton, 1993). Les acides phénoliques sont divisés en trois classes : acides phénoliques simples, acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque et acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (figure 1).

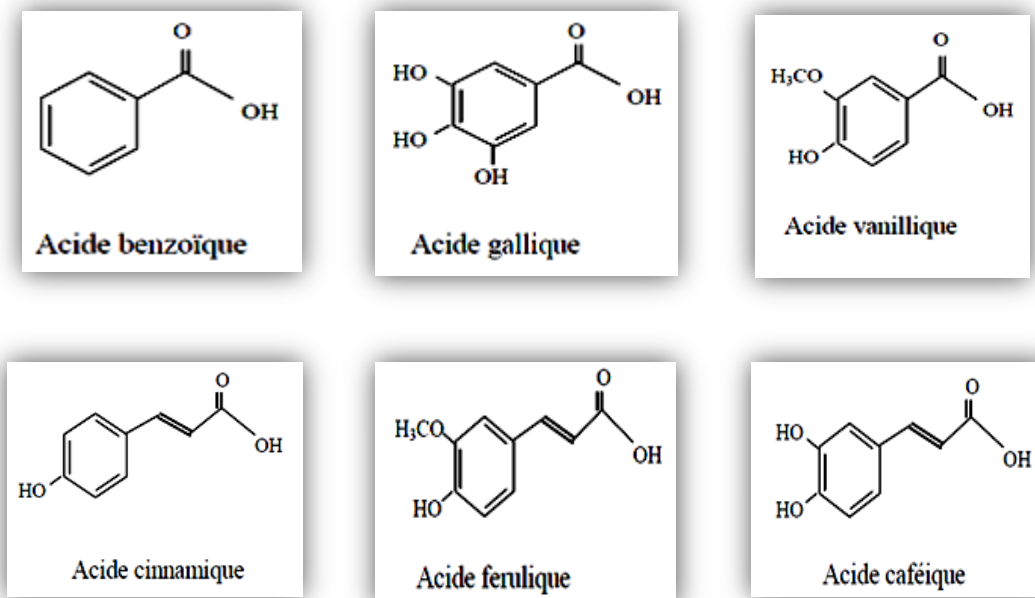


Figure 1. Exemple de quelques acides phénols (Bruneton, 2009).

- ❖ **Classification**

- Acides phénoliques simples : ces acides sont rares à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs végétaux (Bruneton, 1993) ;
- Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque : ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque comme l'acide vanillique (Haslam et Lilley, 1988) ;
- Acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique : ces molécules ont une distribution très large ;
- Acide caféïque et Acide férulique sont des composés majeurs (Bruneton, 1993).

- **Flavonoïdes**

Ce sont des pigments qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (Ghedira, 2005) caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols comme le montre la figure 2.

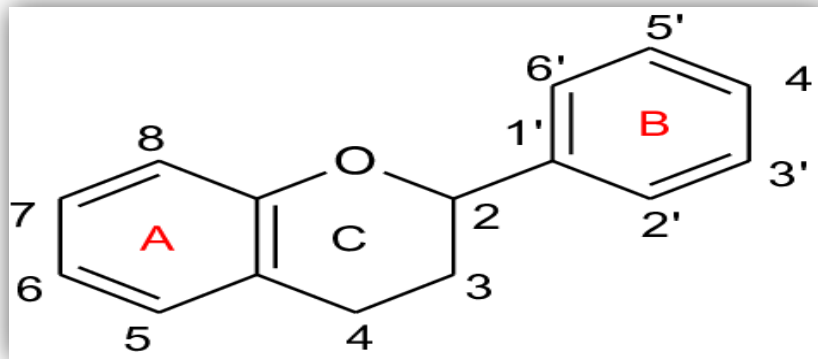


Figure 2. Structure de base des flavonoïdes (El Gharra, 2009).

Selon El Gharra. (2009), les détails structuraux ou bien le degré d'oxydation des flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont : les flavones, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavonesles chalconesles aurones et les anthocyanes.

I.2.2.2. Formes condensées

- **Tannins**

Les tanins sont des molécules qui ont un grand intérêt pour la nutrition et la médecine grâce à leurs pouvoirs antioxydants et leurs effets protecteurs sur la santé humaine (Santos-Buelga et Scalbert, 2000 ; Oszmianski *et al.*, 2017). Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les grains de plantes avec un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. (Watterson et butler, 1983).

- ❖ **Classification**

Les tannins sont subdivisés en deux classes différentes, largement distribués chez les végétaux supérieurs, qui sont les tannins hydrolysables et tannins condensés.

- Les tannins hydrolysables sont hétéropolymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère un sucre, généralement le glucose, et un acide phénolique (Mehansho *et al.*, 1989) ;
- Les tannins condensés ou proanthocyanidines (PAs) sont des oligomères ou polymères de flavonoïdes, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, le plus souvent entre C4 et C8 ou C4 et C6 (Mehansho *et al.*, 1987 ; Haslam et Lilley, 1998).
- **Les lignanes**

Ce sont des polymères tridimensionnels de haut poids moléculaire, qui contribuent à la formation, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, de la paroi des cellules végétales (Haslam, 1996).

I.3. Rôles biologiques des polyphénols

Le rôle des polyphénols est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir dans :

- Certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...)
- Les interactions de la plante avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ;
- Les critères de qualités (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent le choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes...) et des produits qui en dérivent par transformation ;
- Les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentés...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini ; dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Macheix *et al.*, 2005).

I.4. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les CP en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme le montre le tableau II.

Tableau II. Quelques activités biologiques identifiées *in vitro* chez certaines plantes.

Activités	Plantes	Nature de l'extrait
Anti-inflammatoire	<i>Annona reticula</i> L (Cœur de bœuf)	Extraction aqueuse (alcaloïdes triterpénoïde)
Anti-pyrétique	<i>Cocos nucifera</i> L (Cocotier)	Extraits organiques (des tannins, anthocyanidines, flavonoïdes, triterpènes, stéroïdes et alcaloïdes)
Anti-parasitaire	<i>Hydnophytum formicarum</i> Jack	Extraction organique (les flavonoïdes)
Hépatoprotective	<i>Psidium cattleianum</i> Afzel.	Extraction aqueuse hydroalcoolique isoflavones glycitéine, glycitine, sissotrine).
Antimicrobienne	<i>Passiflora quadrangularis</i> L (La barbadine, ou grenadille géante)	Extrait aqueux et hydroalcoolique riche de flavonoïdes, alcaloïdes, tannins et saonines
Antivirale	<i>Adonis vernalis</i> L	Extraction aqueuse (flavonoïdes)
Anticancéreuse	<i>Piper crocatum</i> Ruiz Pav (poivrier)	Extraction organique (des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes)

Les polyphénols ont des effets bénéfiques intéressants particulièrement pour les domaines de la phytothérapie et de l'hygiène alimentaire. D'après les multiples études confirmant l'impact positif de leur consommation sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. Il a été bien établi que l'activité antioxydante des polyphénols assure une meilleure conservation des denrées alimentaires (Hennebelle *et al.*, 2004).

Dans l'industrie cosmétique, les CP trouvent leur application pratique dans la lutte contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes, chacune de ces dernières semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Hennebelle *et al.*, 2004).

En effet, la capacité antioxydante des CP est exploitée dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires. Ils sont également préconisés pour améliorer la stabilité de pigments de jus colorés (comme le jus de betterave), d'arômes alimentaires, et rentrent dans la composition de

produits pharmaceutiques pour des utilisations par voie orale et des cosmétiques pour des applications locales (Moure *et al.*, 2001). Enfin, l'effet de certains flavonoïdes en médecine humaine est de plus en plus étudié dans le traitement de certaines maladies, et particulièrement pour le contrôle du virus de l'immunodéficience, principal responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) (Sartori-Thiel, 2003).

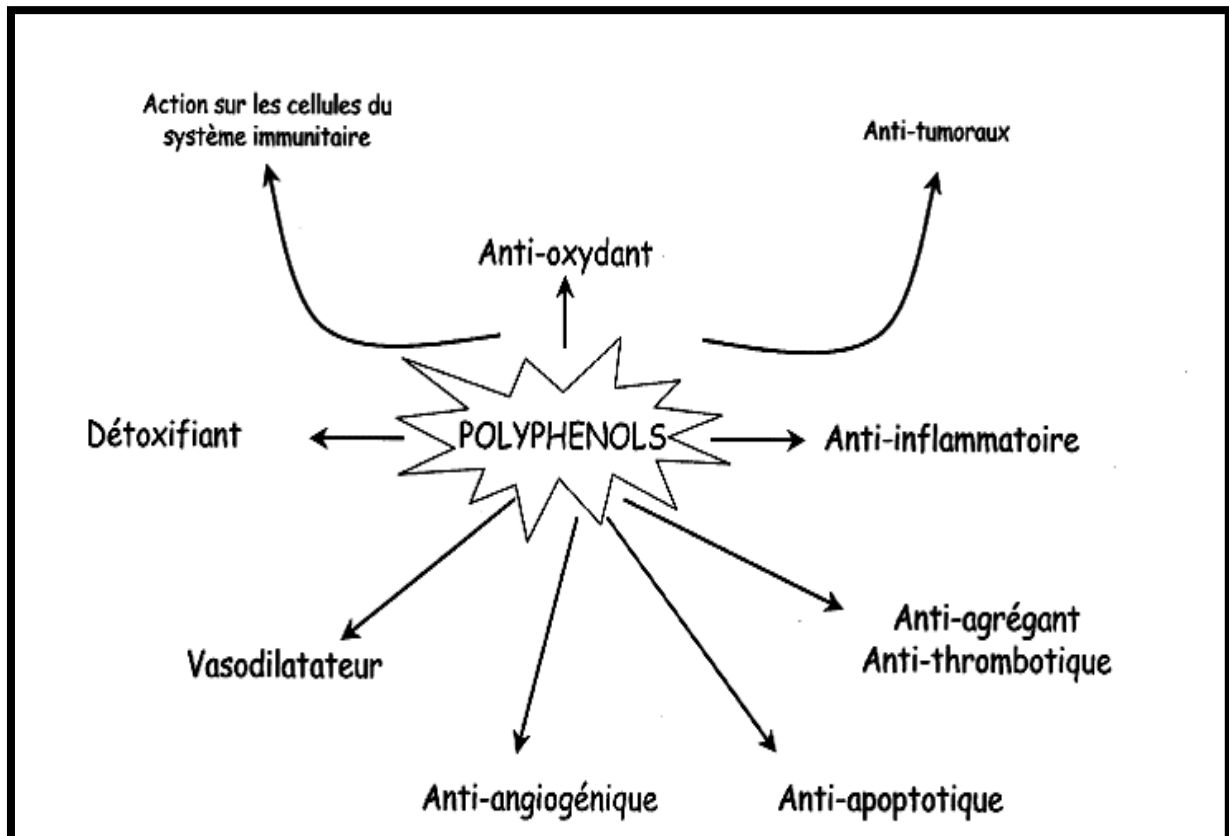


Figure 3. Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002)

II. Caractéristiques et origines des extraits étudiés

II.1. Plantes médicinales

Depuis longtemps, les plantes médicinales avaient un grand intérêt en médecine traditionnelle, elles présentent une source naturelle efficace et moins coûteuse pour la thérapie soit sous forme de préparations traditionnelles (jus, crème, poudre...), ou bien sous forme de principes actifs purs.

En pratique, la plante est en quelque sorte une usine chimique en miniature qui synthétise et accumule dans ses tissus un ensemble de composés d'une grande diversité, ils jouent le rôle d'attirer des pollinisateurs, de repousser des prédateurs, ou encore de s'opposer à la croissance d'espèces concurrentes, ce qui pousse les chercheurs scientifiques à extraire ces métabolites et de les valoriser, tant pour la fabrication de nouveaux médicaments que dans les secteurs des cosmétiques ou de l'agro-alimentaire (sehaki, 2020). Parmi les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Algérie, le *Carthamus caeruleus* L. Qui contribue à guérir efficacement les brûlures (Belkhiri, 2009).

II.2. Présentation de la plante *Carthamus caeruleus* L

Le nom générique provient du mot arabe « Kurthum » (Beniston, 1984), signifiant « teinture », cette plante appartient à la famille des Astéracées qui veut dire étoile ; « aster » en Grèce (Freire Fierro, 2004). C'est une plante à fleurs qui a des rapports avec les chardons (Lamarck et Marie, 1785). Plusieurs appellations vernaculaires sont attribuées au *Carthamus caeruleus* L (Tableau III).

Tableau III. Différentes appellations de *Carthamus caeruleus* L (Quezel et Santa, 1963).

Langues	Nom vernaculaire
Arabe	Khorchof azraq
Arabe Algérie	Musgousse, Mortgousse, Emar gosgog
Berbère	Arviv n taga, Immerzezig
Française	Carduncelle bleue
Anglaise	Blue thistle

II.2.1 Classification systématique

Selon la classification de l'APGIII (2009) (*l'Angiosperms Phylogeny Group*) ou la classification phylogénétique des angiospermes, la plante est classée comme décrit sur le tableau IV.

Tableau IV. Classification de *Carthamus caeruleus* L selon APGIII (2009).

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones vraies
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	Carthamus
Espèce	<i>Carthamus caeruleus</i> L

II.2.2. Description morphologique

La carduncelle bleue est une herbe annuelle ou bisannuelle, 20-60 cm de haut qui possède :

- Un rhizome composé d'une racine principale qui évolue horizontalement, et des racines secondaires évoluant verticalement (Freire, 2004) ;
- Une tige ascendante simple ou très peu rameuse, glabre, dressée et velue (haute de 20 à 60 cm) (Mioulane, 2004) ;
- Des feuilles coriaces et luisantes, les supérieures sont fortement dentées et piquantes. L'inflorescence se présente sous forme d'un capitule dont les fleurs sont bleues. Les bractées de l'involucre sont aranéuses et très piquantes ;
- Sa période de floraison s'étale de mai à juillet (Mioulane, 2004);
- Ses fruits qui sont des akènes (Bowles *et al.*, 2010).



A) Plante entière



B) Tige



C) Racine



D) Feuilles



E) Fleur

Figure 4. Différentes parties de *Carthamus caeruleus* L.

A) Plante entière ; B) Tige ; C) Racine ; D) Feuilles ; E) Fleur (Dahmani, 2018)

II.2.3. Habitat et répartition géographique

Cette espèce préfère les endroits secs et ensoleillés dans le bassin méditerranéen, elle est d'origine du sud-ouest d'Asie (Mioulane, 2004) mais elle se trouve dans le l'Est et le Nord de l'Afrique, l'Australie, l'Amérique, et de l'Europe (Boullard, 2001).

En Algérie, elle se trouve dans les régions côtières méditerranéennes (Tipaza, Annaba, Bejaia, Sidi bel- abbés et ainsi que dans les hauts plateaux Sétif) (Benhamou et Fazouane, 2013). Elle se retrouve également à Bouira, Tizi-Ouzou, Tlemcen, et Boumerdes (Chemouri *et al.*, 2015).

II.2.4. Utilisation traditionnelle

L'utilisation de *Carthamus caeruleus* L est fréquente en Algérie. Les études ethnobotaniques sur *Carthamus caeruleus* L. Ont montré que la majorité de la population locale (74,98%) utilise les racines de cette plante pour la guérison des brûlures de divers

degrés. La partie utilisable est le rhizome, sous forme de poudre ou de crème préparée dans l'eau, ou dans le lait. Cette dernière est préparée à partir des racines préalablement lavées et épluchées, puis bouillies dans du lait ou de l'eau. Ces racines sont ensuite écrasées, réduites en pommade et appliquée sur les brûlures (Benhamou et Fazouane, 2013).

II.2.5. Parties exploitées de la plante

II.2.5.1. Le rhizome

C'est la partie la plus utilisée en phytothérapie en raison de sa richesse en CP (Dahmani, 2018) sous forme d'une poudre ou une crème grâce à sa richesse en matière grasse et en amidon (Suman *et al.*, 2010), possédant des propriétés antifongique, antivirale, antitumorale, antidiabétique, antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne (Bouhenni et Benkabilia, 2019).

II.2.5.2. Les feuilles

Elles sont riches en CP, huiles essentielles elles sont utilisées sous forme d'une poudre ou une tisane (Allouache et Ghernoub, 2017).

II.2.6 Composition phytochimique des racines de *Carthamus caeruleus* L

Selon les résultats de Dahmani (2018), les racines et les feuilles de *Carthamus caeruleus* L sont riches en tanins galliques, flavonoïdes, saponosides et en mucilages. Cette étude a également montré l'existence d'une réelle biodiversité moléculaire, qui confère à la plante des vertus médicinales importantes à valoriser.

La composition phytochimique des racines et des feuilles de *Carthamus caeruleus* L selon Dahmani (2018) (tableau V).

Tableau V. Tests phytochimiques des racines et feuilles de *Carthamus caeruleus* L (Dahmani, 2018).

Substances	Racines	Feuilles
Polyphénols totaux	+	+++
Flavonoïdes	+	+++
Tanins condensés	+	++
Huiles essentielle	+++	++

(+) : faible présence de substance ; (++) : moyenne présence de substance ; (+++) : forte présence de substance

II.2.7. Quelques travaux scientifiques réalisés sur *Carthamus caeruleus* L

Une étude réalisée par Baghiani *et al.* (2009) portant sur les racines, a montré que les principaux composés isolés de cette espèce sont les polyphénols et les flavonoïdes. Il a été trouvé que l'extrait de racines de *Carthamus caeruleus* L est un inhibiteur efficace de xanthine oxydase, et possède des propriétés de piégeage de radicaux libres en raison de sa teneur élevée en acides phénoliques et en flavonoïdes. Afin de confirmer les effets pharmacologiques deux études ont été menées sur *Carthamus caeruleus* L. La première menée par Baghiani *et al.* (2010) a démontré une forte activité antioxydante. La seconde s'est focalisée sur l'activité antimicrobienne (Karima *et al.*, 2013), les résultats ont montré des effets antibactériens significatifs et variables obtenus avec les fractions organiques et aqueuses, aussi bien sur des bactéries Gram+ que Gram -.

II.3. Généralités sur l'oléiculture en Algérie

L'oléiculture algérienne remonte à la plus haute antiquité, elle représente l'activité arboricole la plus dominante du pays du point de vue superficie. L'olivier existe principalement dans les terrains montagneux et se répartit dans trois zones : le centre nord (Tizi Ouzou, Bouira, Bejaia) avec 54,3 % de la surface totale, l'est (Jijel, Guelma, Skikda et Mila) avec 28,3 % et l'ouest qui occupe 17 % de la superficie totale (Tlemcen, Oran, Mascara) (Aggoun, 2016).

Classé 8^{ème} pays producteur d'huile d'olive dans le monde, l'Algérie a marqué une légère amélioration qui reste très faible en vue du potentiel agricole Algérien. Selon les estimations de la commission européenne pour la campagne 2019/2020, la production a régressé de 15% pendant la campagne avec une quantité de 82 000 tonnes par rapport à la campagne précédentes 97000 t. La répartition de la production nationale en l'huile d'olive présente autant d'irrégularités. En effets, celle-ci est majoritairement détenue par la région centre avec près de 50% de la production nationale (Enpard, 2018). Cette concentration est expliquée par la répartition de la surface oléicole et la maîtrise du savoir-faire pour l'extraction dans cette région. Durant la campagne 2019/2020, un taux record de 19.6 millions de litres a été enregistré dans la wilaya de Tizi Ouzou, selon la DSA de Tizi-Ouzou, ce qui l'a placé en deuxième place des wilayas productrices, après Bejaia avec 25 millions de litres et devant Bouira qui a enregistré une production de 8 millions de litres (Djebari et Meddour., 2020).

II.3.1. Technologie d'extraction de l'huile d'olive

Le processus d'extraction d'huile d'olives se base sur quatre opérations principales :

- Les opérations préliminaires qui consistent en l'effeuillage des olives ;
- Le lavage ;
- Le broyage- malaxage ;
- La séparation des phases.

La séparation du mout huileux et du grignon, réalisée par divers systèmes, font appel à des principes mécaniques de conception différente (Chimi, 1997 ; Zbakh et EL Abbassi, 2012).

II.3.2. Système d'extraction de l'huile d'olive

Avec le développement du secteur oléicole, les systèmes traditionnels discontinus (lavage des olives, broyage mécanique, malaxage) sont actuellement remplacés par des équipements modernes. Ce perfectionnement, moins onéreux, permet d'extraire l'huile en continue à travers des phases successives et la séparation par centrifugation de l'huile des eaux de végétation (Francesco, 1993). Selon (Morillo *et al.*, 2009) trois systèmes d'extraction sont à présent utilisés (figure 5).

1. Procédé discontinu ou système à presse ;
2. Procédé continu à trois phases ;
3. Procédé continu à deux phases (procédé écologique).

II.3.3. Sous-produits de l'oléiculture

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile (l'huile d'olive vierge et l'huile de grignon), engendre la production de deux résidus (Nefzaoui, 1991) :

- Les margines ou eaux de végétation, parfois nommées alpechine (Ramos *et al.*, 1995). C'est le résidu liquide aqueux brun qui s'est séparé de l'huile par centrifugation ou sédimentation après le pressage (Fedeli et Camurati, 1981) ;
- Les grignons ou tourteaux d'olive qui ont des résidus solides issus de la première pression ou centrifugation, ils sont formés des pulpes et des noyaux d'olives. Ce produit peut être transformé en un produit destiné à l'alimentation animale ou en huile dite : grignons d'olive après extraction chimique (Martin-Garcia *et al.*, 2003 ; Chiofalo *et al.*, 2004).

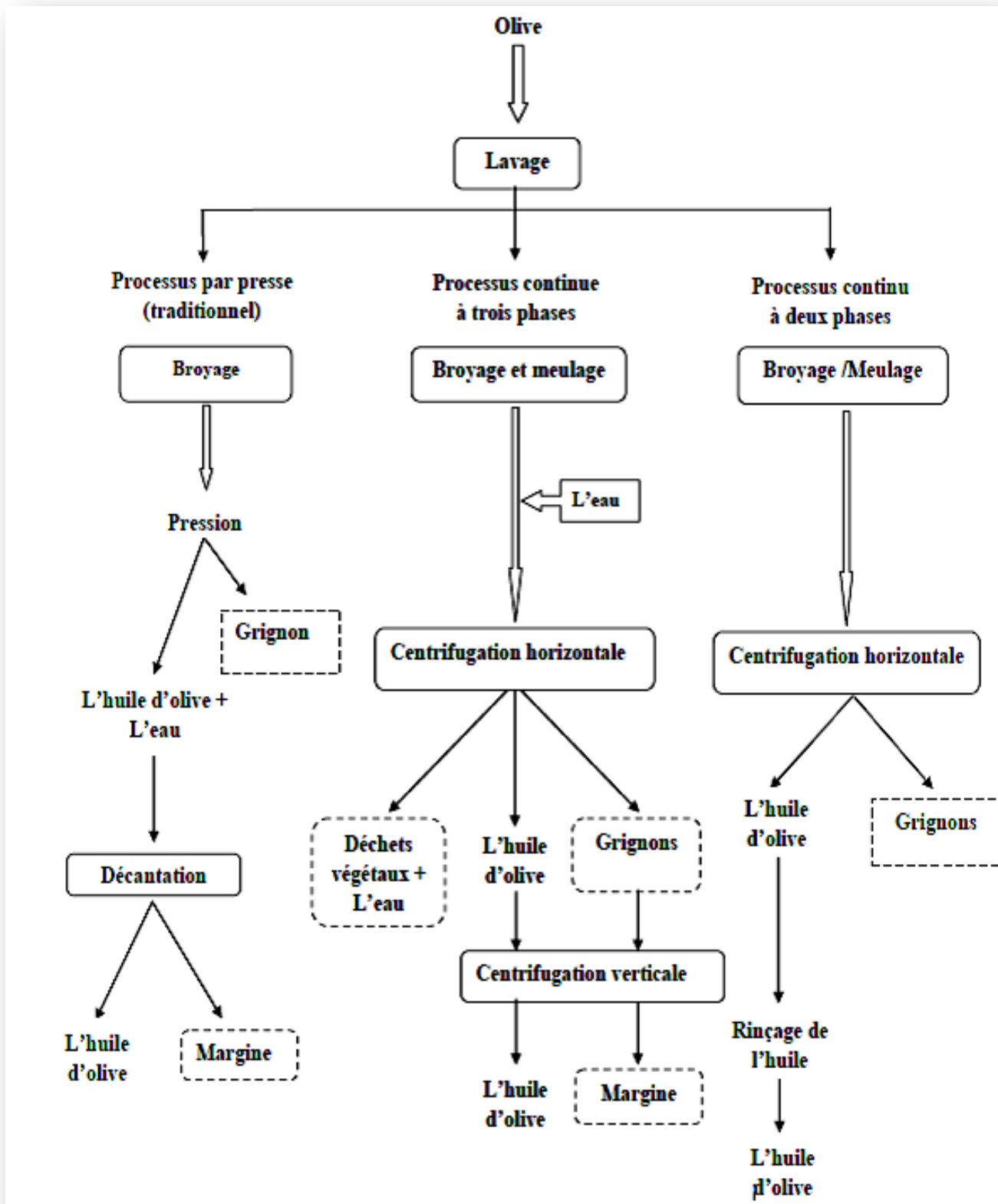


Figure 5. Procédé d'extraction de l'huile d'olive (Morillon *et al.*, 2009).

II.4. Généralités sur les margines

Les margines appelées aussi eaux de végétation sont des sous-produits du procédé de l'extraction de l'huile d'olives, ces résidus liquides bruns sont séparés de l'huile d'olive à partir de l'eau contenue dans le fruit, et celle ajoutée au cours des étapes de trituration par sédimentation après le pressage ou par centrifugation. Elles contiennent un pourcentage d'huile résiduelle et de matières solides provenant de la pâte, qui varie en fonction de la technologie d'extraction (Ramos-Cormenzana *et al.*, 1995 ; Takaç et Karakaya, 2009). Ces effluents constituent un important facteur de pollution dans l'aire méditerranéenne à cause de leur charge élevée et toxique en matières organiques, ainsi que leur acidité moyennement élevée (Jeguirima *et al.*, 2012).

La qualité et la quantité des margines ainsi que sa composition caractéristique varient en fonction du stade de maturation des olives, du procédé d'extraction, des conditions climatiques et de la variété de l'olivier (Aissam, 2003). On estime généralement qu'un kilogramme d'olives fournit de 1 à 1,5 litre de margines en fonction du système d'extraction utilisé (Achak *et al.*, 2009).

II.4.1. Composition des margines

Les principaux composés des margines sont l'eau (83,2 %), les substances organiques (15%) et les substances minérales (1,8%) (Sousoucy, 1984) (Tableau VI). La composition des margines diffère selon la variété de l'olive mais aussi de leur mode d'extraction des conditions climatiques et de la variété des olives (Aissam, 2003)

Tableau VI. Composition chimique des margines (Sousoucy, 1984, FAO).

Composées	Teneur
Eau	83-88%
Matière organique	10.5-15%
Matière minérale	1.5-2.4%
Matière azoté totale	1.25-2.4%
Matière grasse	0.03-1%
Polyphénols	1-1.5%

II.4.1.1. Fraction minérale

Comme le montre le tableau ci-dessous, les margines contiennent des quantités significatives de sels minéraux, leur teneur varie de 4 à 42 g/L et de 0,4 à 12,5 g/L, respectivement pour celles issues de l'extraction par pression et celles issues par centrifugation (Coi, 2008). Elles contiennent aussi quelques ions métalliques importants comme le calcium (Ca), le magnésium (Mg), ainsi que certains métaux notamment les métaux lourds, tels que le plomb (Pb) et le cadmium (Cd), qui sont bien connus en tant qu'éléments potentiellement toxiques (Zbakh et El abbassi, 2012).

Tableau VII. Substances minérales des margines (Lutwin *et al.*, 1996).

Éléments	Teneur en (%)
Calcium	0,2-5
Phosphore	0,5
Potassium	5-15
Magnésium	3

II.4.1.2. Fraction organique

Les margines comportent deux fractions organiques :

- Une fraction insoluble constituée essentiellement de pulpes d'olives qui représente la matière en suspension et colloïdale (Fki *et al.*, 2005) ;
- Une fraction soluble dans la phase aqueuse qui contient des sucres, lipides, acides organiques, pectines, CP (Hamdi, 1991) vitamines et souvent des traces de pesticides (Kapellakis *et al.*, 2008).

II.4.2. Caractéristiques microbiologiques

Les études microbiologiques effectuées sur plusieurs échantillons de margines ont confirmé l'absence totale de micro-organismes pathogènes. Donc ces effluents ne posent aucun problème hygiénico-sanitaire, (Aissam, 2003), sauf quelques microorganismes arrivent à se développer. Ce sont essentiellement des levures et des moisissures (El-Abbassi, 2012).

L'activité antimicrobienne des margines est liée essentiellement à l'action exercée par les phénols monomériques et les pigments bruns catéchol-mélaninique (Hamdi *et al.*, 1993).

Ces effluents agissent sur les bactéries en dénaturant les protéines cellulaires et en altérant les membranes (Ranalli, 1991). Ils peuvent également inhiber l'activité des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote en inhibant l'activité des enzymes (et/ou) en précipitant les protéines nutritionnelles (Hattenschwiler et Vitousek, 2000).

II.4.3. Activités antimicrobiennes des margines

Les CP se trouvent en grande quantités dans les margines avec des propriétés phytotoxiques et antimicrobiennes (Ramos-Cormenzana, 1996 ; Niaounakis et Halvadakis, 2004). Elles agissent sur les bactéries en dénaturant leurs protéines cellulaires et en altérant leurs membranes cytoplasmiques (Ranalli, 1991). De nombreuses études ont également révélé l'action des polyphénols des effluents oléicoles sur la croissance des champignons (Özdemir, 2009 ; Vagelas *et al.*, 2009 ; Senani-Oularbi *et al.*, 2011) et des algues (Della Greca *et al.*, 2001). L'effet inhibiteur des CP des margines a été montré contre la sporulation des bactéries telluriques ainsi que la croissance des bactéries Gram positives et Gram négatives (Pérez *et al.*, 1992 ; Capasso *et al.*, 1995 ; Larif *et al.*, 2015 ; Leouifoudi *et al.*, 2015 ; Roila *et al.*, 2016).

II.4.4. Impacts des margines sur l'environnement

Le rejet des effluents des industries productrices d'huiles d'olive est un problème majeur surtout dans les pays du bassin méditerranéen. Ces eaux fortement polluées causent de sérieux dégâts environnementaux (Benyahia et Zien, 2003) (figure 6).

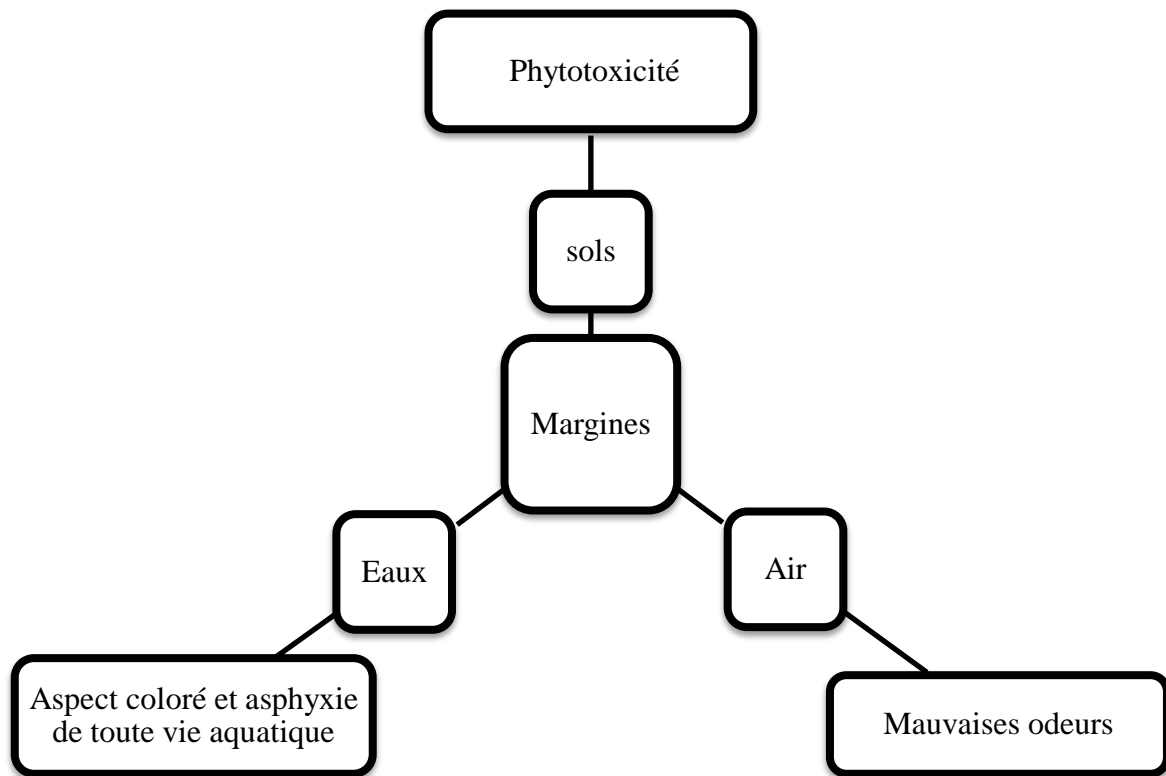


Figure 6. Conséquences environnementales des rejets de margines dans le milieu naturel

II.4.5. Valorisation des margines

Compte tenu de leur richesse en éléments nutritifs minéraux et organiques, les margines peuvent constituer un produit de valeur ajoutée intéressant, ce qui a amené les chercheurs à mettre au point de nombreux procédés pour leur valorisation aussi bien à l'échelle de laboratoire qu'à l'échelle industrielle (Abu Khayer *et al.*, 2013). Il s'agit en particulier de la récupération des composés aromatiques et phénoliques, et des polysaccharides (Nadour *et al.*, 2012, 2015) pour leur utilisation comme source de fibres alimentaires, ainsi que l'étude des propriétés biologiques de CP tels que l'activité antibactérienne (Obied *et al.*, 2007) et l'activité anti-oxydante de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol (Lafka *et al.*, 2011). Cette valorisation d'une part, a pour objectif de récupérer et d'exploiter les activités biologiques des CP et d'autre part, d'utiliser les margines dans les domaines de la biotechnologie, de la chimie, de l'agriculture et voire même du génie civil (De La Casa *et al.*, 2009 ; El-abbassi *et al.*, 2017). Les différentes filières de valorisation des margines sont illustrés dans la figure 7.

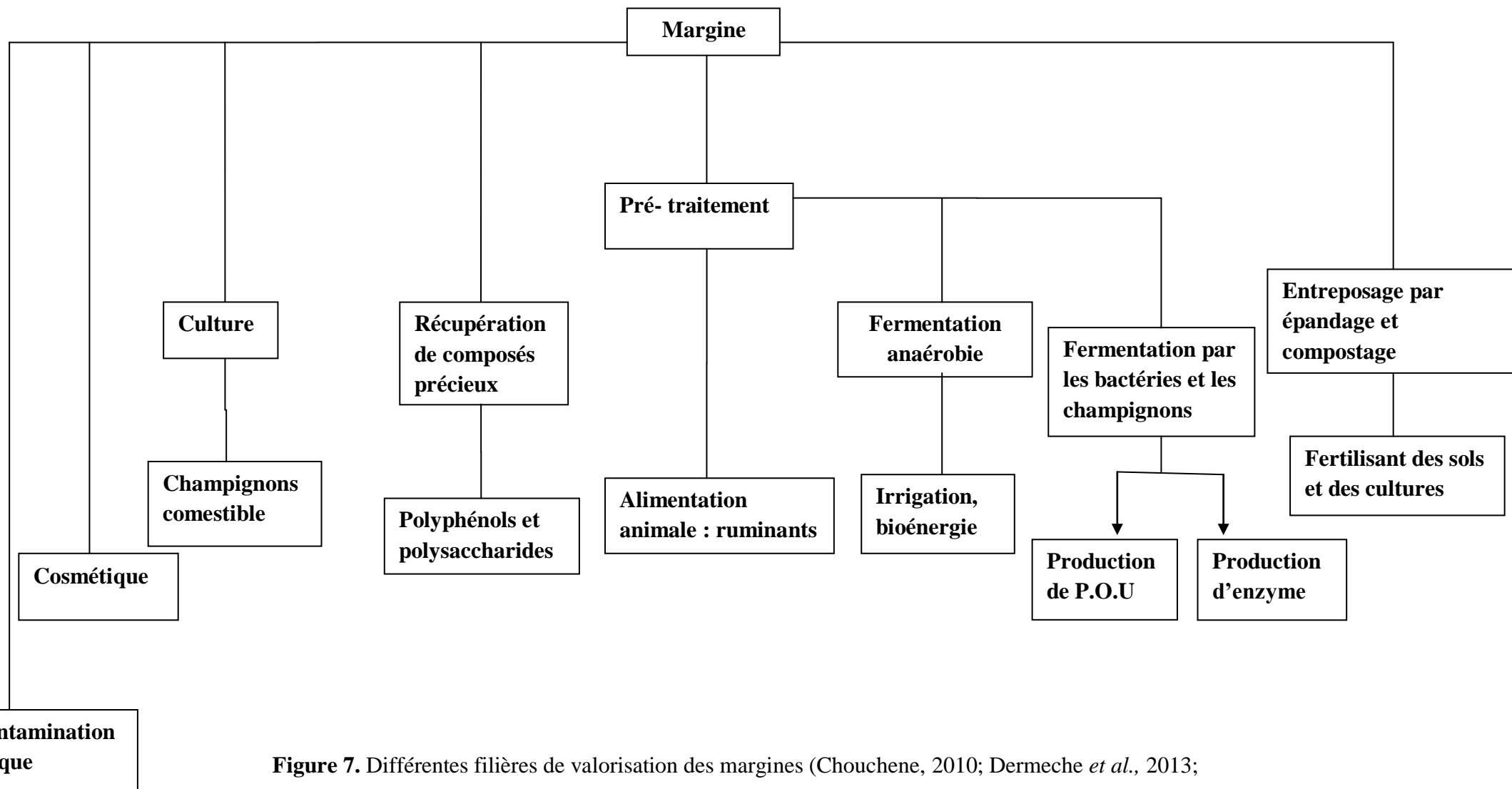


Figure 7. Différentes filières de valorisation des margines (Chouchene, 2010; Dermeche *et al.*, 2013; Prodrigues *et al.*, 2015 ; El-abbassi *et al.*, 2017)

III. Généralités sur les emballages comestibles et/ou bioactifs

III.1. Emballages comestibles

III.1.1. Définition

Un emballage comestible est un film, un enrobage ou une couche mince protectrice qui entre en interaction avec l'aliment ou s'adapte à son environnement pour le protéger, le conserver afin de maintenir ses qualités hygiéniques, nutritionnelles et organoleptiques le plus longtemps possible en agissant sur les divers mécanismes d'altération pour ralentir ou supprimer les effets (Multon, 1998). Il possède des propriétés : sélectives (vis-à-vis des transferts) il est utilisé pour une limitation du flux d'oxygène arrivant au contact de l'aliment (lipides, vitamines, etc.) permet de limiter l'oxydation, active lorsqu'il fait une partie intégrante du procédé de préparation et de conservation de l'aliment ou lorsqu'il est conçu pour être lui même l'agent essentiel de la conservation du produit. Ce sont les emballages « actifs » et/ou les emballages comestibles qui réagissent aux modifications du milieu extérieur et interagissent avec l'aliment (Gontard, 2000).

Selon (Guilbert et Gontard, 1992). Les emballages comestibles se présentent principalement sous deux aspects (Al Mahdi (2006) :

1. Structures indépendantes de l'aliment: sachets, films, enveloppes, barquettes (destinées à contenir des fruits ou de la viande) ;
2. Produits directement appliqués à l'aliment: lors de l'enrobage tel que le chocolat autour du biscuit dans la « barre chocolatée » ou la cire de paraffine autour de certains fruits, le sucre autour de l'amande dans les dragées.

III.1.2. Qualités requises et fonctions des films et enrobages comestibles

Plusieurs qualités sont requises pour l'utilisation des emballages comestibles. De part leur qualification, ces emballages sont comestibles et peuvent être ingérés. De ce fait, ils nécessitent de présenter une stabilité biochimique, microbiologique et physico-chimique supérieures à celle du produit destiné à être protégé et ils ne doivent présenter aucune toxicité. De plus, ils doivent avoir des propriétés sensorielles favorables ou neutres vis-à-vis de l'aliment concerné. En revanche la résistance mécanique et une efficacité barrière élevée sont également recherchées. Enfin, étant constitué de polymères naturels (protéines, polysaccharides, lipides), d'ingrédients et d'additifs alimentaires, ils ne sont donc pas ou très peu polluants et sont facilement dégradés. Par ailleurs, des technologies d'application ou de fabrication simples à

mettre en œuvre ainsi que des matières primaires de faible coût sont souhaitables (Debeaufort, 1994).

Les fonctions des emballages comestibles sont variées. Ils peuvent être utilisés pour leurs propriétés barrières, c'est à dire leur sélectivité ou capacité à ralentir les transferts et migrations de diverses substances (eau, gaz, lipides, arômes, pigments, etc.), entre l'aliment et son environnement ou entre divers constituants d'un aliment hétérogène dans le but de prolonger la durée de conservation des produits alimentaires (Guilbert et Cuq, 1998).

Ces emballages peuvent également présenter un rôle actif dans le sens où ils peuvent améliorer les qualités organoleptiques, biochimiques, hygiéniques, microbiologiques et/ou physico-chimiques des aliments ainsi emballés. Ce rôle consiste à servir de support pour des substances actives (médicaments, vitamines, antioxydants, antimicrobiens, etc.), des agents de surface (colorants, agents brillants, etc.), des arômes, ou encore à renforcer la structure de produits fragiles (Debeaufort, 1994).

III.1.3. Application des films et enrobages comestibles

III.1.3.1. Films et enrobages comestibles sans additif bioactif

Les films et enrobages comestibles peuvent être considérés comme un des facteurs de conservation. Les couches superficielles actives contribuent directement à la préservation des aliments, par exemple en contrôlant les échanges gazeux (vapeur d'eau, oxygène, dioxyde de carbone, éthylène, etc.) ou en modifiant et contrôlant les conditions à la surface des aliments (pH, rétention d'agents fonctionnels, libération contrôlée d'additifs, etc.), ils peuvent être considérés également comme un paramètre complémentaire et parfois irremplaçable dans la maîtrise de la qualité et de la stabilité de nombreux aliments frais, transformés ou congelés. Bien que de nombreuses fonctions des films et enrobages comestibles soient identiques à celles des emballages synthétiques conventionnels, leur utilisation implique généralement la présence d'un suremballage non comestible, notamment pour des raisons d'hygiène. La présence de films et d'enrobages comestibles peut être mise à profit pour mettre en œuvre un suremballage avec des matériaux conventionnels moins performants et moins coûteux (Guilbert et Cuq, 1996).

III.1.3.2. Films et enrobages bioactifs

L'emballage alimentaire joue un rôle essentiel dans la protection de la qualité et de la sécurité des aliments dans la chaîne d'approvisionnement alimentaire. Il contribue à protéger les aliments contre les contaminants physiques, chimiques, biologiques et environnementaux.

Le choix des matériaux d'emballage et la conception jouent également un rôle essentiel dans la durée de conservation du produit (Hervé, 2002)

Ces dernières années, les biopolymères ont été utilisés comme matériaux d'emballage des aliments comestibles afin de résoudre les problèmes suivants matériaux d'emballage à base de pétrole et leur nature récalcitrante. Plusieurs biopolymères, à savoir le chitosan, l'alginate, le carraghénane, la pectine, la cellulose, le gellan, etc. ils sont utilisés pour des applications d'emballage alimentaire. Parmi ceux-ci, les alginates sont les plus privilégiés, qui sont des biopolymères polysaccharides hydrophiles naturels extraits d'algues brunes marines (Phéophycées) constitués de chaînes linéaires en α -1,6 d'acides polyuroniques. Actuellement de nombreux films utilisés sont obtenus par réticulation ou gélification des alginates en présence ou non d'agents de pontage (Ca^{2+}) en solution (Nisperos-Carriedo, 1994), par séchage et par précipitation d'alcool (Wong *et al.*, 1996). Ils ont une bonne propriété filmogène et aident à retenir l'humidité, réduire le retrait et améliorer les caractéristiques sensorielles des produits alimentaires. Les enrobages d'alginate peuvent réduire la numération microbienne et retarder les mauvaises saveurs oxydatives ; ils peuvent améliorer l'acceptation sensorielle et minimiser les pertes à la cuisson ; ils permettent de lutter contre l'oxydation et la déshydratation superficielle des produits carnés ou des poissons frais (Theagarajan *et al.*, 2019).

Les alginates permettent la fabrication d'emballages transparents et inodores qui présentent cependant de médiocres propriétés mécaniques. Ils permettent d'améliorer l'aspect et de limiter le collant des différents produits alimentaires. Ainsi ils peuvent les protéger contre le rancissement ou la dessiccation par des propriétés barrières à l'oxygène et à l'humidité (Al Mahdi., 2006).

❖ Structure des films et enrobages bioactifs

Selon Al Mahdi (2006), La composition des films et enrobages comestibles est très variée, plusieurs substances sont utilisées soit comme additifs dans la formulation de films et enrobages barrière pour optimiser leurs propriétés fonctionnelles, soit comme agents technologiques afin de faciliter la préparation des solutions, suspensions et émulsions filmogènes ou encore pour faciliter l'adhésion ou limiter l'écoulement de l'enrobage sur le produit support. On peut ainsi citer :

- Les émulsifiants et agents texturants pour stabiliser les émulsions et les suspensions ;
- Les acides ou les bases utilisés pour faciliter la solubilisation des protéines ;

- Des agents pontants pour augmenter la réticulation des systèmes protéiques (sulfites, aldéhydes) ;
- Des antioxydants (acide ascorbique) ou encore des antimicrobiens ;
- Des enzymes peuvent favoriser la création de liaisons intra-ou intercaténaies, telles que les transglutaminases, ou la solubilisation de biopolymères par une action d'hydrolyse.

❖ **Effet de l'ajout des substances bioactifs**

Aujourd'hui, l'emballage bioactif constitue l'un des concepts innovants d'emballage alimentaire qui ont été introduits en réponse aux changements continus des demandes actuelles des consommateurs et du marché. Les nouvelles techniques d'emballages sont basées spécialement sur l'incorporation des antimicrobiens, des antioxydants, des enzymes ou des ingrédients fonctionnels. Les films comestibles fabriqués à partir de biopolymères constituent une alternative aux emballages alimentaires synthétiques, en raison de leur comestibilité, de leur biodégradabilité et de leur compostabilité, ainsi que de leur utilisation comme emballages actifs (Benbettaieb *et al.*, 2017).

Les composés actifs incorporés dans les films comestibles pourraient protéger les aliments contre la détérioration pendant le stockage et donc prolonger leur durée de conservation. Ces films actifs ont été principalement étudiés pour leur bioactivité, en tant qu'antimicrobiens ou antioxydants. Cependant, ils pourraient également améliorer la structure et les propriétés physico-chimiques des films par le biais de liaisons chimiques avec des groupes réactifs des chaînes polymères, par exemple. De plus, la modification de la structure du film par une réaction de réticulation peut augmenter la cohésion entre les chaînes de polymères et les composés actifs, et donc leur rétention dans le réseau de polymères afin de mieux contrôler leur libération (Benbettaieb *et al.*, 2017).

IV. Bioconservation de la viande

IV.1. Qualité de la viande

La qualité se définit comme l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites en vue de son utilisation à la consommation et/ou à la transformation. En ce qui concerne la viande cette qualité regroupe plusieurs critères qui sont indiqués dans le tableau VIII.

Tableau VIII. Caractéristiques qualitatives importantes de la viande.

Qualités	Caractéristiques	Références
Organoleptique	Propriétés sensorielle -Tendreté - Couleur : ni trop pâle ni trop foncée et de couleur homogène -Flaveur / le goût et l'odorat. - Jutosité	(Oual <i>et al.</i> , 2006) (Coibion <i>et al.</i> , 2008) (Micol <i>et al.</i> , 2010).
Technologiques	Correspond à l'aptitude de la viande à la transformation et à la conservation	(Monin <i>et al.</i> , 1991)
Hygiénique et sanitaire	Contrôle microbiologique pour la santé du consommateur.	(Coibion <i>et al.</i> , 2008)
Nutritionnelle	Excellente source nutritive : richesse en protéine de haute valeur biologique, alimentation équilibrée	(Salifou <i>et al.</i> , 2013)

IV.2. Facteurs d'altérations de la viande

Selon Bruckner *et al.* (2012), l'altération de la viande est influencée par un grand nombre de facteurs :

- Les facteurs intrinsèques qui sont une expression des propriétés physique et chimique des produits alimentaires eux-mêmes (activité de l'eau, structure du tissu musculaire, la teneur en nutriments, la valeur du pH, la charge microbienne présente sur la surface de la viande ;
- Les facteurs extrinsèques : à savoir des conditions de stockage (température, la composition de l'atmosphère et la disponibilité de l'oxygène) ;

- Les facteurs de transformation et de conservation : (méthodes physiques ou chimiques) ;
- Les facteurs implicites : lesquels sont le reflet des effets synergiques ou antagonistes entre les bactéries.

IV.3. Contamination de la viande

La viande, par sa composition et ses caractéristiques physico-chimiques (activités d'eau, pH) associées à certains facteurs environnementaux constitue un bon milieu de développement pour les microorganismes. Cette microflore de contamination comprend essentiellement les germes saprophytes et éventuellement une flore pathogène responsable de maladies.

IV.4. Conséquences sanitaire

La consommation d'une viande contaminée par des bactéries pathogènes précède de nombreuses maladies d'origine alimentaire (Nouich et Hamdi, 2009) avec des conséquences sur la santé humaine allant de la maladie à la mort (Iroha *et al.*, 2011). Les manifestations cliniques des germes pathogènes altérant la viande sont représentées dans le tableau IX.

Tableau IX. Germes pathogènes de la viande et signes cliniques (Chougui, 2015).

Bactéries	Intoxication / symptômes
<i>Clostridium botulinum</i> types : A,B,E.	Dédoubllement de la vision, gorge sèche, puis paralysie des muscles (respiratoires) et mort en absence de traitement
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vomissements suivi quelques heures après des diarrhées, Guérison rapide ; mais risque d'hypotension parfois mortelle,
<i>Salmonella, Shiguella</i>	Gastro-entérite aigues, forte fièvre, vomissements 2j après convalescence longue et mort parfois
<i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i>	Douleurs abdominales, diarrhées, parfois vomissements 14j après et guérison rapide
<i>E. coli vérotoxino-gène</i>	Coliques hémorragiques, défaillance rénale aigue
<i>Listéria monocytogene</i>	Si immuno-déprimé : méningite (maux de tête), avortement

IV.5. Méthodes de conservation de la viande

La conservation de la viande est devenue essentielle pour son transport pour de longues distances sans altérer la texture, la couleur et la valeur nutritive après le

développement et la croissance rapide des supermarchés (Nychas *et al.*, 2008). Les viandes sont des denrées très périssables ; leur production industrielle n'est envisageable que si elle est associée à des méthodes de conservation fiables et de durée convenable. La conservation est le procédé de traiter et manipuler les nourritures d'une manière telle qu'elle peut arrêter ou ralentir la croissance des bactéries, champignons et autres microorganismes ainsi que de retarder l'oxydation des graisses qui provoque le rancissement.

Les méthodes traditionnelles de conservation de la viande telles que le séchage, le fumage, le saumurage, la fermentation, la réfrigération et la mise en conserve ont été remplacées par de nouvelles techniques de conservation telles que l'ajout de produits chimiques et les techniques non thermiques (Zhou *et al.*, 2010).

Les méthodes actuelles de conservation de la viande sont largement classées en trois méthodes visant au contrôle de la température, le contrôle de l'activité de l'eau et l'utilisation de produits chimiques ou de bio-conservateurs (Zhou *et al.*, 2010). Une combinaison de ces techniques de conservation peut être utilisée pour diminuer le processus de détérioration (Bagamboula *et al.*, 2004).

IV.5.1. Utilisation de bioconservateurs antioxydants

L'utilisation d'antioxydants est une action primordiale de l'industrie de la viande pour augmenter la durée de conservation de leurs produits (Lorenzo *et al.*, 2018). Ces composés exercent un rôle spécifique, par exemple, rompre la chaîne oxydative réaction, chélater les métaux de transition et piégeant les radicaux libres et des espèces réactives, empêcher l'activité antimicrobienne (Augustyniak *et al.*, 2010). Cependant, l'impact incertain de sources synthétiques d'antioxydants dans la santé a été considéré comme inconvenant pour les consommateurs en raison du risque potentiel pour la santé.

Dans ce scénario conflictuel d'utilisation à grande échelle dans les produits carnés et les produits de santé, les antioxydants synthétiques sont suggérés pour être remplacés par des composés naturels dans l'industrie de la viande (Fernandes *et al.*, 2016).

IV.5.2. Conservation sous vide

Le système d'emballage sous vide vise à protéger les viandes de tout contact avec l'oxygène de l'air, en inhibant la croissance des microorganismes aérobies qui peuvent changer l'odeur, la couleur et l'apparence et qui provoque le rancissement par oxydation des graisses, la destruction des vitamines et les arômes (Sarantopoulos *et al.*, 2001). Cependant, d'autres bactéries peuvent se développer même dans ces conditions, pour cela l'emballage

doit contenir un niveau d'oxygène trop faible, la température de la viande au cours de stockage doit être proche de 0°C, le pH doit être près de 5.6, la contamination initiale de la viande doit être minimale. Ce système utilise des films barrières de sécurité flexible avec une très faible perméabilité à la vapeur d'eau, des arômes et des gaz, en particulier l'oxygène. Le vide à l'intérieur du paquet est obtenu par l'élimination complète de l'air de l'espace associé à un scellage approprié en utilisant des machines de thermosoudage (Sarantopoulos *et al.*, 2001).



2^{ème} Partie :
partie
expérimentale



***Matériel et
méthodes***

Objectifs de la présente étude

Notre travail a été effectué en deux parties :

- La première partie est consacrée à l'évaluation de quelques activités biologiques d'extraits de margines et de *Carthamus caeruleus* L.
- La deuxième partie est scindée à l'étude de l'effet de l'extrait phénolique sur une matrice alimentaire (viande).

Lieu d'étude.

La présente étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de biochimie analytique et biotechnologie, faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou (UMMTO).

I.1. Matériel

I.1.1. Appareillage et verrerie de laboratoire

Les appareils, la verrerie et autres petits matériel utilisés sont présentés dans le tableau X. Les milieux de culture, les solvants et les réactifs chimiques figurent dans le tableau XI.

Tableau X. Appareils et matériel utilisés.

Appareillage	Verreries	Petits matériel et consommables
-Autoclave	-Tubes à	-Bec bunsen
-Rotavapor	hémolyse	-Pincés, anses à boucle, spatule,
-Congélateur	-Béchers	micropipettes,
-Réfrigérateur	-Entonnoirs,	barreaux magnétiques,
-Bain marie	capsule	pipettes pasteur
-Balance de précision à 0,01mg	-Eprovettes	-Boites de Pétrie en verre
Balance	-Fioles jaugées	-Boites de Pétrie en plastique
-Vortex	-Erlensmeyers	-Disques de papier wattman N°1.
-Etuve bactériologique 37°C	-Tubes à essai	-Eppendorfs, cryotubes
-Spectrophotomètre	stériles	cuves, embouts jaunes et bleus
-Agitateur magnétique	-Flacons	-Portoirs pour tubes
		-Ecouvillons

Tableau XI. Milieux de cultures, solvants et réactifs utilisés.

Milieux de culture	Solvants	Réactifs et autres produits
-Gélose nutritive (GN)	-Ethanol à 96%	-Folin –Ciocalteu
-Gélose Mueller Hinton (MH)	-Acétate d'éthyle	-DPPH (2.2.Diphényl-1-Picryl-Hydrazyle)
-Gélose Chapman	-DMSO (Diméthylsulfoxyde)	-HCl (4N)
		-Carbonate de sodium(Na_2CO_3) à 7%
		-Acide gallique
		-Alginate

I.1.2. Matériel biologiques

❖ La viande

L'étude est portée sur la viande de veau provenant d'une boucherie de Tizi-Ouzou.

❖ La poudre de la racine *Carthamus caeruleus* L

Préalablement préparée au laboratoire. Cette plante a été récoltée en printemps (mois d'avril 2020) dans la région de Tizi-Gheniff.

❖ Les margines

Provenant d'une huilerie (Tizi Rached), conservée dans des bouteilles de 1L en plastiques au congélateur à $-40\text{ }^\circ\text{C}$.

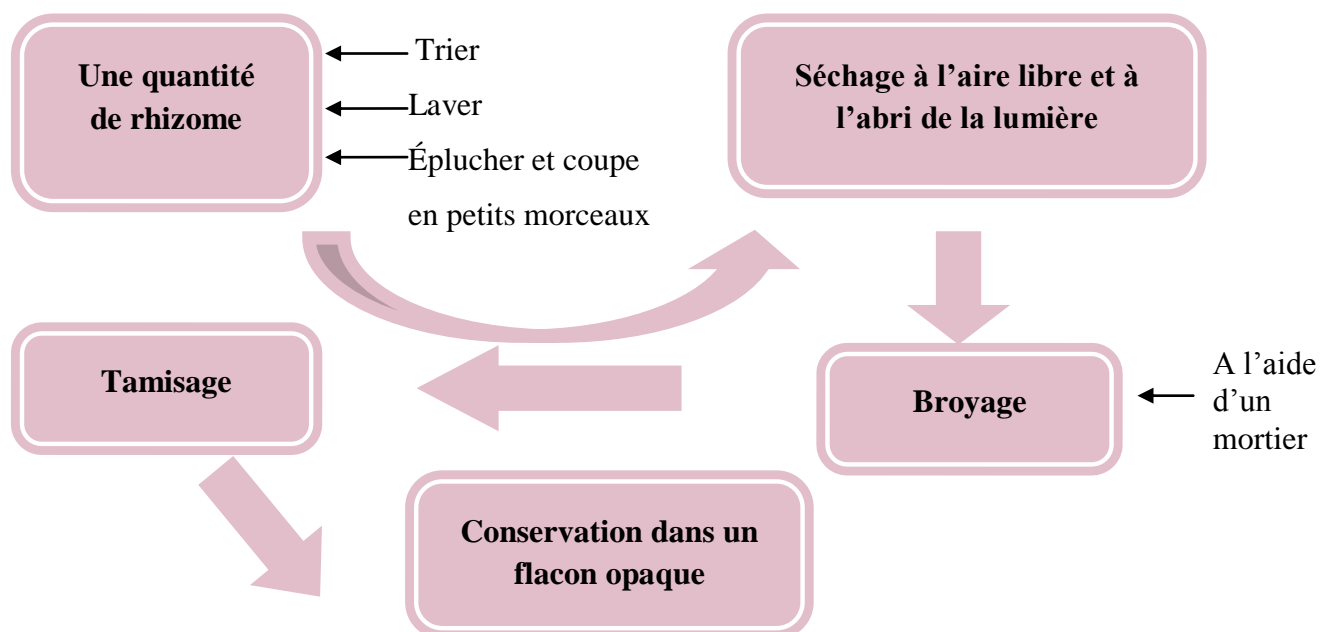


Figure 8. Diagramme récapitulatif des étapes de récupération de la poudre de *Carthamus caeruleus* L.

I.2. Méthodes expérimentales

I.2.1. Préparation des extraits

I.2.1.1. Extraction de composés bioactifs à partir de la plante *Carthamus caeruleus* L

La méthode d'extraction suivie dans cette étude est l'extraction par macération effectuée selon le protocole de Turkmen *et al.* (2006) avec quelques modifications. Une quantité de 5g de poudre de la racine de *Carthamus caeruleus* L est mélangée dans un volume de 50 ml d'éthanol à 96% et une autre quantité avec de l'acétate d'éthyle, ces mélanges sont ensuite versés dans un bécher de 250 ml porté sous une agitation magnétique pendant 2h à température ambiante. Après centrifugation à 4000 rpm/10 minutes, le surnageant récupéré fut évaporé à l'aide d'un rotavapor à une température de 55 °C. L'extrait sec résultant est reconstitué dans un volume minimum d'éthanol à 96% ou du DMSO à 10%. Les extraits organiques sont alors conservés à 4°C, à l'abri de la lumière dans le but de préserver la stabilité des principes actifs présents jusqu'à leur utilisation ultérieure. Ce procédé est décrit par le schéma représenté dans la figure 9.

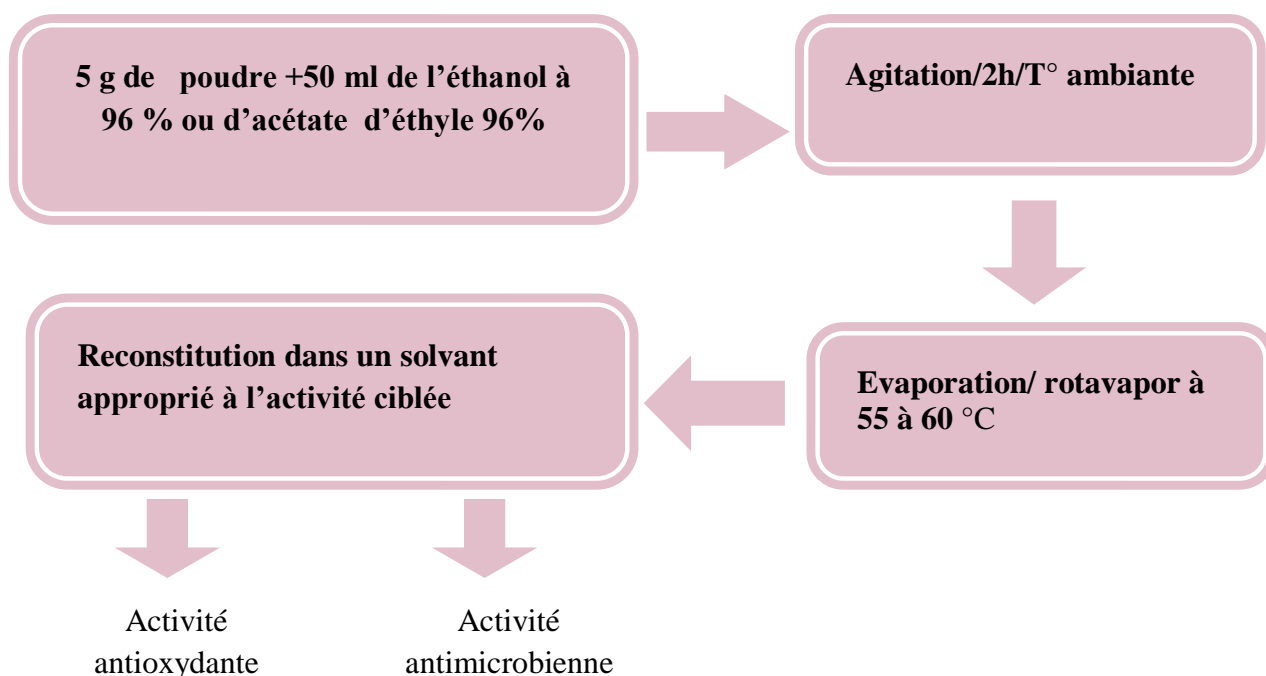


Figure 9. Diagramme récapitulatif des différentes étapes de l'extraction des composés phénoliques de la poudre *Carthamus caeruleus* L Turkmen *et al.* (2006)

I.2.1.2 Extraction de composés bioactifs des margines

Un volume de margines est additionné d'acétate d'éthyle. Un autre volume est acidifié en incorporant un volume de l'HCl avant l'ajout du même solvant (l'acétate d'éthyle, v/v). Le mélange est ensuite mis dans un flacon de 500 ml sous une agitation magnétique pendant 2h à température ambiante. L'ensemble est centrifugé à 4°C, à une vitesse de 4000 tours/15min. Après centrifugation le mélange est complètement séparé en deux phases : le solvant riche en polyphénols (surnageant) et les margines (résidus) (figure 11). Le surnageant récupéré est évaporé à l'aide d'un rotavapor à une température de 55 °C. Après évaporation totale du solvant, l'extrait sec résultant est reconstitué dans un volume minimum du DMSO à 10%. Les extraits obtenus sont notés comme suit : M-A pour l'extrait résultant directement avec l'acétate d'éthyle et M-A-A pour celui acidifié en premier avant de procéder à l'extraction avec l'acétate d'éthyle.

Les extraits organiques sont ensuite conservés dans des flacons à 4°C, à l'abri de la lumière dans le but de préserver la stabilité des principes actifs présents jusqu'à leur utilisation ultérieure. Ce procédé est décrit par le schéma représenté dans (figure 10).

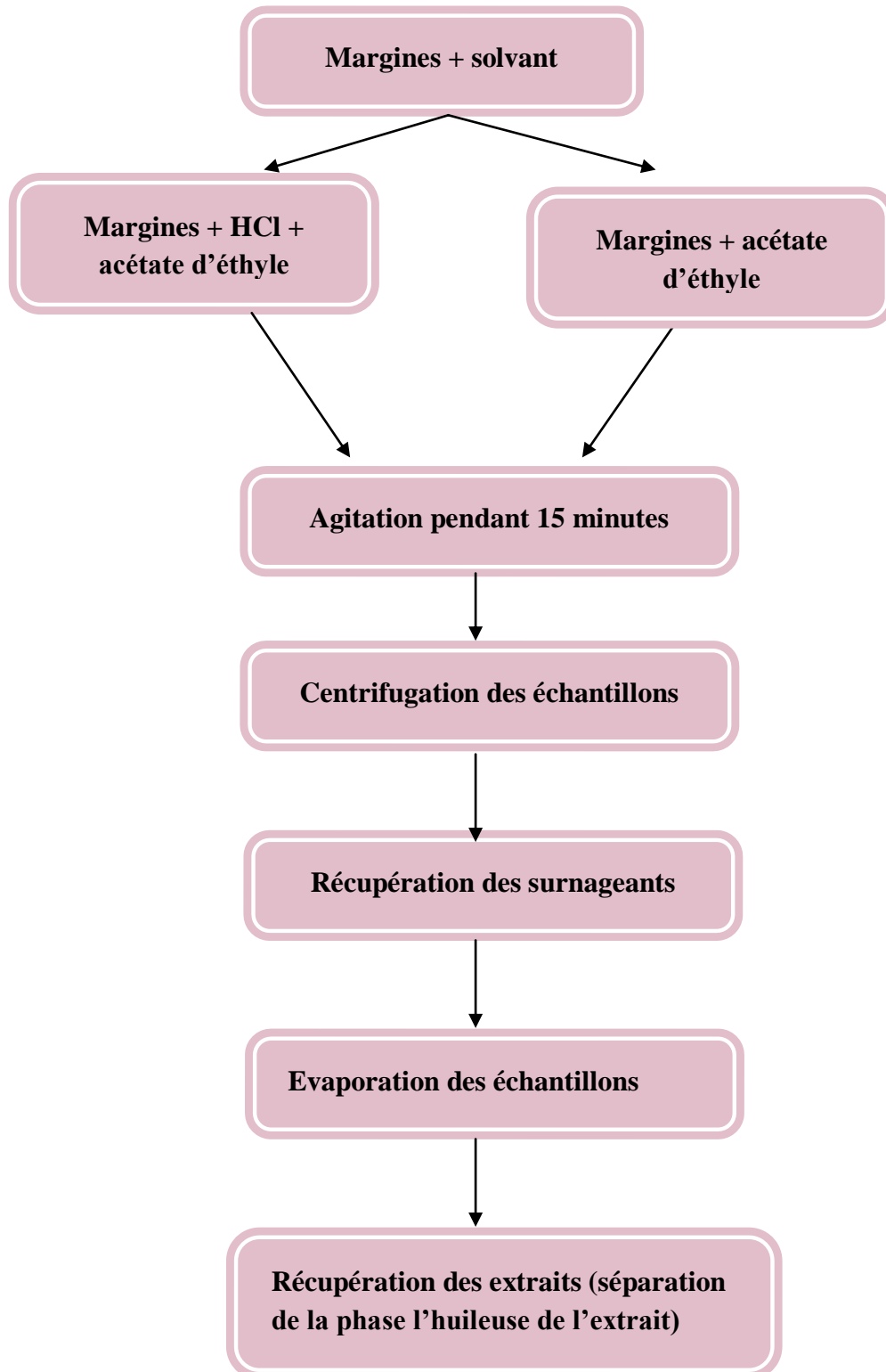


Figure 10. Diagramme récapitulant les différentes étapes de l'extraction des composés phénoliques des margines.

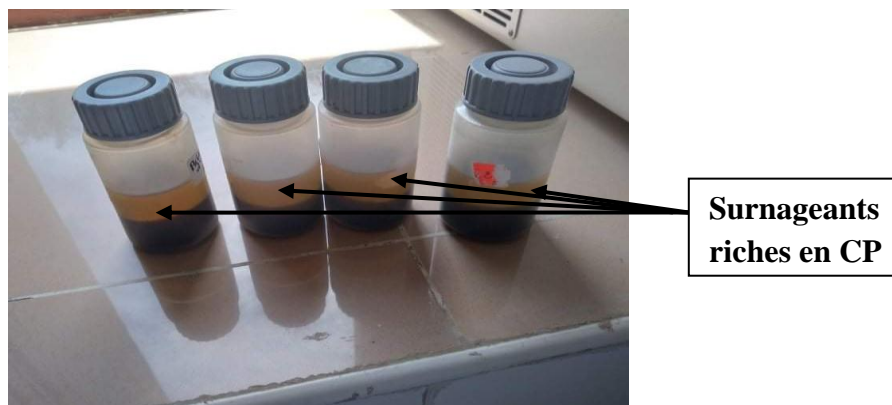


Figure 11. Photographie montrant la séparation de phases après centrifugation.

I.2.2. Dosage des polyphénols totaux

❖ Principe

Le principe de cette méthode repose sur l'interaction des CP avec le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un complexe de coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques se trouvant dans le milieu, et donnant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 750 nm (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1968).

❖ Protocole expérimental

Le contenu en phénols totaux des extraits a été déterminé en utilisant le protocole de Yap *et al.* (2009). Avec quelques modifications. La quantification des CP a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire, de la forme $y = ax$, réalisée en utilisant l'acide gallique comme standard (figure 13). La concentration des CP est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 $\mu\text{g/ml}$), les résultats sont ainsi exprimés en équivalents de ce dernier (figure 12).

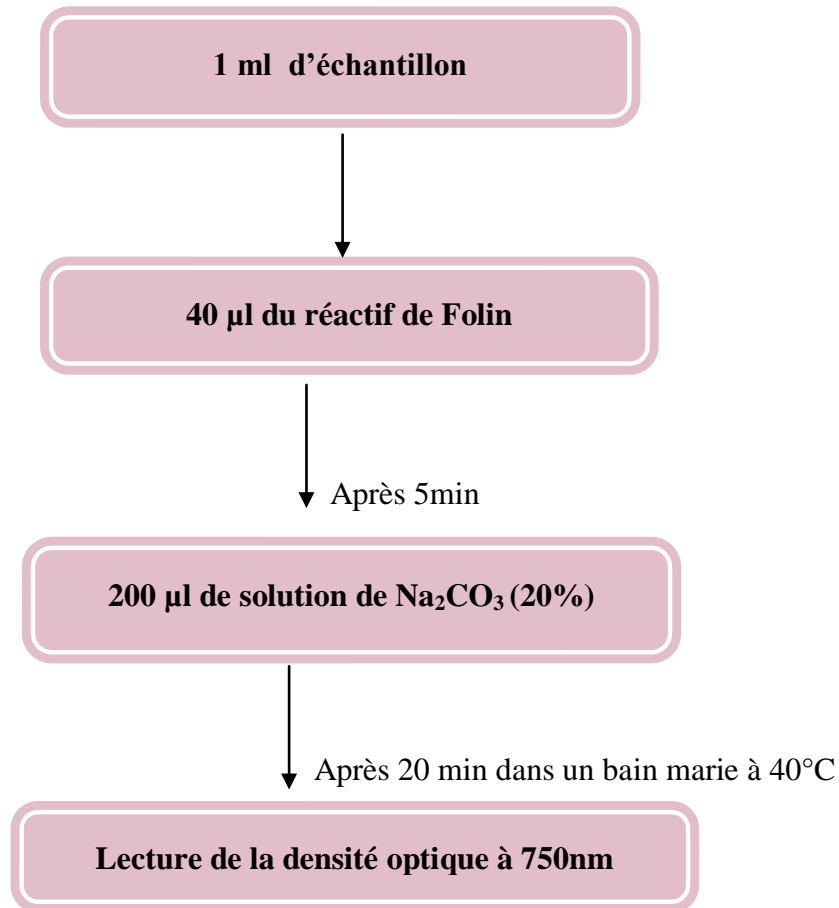


Figure 12. Protocole de dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu (Yap *et al.*, 2009).

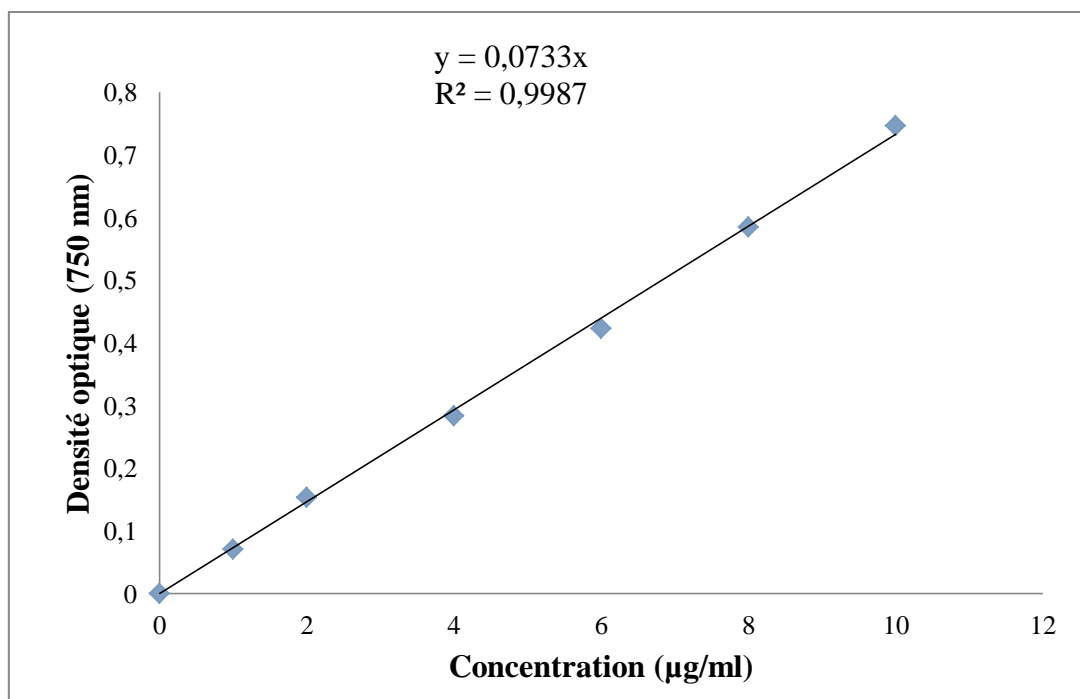


Figure 13. Courbe étalon établie pour le dosage des polyphénols des extraits phénoliques

$$I\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ test}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs Contrôle : Absorbance de la solution du DPPH.

Abs test : Absorbance de l'extrait.

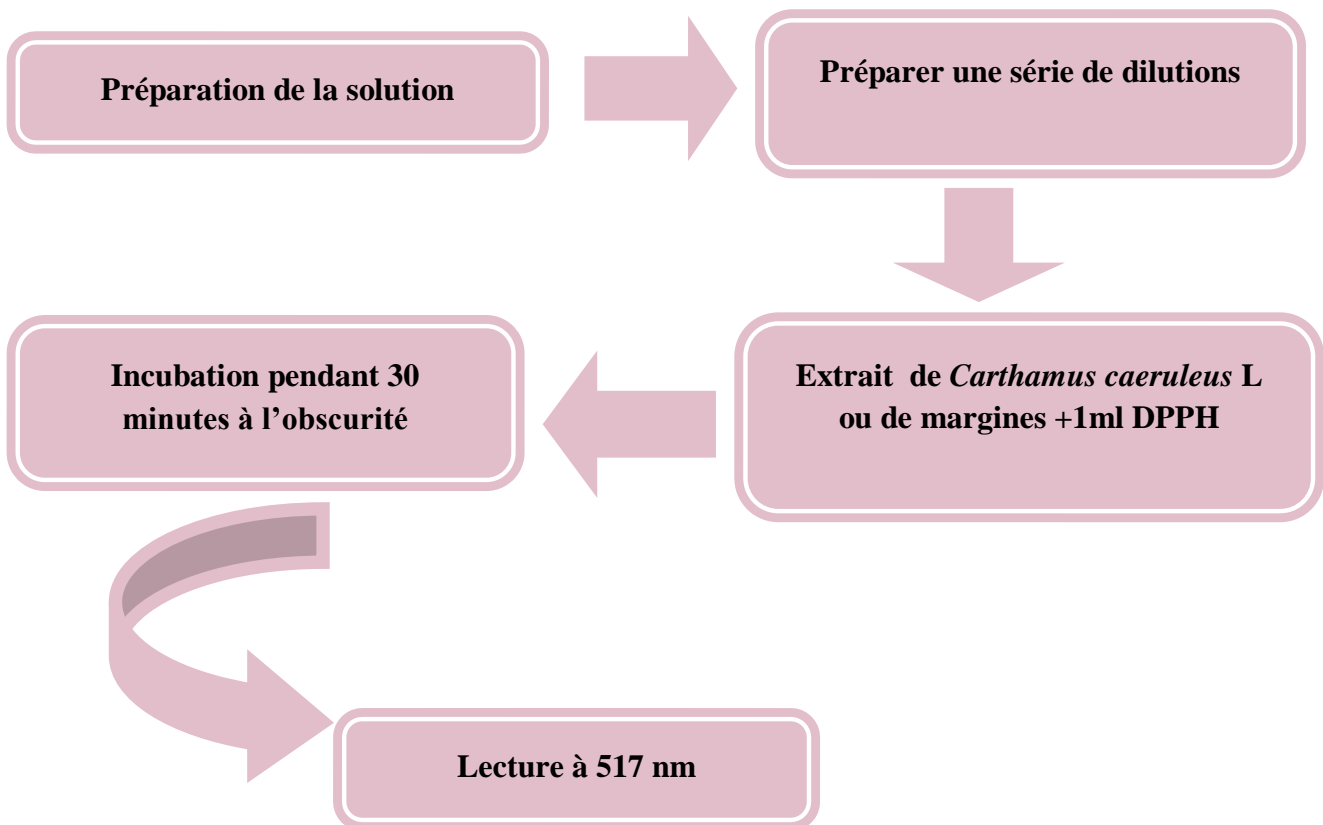


Figure 15. Diagramme récapitulatif du protocole de l'étude de l'activité antioxydante des extraits (Molyneux, 2004).

I.2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne, la méthode utilisée repose sur la diffusion des extraits à partir de disques sur un milieu solide. Les résultats sont exprimés par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques, plus la zone est importante plus la sensibilité des souches est élevée vis-à-vis de la concentration testée.

I.2.4.1. Souches microbiennes utilisées

Les souches utilisées dans les tests de l'activité antimicrobienne font parties de deux catégories de souches microbiennes : souches de références et souches isolées à partir d'échantillon de lait (tableau XII). L'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de diffusion à partir de disques sur milieu solide.

Tableau XII. Souches bactériennes testées.

Origine	Souches
Souches de référence	<i>Escherichia coli</i> ATCC 225922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	<i>Staphylococcus aureus</i> MU 50
	<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603
Souches isolées à partir du lait	<i>Bacillus cereus</i> (4)
	<i>Bacillus licheniformis</i> (3.3)
	<i>Pseudomonas putida</i> souche (13B)

I.2.4.2. Revivification des souches bactériennes

Dans une zone stérile, la revivification des souches microbiennes est réalisée à partir des tubes de conservation sur bouillon BHIB incubé pendant 24h /37°C. Les inoculums bactériens obtenus sont repiqués sur la gélose nutritive et incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h.

I.2.4.3. Culture des souches bactériennes

Les bactéries étudiées sont repiquées dans un milieu nutritif par la méthode des stries, et dans des conditions stériles puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 heures. Cette étape permet l'obtention d'une culture jeune et des colonies bien isolées qui vont servir à préparer l'inoculum.

I.2.4.4. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir des cultures bactériennes jeunes dans de l'eau physiologique 0.9% stérile. Les colonies isolées sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et homogénéisées dans de l'eau physiologique par un vortex. Cette suspension est diluée jusqu'à l'obtention d'une opacité, selon Mac Farland, proche de 10^8 - 10^7 UFC/ml correspondant à une DO de 0,08 à 0,1 mesurée à 625 nm.

I.2.4.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

- **Mode opératoire**

Dans des conditions stériles, le milieu MH est uniformémentensemencé à l'aide d'un écouvillon stérile par la suspension de la souche à tester. Des disques en papier absorbant de Whatman de 6 mm de diamètre, stérilisés à l'autoclave, sont imprégnés de 20µl d'extrait puis déposés sur la boîte à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Les manipulations sont répétées 2 fois pour chaque test.

I.2.4.6. Lecture des résultats

Les disques apparaissent, après incubation à l'étuve, entourée d'une zone d'inhibition, dont le diamètre permet de déterminer la sensibilité des germes vis-à-vis de l'extrait phénolique. La lecture des résultats se fait en se basant sur la mesure des zones d'inhibition obtenues. La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition. L'estimation de la sensibilité des souches est exprimée dans le tableau XIII.

Tableau XIII. Estimation de la sensibilité des souches.

Diamètre (mm)	Activité antimicrobienne	Souche
D < 8	Nulle	Résistante
9 < D < 14	Faible	Sensible
15 < D < 19	Moyenne	Très sensible
>20	Forte	Extrêmement sensible

I.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des films préparés

I.2.5.1. Préparation des films avec ou sans extraits de margines

Un film alimentaire est une couche mince de matériaux filmogènes comestibles formée directement sur les aliments (enrobages) ou pré-formée (films) et placée sur la surface d'un

aliment ou entre les différents compartiments d'un aliment hétérogène. Un emballage doit mieux préserver l'aliment des agressions microbiennes, physiques et chimiques intervenant de l'environnement.

❖ Méthode

Le protocole expérimental utilisé est celui décrite par (You et *al.*, 2019) avec quelques modifications. Il comporte deux étapes :

• Etape1.

Une solution d'alginate préparée dans de l'eau distillé, est additionnée d'une quantité de margines ou de l'extrait étudiée (margines brutes, M-A-A, M-A), le mélange est ensuite agité à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant pendant 1h.

• Etape2.

La solution filmogène est coulée sur des boites en verre puis placés dans l'étuve jusqu'à leur séchage. Les films secs sont alors démoulés et conservés. Ainsi, quatre films sont obtenus (figure 16) :

- a) Film sans extrait (témoin) ;
- b) Film + Margines brutes ;
- c) Film+ M-A-A (Margines +AC +HCl) ;
- d) Film + M-A (Margines + AC).

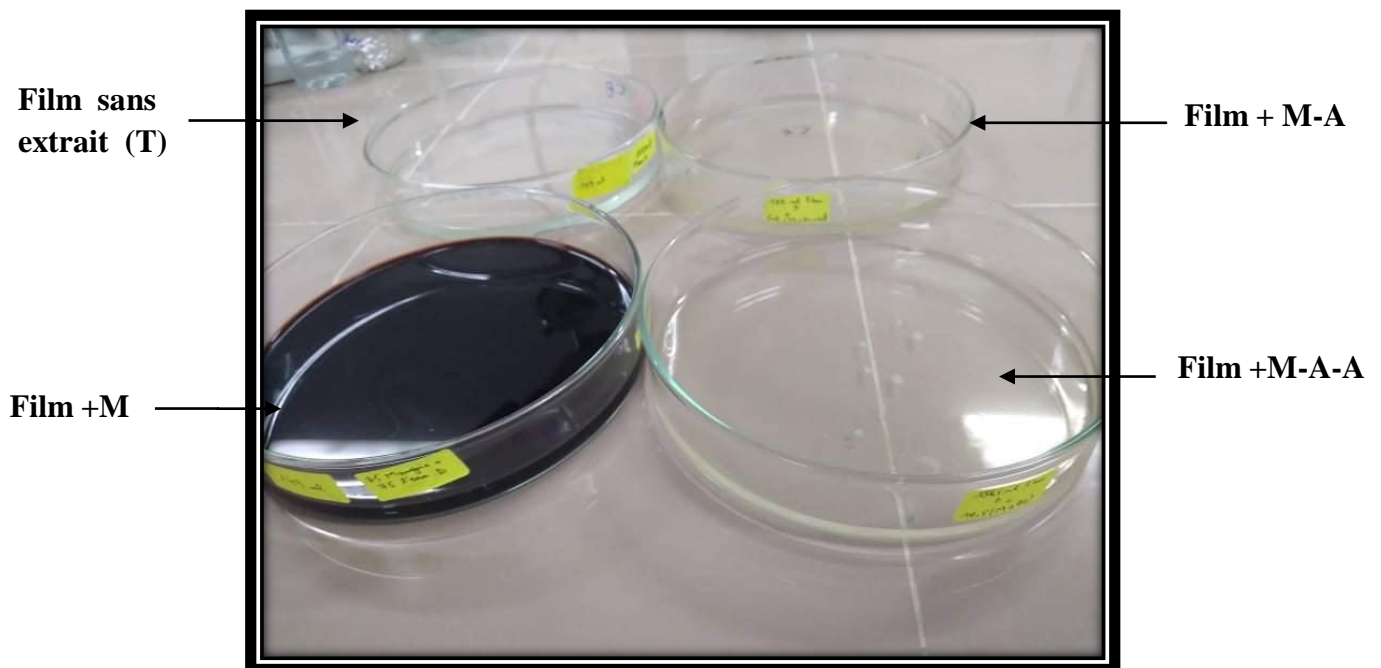


Figure 16. Photographie de différents films préparés.

(T : témoin ; M : margines brutes ; M-A-A: margines + AC +HCl ; M-A : margine + AC)

I.2.5.2. Evaluation de l'activité antioxydante des films en utilisant le test DPPH

❖ Méthode

Le protocole expérimental utilisé est celui décrite par (You et *al.*, 2019) avec quelques modifications.

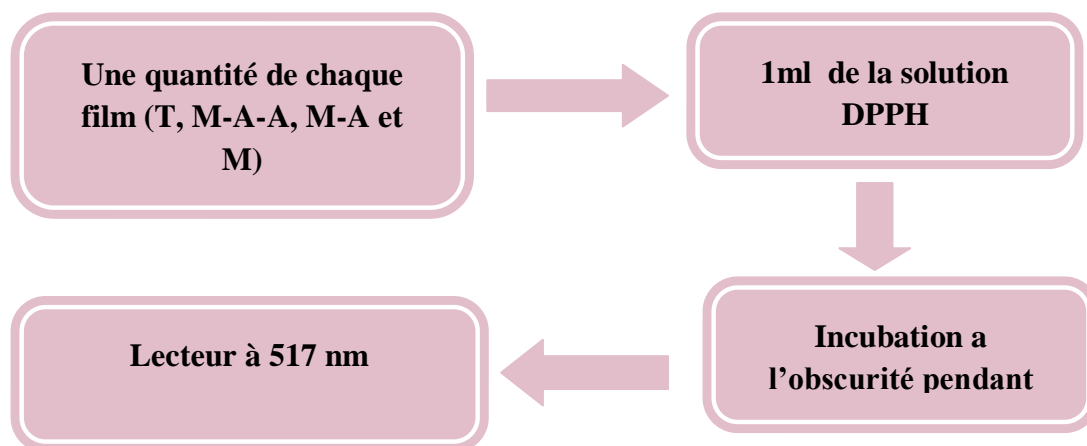


Figure 17. Protocole de l'évaluation de l'activité antioxydante des films.

I.2.5.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des films

Les souches microbiennes utilisées sont le *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. L'activité antibactérienne est réalisée par le dépôt des disques de films avec un diamètre de 6 mm qui ont été préparées à l'avance en milieu solide dans des conditions stériles.

❖ Protocole

Cette méthode consiste à déposer des disques de films avec un diamètre de 6 mm sur la surface d'une gélose MH préalablement coulée dans une boîte de Pétri etensemencée avec la souche à tester. La lecture des résultats se fait, après incubation à 37 °C pendant 24 h, par la mesure du diamètre en mm de la zone claire (zone d'inhibition). Le même protocole que celui appliqué aux extraits est reproduit pour le film.

I.2.6. Application des films sur une matrice alimentaire

I.2.6.1. Préparation des échantillons

Des échantillons de viande ont été tout d'abord préparés et coupés en morceaux qui furent stérilisés sous UV (afin d'éliminé la flore initial) et déposé dans des boîtes de Pétri

stériles. Dans une zone stérile, quatre morceaux de viande ont été contaminés en surface d'une manière homogène par un écouvillon imbibé de l'inoculum bactérien préparé avec *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

I.2.6.2. Emballage des échantillons et conservation

Les échantillons sont ensuite emballés avec les films préparés (film sans extrait, film avec l'extrait M-A-A, film avec l'extrait M-A et film avec l'extrait M) (Annexe 5). Quatre autres échantillons de viandes ont été emballés avec les mêmes films mais sans contamination par contre les échantillons témoin sont emballés avec des films alimentaires industriels (un contaminé et l'autre sans aucune contamination). Les échantillons sont enfin conservés dans le réfrigérateur à 4 °C pendant 72h.

I.2.6.3. Analyse microbiologique des échantillons après conservation

Après 72 h de conservation, on procède à l'analyse microbiologique des échantillons. A partir de ces derniers, sont préparées les solutions mères et une série de dilutions décimale est effectuée dans de l'eau physiologique. Un volume de 100 µl de la solution mère et de chaque dilution préparée est ensemencé en surface des boîtes contenant le milieu Chapman. Ces dernières sont ensuite incubées à l'étuve pendant 24 à 72 h.

Après incubation, on observe s'il y a apparition de colonies avec décoloration de milieu, dans le cas où il y a contamination un dénombrement de colonies en unité formant colonie/ml (UFC/ml) est réalisé à l'aide d'un compteur de colonies.



***Résultats et
discussion***

II. Résultats et discussion

II.1. Dosage des polyphénols extraits à partir des margines et de *C. caeruleus* L

Selon Tasioula Margari et Okogeri (2001), la détermination quantitative des CP est réalisée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Cependant, cette méthode ne donne pas d'indication sur la nature des CP présents dans l'extrait ce qui la rend pas très spécifique. En outre, certaines substances, telles que la vitamine C, les caroténoïdes, les sucres réducteurs et les acides aminés aromatiques, peuvent en réduisant le complexe phosphotungstique-phosphomolybdénique interférer et conduire à une surestimation de la teneur en CP. En effet, cette méthode donne un aperçu sur la qualité réductrice d'un ensemble de composés en plus des CP (Obied *et al.*, 2005).

Cette méthode satisfait aux critères de reproductibilité, de la disponibilité du réactif de Folin et la méthode qui est bien standardisée, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche à travers le monde (Huang *et al.*, 2013). Dans cette étape d'étude, les polyphénols extraits des margines et du *Carthamus caeruleus* L sont dosés, leur concentration a été déterminée puis représentée en histogrammes (figure 18).

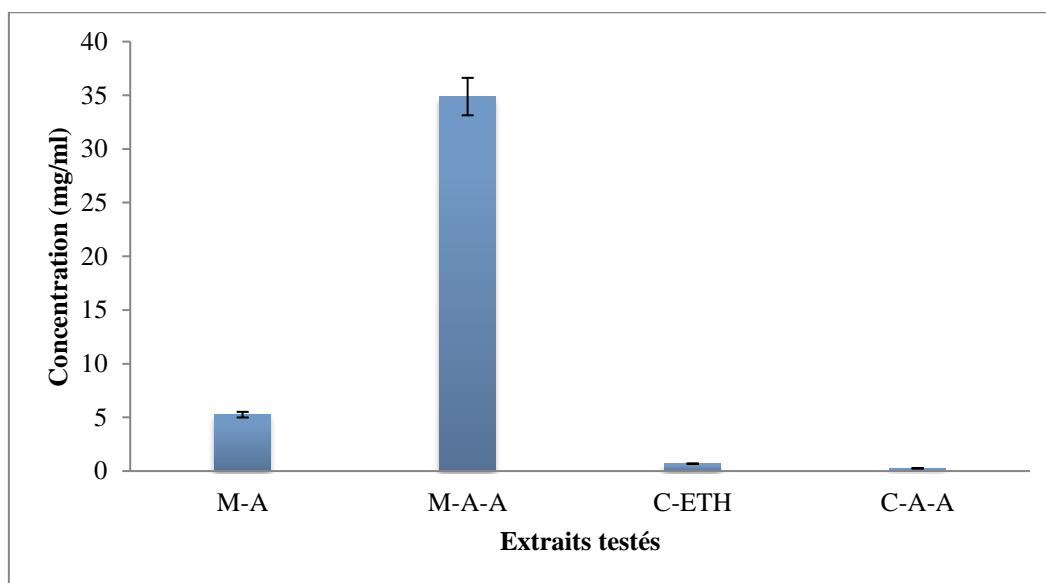


Figure 18. Concentrations des extraits (M-A : l'extrait de margines avec AC ; M-A-A : l'extrait de margines avec AC après acidification avec l' HCl ; C-ETH : l'extrait de *Carthamus caeruleus* L avec l'éthanol ; C-A-A : l'extrait de *Carthamus caeruleus* L avec AC)

Les teneurs des margines en CP diffèrent significativement entre les échantillons étudiés. Les margines testées contiennent des quantités notables en CP. D'après Obeid *et al.* (2005a), l'acidification, lors de l'extraction des polyphénols à partir des margines, précipite

les protéines, hydrolyse des liaisons entre les biophénols et les composants des parois cellulaires et augmente la solubilité des polyphénols dans les solvants organiques. En plus, l'acidification cause l'hydrolyse des CP complexes, ce qui va favoriser la libération des phénols monomères (De Marco *et al.*, 2007). Ce qui explique le résultat du dosage obtenu pour l'extrait obtenu après acidification qui est de l'ordre de $34,87 \pm 1,92$ mg/ml et est nettement supérieur à celui obtenu sans acidification avec une valeur de $5,25 \pm 0,09$ mg/ml (figure 18).

Quant à l'acétate d'éthyle, Allouche *et al.* (2004) ont montré que ce dernier exerce un haut pouvoir d'extraction par rapport aux autres solvants. C'est un solvant très sélectif pour les molécules de bas (180 Da) et moyen (13KDa) poids moléculaire (Lesage-Meessen *et al.*, 2001 ; Obeid *et al.*, 2005).

En ce qui concerne les CP de *Carthamus caeruleus* L, leur concentration est estimée à $0,68 \pm 0,00$ mg/ml pour l'extrait éthanolique et $0,25 \pm 0,01$ mg/ml pour l'extrait obtenu par l'acétate d'éthyle. Comme il est constaté, l'éthanol est le solvant le plus sélectif vis-à-vis des CP des racines comparativement à l'acétate d'éthyle. En effet, Falleh *et al.* (2008) ont signalé que la solubilité des CP est en fonction de leur degré de polymérisation, de leur interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé. De plus, le type de solvant d'extraction doit non seulement avoir une haute capacité d'extraction de biomolécules issus de la plante, mais aussi de bénéficier d'un certain taux de sécurité. L'éthanol est l'un des meilleurs solvants pour une extraction polyphénolique de moindre toxicité (Cimanga *et al.*, 2018).

Par ailleurs, Boumerfeg (2010) a également noté la présence de CP avec une teneur en polyphénols totaux des racines de *Carthamus caeruleus* L de $12,53 \pm 0,67$ mg EAG /g, en utilisant un mélange hydroalcoolique comme solvant. La méthode d'extraction doit permettre d'avoir une fraction complète en composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique (Dai et Mumper, 2010). La teneur phénolique d'une plante dépend également d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques, en particulier les conditions climatiques, la maturité à la récolte et les conditions de stockage (Podsędek, 2007).

II.2. Activité antioxydante des extraits

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante *in vitro*. Certaines d'entre elles reposent sur la capacité réductrice d'un composé comme étant un indicateur significatif de son potentiel antioxydant, d'autres reposent sur la mesure d'une molécule à piéger les composés radicalaires (Javanmardi *et al.*, 2003).

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits, de margines et de *Carthamus caeruleus* L, a été réalisée par la technique de piégeage du radical libre DPPH et exprimée en pourcentage d'inhibition (I%).

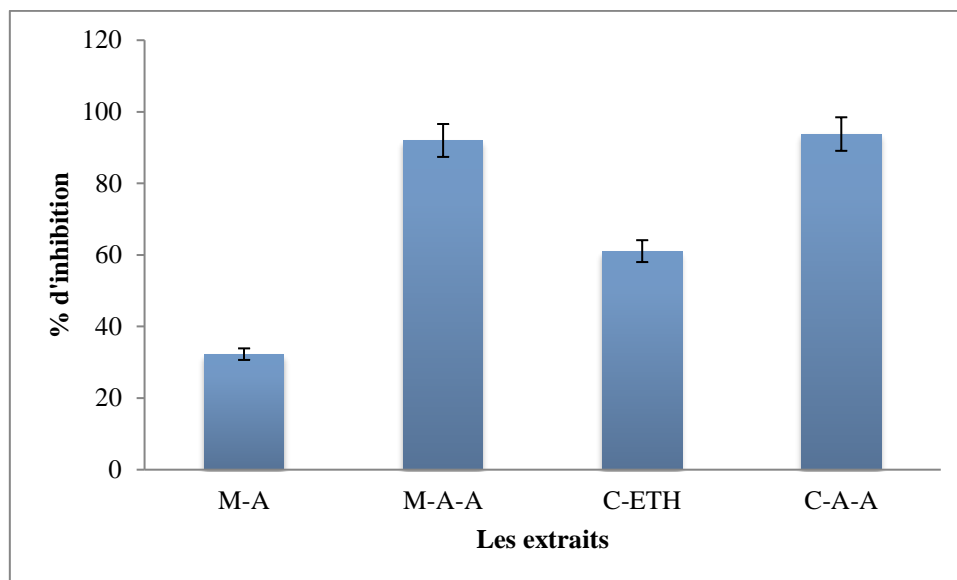


Figure 19. Concentrations du % d'inhibition de l'activité antioxydante des extraits (M-A : l'extrait de margines avec AC ; M-A-A : l'extrait de margines avec AC après acidification avec l' HCl ; C-ETH : l'extrait de *Carthamus caeruleus* L avec l'éthanol ; C-A-A : l'extrait de *Carthamus caeruleus* L avec AC)

En générale, l'activité antioxydante augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, mais la concentration conduisant à une activité antioxydante maximale dépend étroitement des extraits et, pour le même extrait, elle est aussi dépendante du test de l'activité antioxydante employé (Lafka *et al.*, 2007).

L'activité antioxydante des extraits phénoliques des margines M-A-A et M-A augmente au fur et à mesure que la concentration de l'antioxydant augmente. Elle a atteint 91,99 % pour l'extrait M-A-A et 93,78 % pour l'extrait M-A.

Les résultats de l'activité du piégeage radicaux libres par les extraits phénoliques des margines viennent de renforcer ceux trouvés par Fki *et al.* (2005a) ; Bouaziz *et al.* (2008) ; Mansouri *et al.* (2005) ; przybylski *et al.* (1998) ; Conde *et al.* (2008) ; Sousa *et al.* (2008). Tous ces auteurs ont montré l'effet antioxydante puissant des extraits phénoliques.

Les extraits phénoliques des margines présentent un bon pouvoir antioxydante, ce qui confirmé par plusieurs chercheurs que les polyphénols naturels sont des capteurs puissants des radicaux libres (Fki *et al.*, 2005a ; De Marco *et al.*, 2007).

L'activité antioxydants des extraits phénoliques de *Carthamus caeruleus* L (C-A-A et C-ETH) augmente au fur et à mesure que la concentration de l'antioxydante augmente. Elle atteint 61.07 % pour C-ETH et 32.28 % pour C-A-A.

Les résultats pour l'activité antioxydante des extraits de *Carthamus caeruleus* L sont en accord avec ceux obtenus par Baghiani *et al.* (2010), après avoir testé différents extraits de *Carthamus caeruleus* L, soit un pouvoir antiradicalaire allant de 20 à 65%. (Toubane *et al.*, 2017), ont signalé un effet inhibiteur plus puissant de l'extrait éthanolique de *Carthamus caeruleus* L par rapport aux extraits obtenus par l'acétate d'éthyle.

II.3. Activité antimicrobienne des extraits

L'évaluation du potentiel antimicrobien des extraits phénoliques est réalisée sur plusieurs microorganismes. La sensibilité des germes vis-à-vis des extraits est exprimée par l'apparition des zones d'inhibition. Les valeurs en mm des zones ou diamètres d'inhibitions relatives aux différentes souches testées sont présentées dans le tableau XIV. Selon Moreira *et al.* (2005).

Tableau XIV. Résultats des tests de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis de différentes souches testées (Valeurs des zones d'inhibition en mm \pm écart type).

Extraits Souches	M-A	M-A-A	C-ETH	C-A-A
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	11.5 \pm 0.70	14 \pm 1.44	6 \pm 0	8.75 \pm 2.47
<i>Staphylococcus aureus</i> MU50	12 \pm 0	13.5 \pm 0.70	6 \pm 0	11 \pm 0
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009	11.5 \pm 0.70	13.5 \pm 0.70	6 \pm 0	11.5 \pm 1.06
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	13 \pm 0.70	14 \pm 1.41	6 \pm 0	13 \pm 4.24
<i>Bacillus licheniformis</i> 3.3	11.5 \pm 2.12	16 \pm 1.41	6 \pm 0	11.5 \pm 7.77
<i>Bacillus cereus</i> 8	12 \pm 0	13 \pm 2.82	8 \pm 2.82	8.5 \pm 3.53
<i>Bacillus cereus</i> 4	12.5 \pm 3.53	11.5 \pm 2.12	6 \pm 0	20.5 \pm 1.41
<i>Escherichia coli</i>	11 \pm 1.41	12.75 \pm 1.060	6 \pm 0	10.5 \pm 6.36
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10.5 \pm 0.70	12 \pm 1.41	6 \pm 0	11 \pm 0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	14.5 \pm 3.53	14.5 \pm 4.94	12.5 \pm 0.70	8 \pm 8.82
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12.5 \pm 0.70	13 \pm 0	8 \pm 8.82	13.75 \pm 1.06
<i>Peudomonas pudia</i> (13B)	13.5 \pm 0.70	14.5 \pm 0.70	6 \pm 0	13.7 5 \pm 5.30

II.3.1. Activité antimicrobienne des extraits de margines

Compte tenu de la grande résistance des feuilles d'olivier et de l'huile d'olive aux attaques microbiennes et d'insectes dans la nature, plusieurs recherches se sont alors intéressées à exploiter les composés contenus dans les sous-produits de l'olivier (grignons et margines (Bisignano *et al.*, 1999). Les études menées sur l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques des margines ont porté sur des applications agronomiques ou environnementales. Par contre, cette activité a été rarement testée contre les agents pathogènes de l'Homme (Leouifoudi *et al.*, 2015).

Les margines brutes testées, *in-vitro*, ont montré un effet antibactérien à large spectre. L'activité antibactérienne la plus élevée correspond à celle de l'extrait M-A-A qui présentent également le contenu phénolique le plus élevé (Annexe 4), ce qui est en concordance avec les résultats de Yakoub *et al.* (2010).

Les zones d'inhibition notées pour les bactéries Gram positifs et négatifs sont comprises respectivement entre $10,5 \pm 0,70$ mm et $16 \pm 1,41$ mm, et ce pour la même concentration. La zone d'inhibition maximale est enregistrée chez *Bacillus licheniformis* avec un diamètre de $16 \pm 1,41$ mm et la zone d'inhibition minimale est chez *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre de $10,5 \pm 0,70$ mm. L'activité antibactérienne mise en évidence pour les extraits de margines concordent avec ceux de plusieurs travaux qui confirment cette activité (Obeid *et al.*, 2007b). Par contre, la fraction huileuse qui a été séparée des margines après centrifugation ne présente aucune activité vis-à-vis des souches testées à l'exception de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 qui présente une légère sensibilité.

Les différentes activités contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif peuvent être reliées aux différences de composition de la paroi cellulaire. Les bactéries à Gram négatif ont un composant lipopolysaccharide dans leur membrane externe qui les rend plus résistantes aux composés antibactériens (Obeid *et al.*, 2007b). L'action antimicrobienne des CP est liée à leur capacité à perturber l'intégrité de la paroi bactérienne en se liant au peptidoglycane (Yoda *et al.*, 2004). Plusieurs autres mécanismes d'inhibition des bactéries ont été décrits tels que : l'inhibition de la synthèse d'acides nucléiques (Hilliard, 1995) ; l'inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique (Tsuchiya et Iinuma, 2000) ; l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (Haraguchi *et al.*, 1998) et l'inhibition des enzymes hydrolytiques (Cowan, 1999).

En effet, les CP des margines agissent sur les bactéries en dénaturant leurs protéines cellulaires et en altérant leurs membranes cytoplasmiques (Ranalli, 1991). L'absence des bactéries pathogènes dans ces effluents oléicoles peut être expliquée par leur capacité à

inhiber la croissance des bactéries (Esmail *et al.*, 2015). Tel qu'il a été rapporté dans plusieurs travaux, les CP de l'olivier, ses produits et ses sous-produits ont la capacité d'arrêter ou de retarder la prolifération de diverses bactéries (Bisignano *et al.*, 1999 ;Rupasinhe *et al.*, 2006).

Il faut rappeler que les échantillons de l'huile d'olive ont exercé un effet très limité par rapport aux extraits phénolique. Cela pourrait être justifié par la teneur plus élevée des CP dans les margines comparativement à l'huile d'olive. En effet, il est bien documenté que la majorité des CP passe dans la phase aqueuse lors du procédé d'extraction de l'huile d'olive.

La récupération de ces CP offre la double opportunité d'obtenir de biomolécules à haute valeur d'une part, et de réduire la toxicité de ces effluents d'autre part (El Abbassiet *et al.*, 2012). Les extrait phénoliques de margines pourraient être très utiles pour des applications dans différents domaines (alimentaires, cosmétique, thérapeutique et environnement). Par ailleurs, les études doivent prendre en considération les effets des margines sur l'homme, les animaux et les végétaux et tenir compte également du coût du projet. Evidemment, ces résultats préliminaires, réalisés *in vitro*, doivent être confirmés *in vivo*, par d'autres expérimentations plus détaillées. Il s'agit notamment de réaliser des tests de toxicité, des analyses pour identifier les aspects quantitative et qualitative des structures chimiques constituant les extraits, ainsi que leurs proportions.

II.3.2. Activité antimicrobienne des extraits des racines de *Carthamus caeruleus* L

Les résultats obtenus pour le test antibactérien des extraits des racines de *Carthamus caeruleus* L, sont représentés dans le tableau XIV. Les résultats montrent des effets antibactériens avec de variables diamètres d'inhibition avec la fraction éthanolique et celle récupérée avec l'acétate d'éthyle vis-à-vis des bactéries testés. Les extraits racinaires, ont montré des activités similaires sur des bactéries Gram positives et Gram négatives avec des diamètres d'inhibition compris dans la gamme, respectivement, de 11 à 20,5 mm et 11 à 13,75 mm. L'isolat *Bacillus cereus* (4) s'est montré extrêmement sensible à pour l'extrait C-A-A des racines de *Carthamus caeruleus* L, avec un diamètre d'inhibition de $20,5 \pm 1,41$ mm.

Nos résultats sont en concordance avec ceux de Saffidine *et al.* (2013), le *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a montré une forte résistance vis-à-vis de la fraction acétate d'éthyle ($8,75 \pm 2,47$ mm) et une activité faible à l'extrait éthanolique (6 ± 0 mm). Ceci pourrait être dû à la qualité et/ou la quantité des molécules contenues dans chaque extrait, ces derniers étant obtenus avec deux solvants de propriété ou sélectivité différentes vis-à-vis des biomolécules. En effet, il existe des différences de solubilisation des CP dans les

solvants polaires ou apolaires. Les phytomolécules sont réparties au cours de l'extraction liquide-liquide entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité (Cowan, 1999).

On pourrait en déduire, à partir des résultats obtenus que l'extrait C-A-A présente une meilleure activité antimicrobienne par rapport à l'extrait C-ETH. Les substances antibactériennes contenues dans les racines de *Carthamus caeruleus* L sont plus solubles dans l'acétate d'éthyle que dans l'éthanol. L'acétate d'éthyle concentrerait alors mieux le principe actif. Comparativement aux résultats de Cowan. (1999) les racines de *Carthamus caeruleus* L, sont plus solubles dans l'éthanol que dans l'acétate d'éthyle. Le pouvoir antimicrobien des plantes médicinales est corrélé à leur richesse en composants antimicrobiens (Stević *et al.*, 2017).

II.4. Activité antioxydante des films alimentaires

Les extraits de margines ont été choisis pour la présente partie d'expérimentation et ce, sur la base des résultats obtenus notamment, leurs concentrations et leurs bonnes activités comparativement à ceux de *Carthamus caeruleus* L. Il convient de signaler qu'une simple observation de la solution de DPPH, après avoir ajouté les films préparés, permet de constater des changements de couleurs rapide avec les films contenant les margines, l'extrait M-A-A et M-A avec une disparition totale de la couleur violette de DPPH passant du violet au jaune, tandis que l'addition du film sans extrait ne provoque aucun changement de couleur (Annexe 8).

D'après les histogrammes présentés dans la figure 20, le film contenant l'extrait M-A-A a montré une activité antioxydante importante qui est de l'ordre de 92,70%. Pareil pour le film contenant l'extrait M-A, son activité antioxydante est de 91,88%, donc en saturation. En revanche, le film contenant les margines brutes ainsi que celui préparé sans extrait ont donné de faibles pourcentages lesquels sont de l'ordre de 39,44% et 17,06%, respectivement. Afin de compléter cette étude réalisée avec (30 mg de film) il convient de poursuivre cette étude pour déterminer les valeurs IC 50.

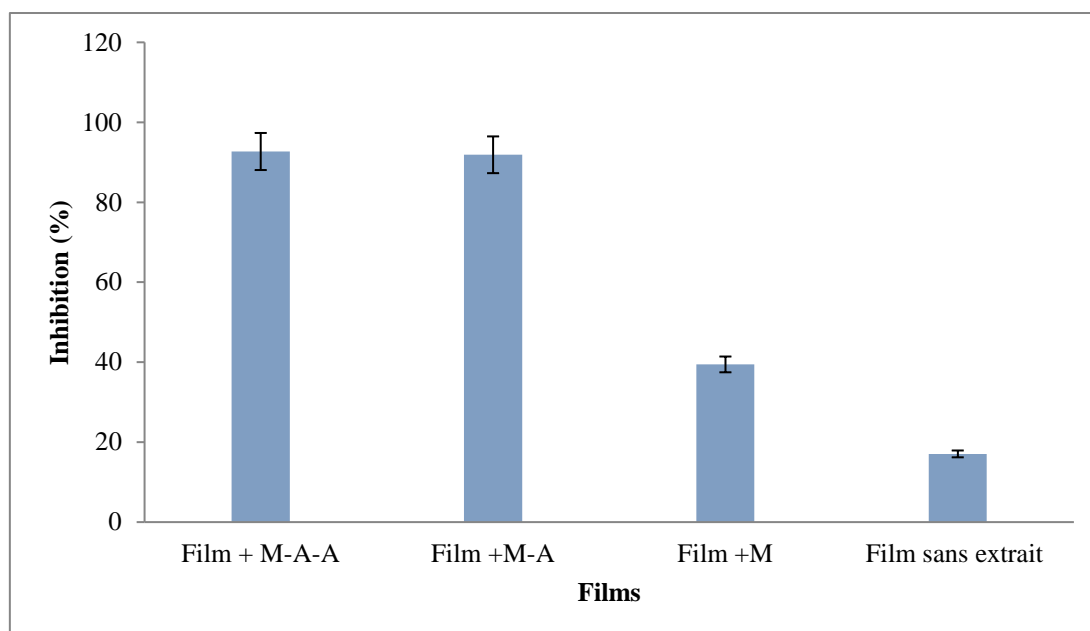


Figure 20. Activité antioxydante des films alimentaires exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

(M-A : margines + AC ; M-A-A : margines + AC + HCl ; M : margines brutes).

II.5. Activités antimicrobiennes des films alimentaires

L'activité antibactérienne a été également exprimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques formés par le film alimentaire contenant la margines ou l'un des extraits vis-à-vis des bactéries testées. Il apparaît que l'extrait organique de margines a inhibé efficacement la croissance de la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec un pouvoir antimicrobien non négligeable (tableau XV).

Les résultats ont révélé que le germe *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 278553 est très sensible avec un diamètre d'inhibition de $15 \pm 2,82$ mm exercé par le film qui contient l'extrait M-A-A.

Tableau XV. Résultats des tests antibactériens obtenus avec des films alimentaires.

Souches testées	Film utilisé	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Film+M-A-A	Zones d'inhibition très importante (impossible de calculer le diamètre)
	Film +M-A	
	Film+ M	
	Film témoin	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC278553	Film+M-A-A	15±2.82 mm
	Film +M-A	14±3.53 mm
	Film+ M	23±0 mm
	Film témoin	Absence de zone

Concernant les tests de conservation de la viande (tableau XVI), les résultats du dénombrement révèlent une extrême sensibilité de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 vis-à-vis des films bioactifs préparés. Rappelons que le but de cette manipulation est d'étudier la possibilité d'utilisation des extraits de margines dans la conservation d'un produit alimentaire, la viande et ce, par l'évaluation de l'effet de la présence des extraits dans un film alimentaire sur la qualité sanitaire de la viande. Ces résultats méritent d'être approfondies et exploités par d'autres tests à grande échelle.

Tableau XVI. Effets de l'incorporation des extraits de margines dans le film alimentaire sur la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 aux cours de la conservation de la viande.

Echantillons	Test de conservation	Dénombrement (UFC /ml)
Echantillons de viandes contaminées	Film + M-A	0
	Film +M-A-A	0
	Film +M	0
	Sans extrait	Indénombrable (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3})
	Film alimentaire	Indénombrable (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3})
Echantillons de viandes non contaminées	Film + M-A	0
	Film +M-A-A	0
	Film +M	0
	Sans extrait	$1,06 \times 10^3$
	Film alimentaire	$3,8 \times 10^2$

L'ajout de margines brutes et de leurs extraits phénoliques aux films alimentaires comme additif naturel s'est traduit par une absence notable de contamination, par *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, des viandes conservées par rapport au témoin et le film commercial. D'après ces résultats on peut noter les remarques suivantes :

- Absence totale de germe *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dans les échantillons (M-A-A, M-A, M) non contaminées et contaminées ;
- Une forte présence du germe étudiée *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 au niveau du film témoin et du film sans extrait de l'échantillon contaminé qui montre une charge élevée (charge indénombrable) ;
- Présence du germe étudié *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 au niveau du film sans extrait et du film alimentaire avec une charge de l'ordre de $1,06 \times 10^3$ UFC/ml et de $3,8 \times 10^2$ UFC/ml, respectivement.

Les extraits de margines ajoutées aux films alimentaires se sont avérés efficaces pour la lutte vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, laquelle est parmi les principales bactéries responsables d'intoxication alimentaire. En effet, le *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est l'un des microorganismes que l'on trouve normalement sur la peau et les muqueuses. Certains Staphylocoques produisent des toxines qui peuvent être responsables de divers syndromes : intoxication alimentaire, infections communautaires et nosocomiales (Gerad *et al.*, 2015).

Ces résultats sont certainement dus aux CP des extraits et dont l'efficacité antimicrobienne vis-à-vis des souches étudiées est en fonction de la concentration en CP contenus dans de la solution inhibitrice testée. Au fait, les CP sont des métabolites secondaires des végétaux. Ces composés participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle dans les signaux de reconnaissance entre les plantes ou bien en lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. D'un point de vue chimique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales (Brahimi *et al.*, 2018).

Par ailleurs, il est bien établi que les olives et leurs sous-produits sont riches en CP, réputés pour leurs forts pouvoirs antimicrobiens à l'égard d'une multitude de germes pathogène responsables de plusieurs contaminations et maladies infectieuses dont *Staphylococcus*.

Plusieurs travaux de recherche ont signalé le rôle incontestable des CP dans l'inhibition de bactéries pathogènes (Radford *et al.*, 1991; Bisignano *et al.*, 1999 ; Keceli et Robinson, 2002; Furneri *et al.*, 2004; Medina *et al.*, 2006; Brenes *et al.*, 2007; Romero *et al.*, 2007). La qualité microbiologique des margines a été étudiée par plusieurs auteurs. L'absence

de bactéries pathogènes dans ces effluents oléicoles témoigne sur leur capacité à inhiber la croissance des bactéries (Esmail *et al.*, 2015). De même, l'effet antibactérien d'extraits phénoliques de margines marocaines sur *Staphylococcus aureus*, en utilisant la technique de diffusion en gélose, est également signalé par Larif *et al.* (2015) et Leouifoudi *et al.* (2015).



Conclusion

Cette thématique s'est intéressée à l'extraction et à la caractérisation des contenus en composés phénoliques des racines de *Carthamus caeruleus* L et des margines, en vue d'étudier leur potentiel antioxydant et antibactérien.

Les extraits organiques de margines ont été sélectionnés pour la suite de l'étude sur la base des résultats obtenus, concentration et activités meilleures, comparativement à ceux des racines de *Carthamus caeruleus* L. En effet, les extraits organiques de margines ont manifesté un pouvoir antimicrobien contre la plupart des souches testées et ont inhibé efficacement *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 lors des essais de conservation de la viande. Ainsi, l'incorporation des extraits de margines comme additifs dans l'emballage alimentaire, préparé à base d'alginate, a pu préserver la viande d'une éventuelle contamination au *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 par rapport au témoin contrôle sans additif.

A travers les résultats obtenus, il peut être conclu que les extraits de la racine de *Carthamus caeruleus* L et de margines utilisés présentent des activités antimicrobiennes et antioxydantes très intéressantes à explorer. Cependant, l'ensemble des résultats ne constitue qu'une première ébauche dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives issues de la biomasse végétale. D'autres recherches sont donc nécessaires pour compléter les informations déjà acquises. Les études doivent être orientées surtout à l'étude des principaux composés actifs, l'effet des extraits sur la croissance d'autres microorganismes pouvant contaminer la viande en particulier et d'autres aliments fragiles comme le lait à l'origine de toxi-infection alimentaire. L'analyse sensorielle est aussi recommandée dans ce domaine d'application malgré que les produits de l'olivier sont très utilisés et bien appréciés pour leur saveur dans le domaine alimentaire.



***Références
bibliographiques***

A

- **Abderrazak M et Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p
- **Abu khayer M., Cowdhury M B., Akratos C.S., Vayenas D.V., Pavlou S. (2013).** Olive mill waste composting: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **85**, 108-119.
- **Achak M., Hafidi A., Ouazzani N., Sayadi S., Mandi L. (2009).** Low cost biosorbent “banana peel” for the removal of phenolic compounds from olive mill wastewater: Kinetic and equilibrium studies. *Journal of Hazardous Materials*, **166**, 117–125.
- **Aggoun-Arhab. (2016).** Caractérisation de la composition en micro constituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de l’Université Frères Mentouri Constantine.
- **Aissam H. (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l’enzyme tannase. Thèse de doctorat à l’Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- **Aissaoui N. (2019).** Effet antimicrobien de l’extrait hydroéthanolique de *Romarinus officinalis* (Romarin) chez *Staphylococcus aureus* au cours de la conservation de la viande ovine à 4°C.
- **Ait Baddi G., Hafidi M., Cegarra J., Alburquerque J.A., Gonzalvez J., Gilard V., Revel J.C. (2004).** Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FtirTIR and 13C-NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw. *Bioresource Technology*. **93**: 285-290.
- **Allouche N., Feki I., Sayadi S. (2004).** Toward a high yield recovery of antioxidants and purified hydroxytyrosol from olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 267-273.
- **APG III (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plantes: *APG III. Bot. J. Linn. Soc*; **161**: 105-121.
- **Augustyniak A., Bartosz G., Ipak A., Duburs G., Horáková L. U., Auczaj., Arkovi N. (2010).** Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radical Research*, **44**(10), 1216-1262.

B

- **Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J. (2004).** Inhibitory effect of thyme and basileessential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and pcymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol* 21: 33-42.
- **Baghiani A., Boumerfeg S., Belkhiri F., Khennouf S., Charef N., Harzallah, D., Arrar L., Mosaad A.W. (2009).** Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L. extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata Scientiae revista*. 1(2): 128-136.
- **Bauchart D et Aurousseau B. (2008).** Digestion et métabolisme des lipides chez le veau de boucherie: conséquences sur la composition en lipides des tissus. *VPC*, 14 (6) : 172-182.
- **Benbettaib N., Karbowskiak T., Debeaufort F (2017).** Films comestibles bioactifs pour les applications alimentaires : influence des composés bioactifs sur la structure et les propriétés du film.
- **Benhamou A et Fazouane F. (2013).** Technologie alimentaire université m'hmed BOUGARA.
- **Beniston N.W. (1984).** Fleurs d'Algérie. *Entreprise national du livre* : Algérie.
- **Benitez J., Bertrans-Heredia J., Torregrosa J., Acero J.L., and Cercas V. (1997).** Aerobic degradation of olive mill wastewaters. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 47, 185-188.
- **Benyahia N et Zein K. (2003).** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées. 2ème conférence Internationale Swiss Environmental Solutions for Emerging Countries (SESEC II). Lausanne. Suisse. pp1-7.
- **Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N., Saija A. (1999).** On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*; 51: 971-974.
- **Bouaziz., Fki I., Jemai M., Sayadi S. (2008a).** Effect of stronge on refined and husk olive oils composition: Stabilization by additif of natural antioxydants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108, 253-262

- **Boudhrioua N., Bahloul N., Ben slimen I., Kechaou N. (2008).** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and products*, 1-8.
- **Boullard B. (2001).** Dictionnaire des plantes médicinales du monde : Réalités & croyance ESTEM, Paris. p660.
- **Boumerfeg S. (2010).** Antioxidative properties of *Tamus communis* L., *Carthamus caeruleus* L. and *Ajuga iva* L. extracts. Thèse de Doctorat. Département de Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif 1
- **Bourgaud, F., Gravot A., Milesi S., Gontier E. (2013).** Production of plant secondary.
- **Bowles V.G., Mayerhofer R., Davis C., Good A.G., Hall J.C. (2010).** A phylogenetic investigation of *Carthamus* combining sequence and microsatellite data. *Plant Systematics and Evolution*, 287: 85–97.
- **Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igetic R. (2008).** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*. 111 (4): pp925-929.
- **Brahimi M., Arsenovic M., Laraba S., sladojevic S., Boukhalifa K., Moussaoui A. (2018).** Deep learning for plant diseases: detection and saliency map visualization.in *human and machine learning* (pp.93-117).Springer, cham.
- **Brown J. E., Khodr H., Hider R. C., Rice-Evans C. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions. *Biochem. J.* 330: 1173-1178.
- **Bruckner S., Albrecht A., Petersen B., Kreyenschmidt J. (2012).** Characterization and comparison of spoilage processes in fresh pork and poultry. *J food Qual*, 35: 372-382.
- **Brunton J. (1993).** Composés phénoliques : Shikimate-acétates. In : « pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales ». *Technique et Documentation-Lavoisier* (Paris) ; Chap.3 :199-383.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} édition. Tec&Doc. Paris.
- **Bruneton J.P. (2009).** Phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition. Paris: Tec & Doc. Éditions médicales internationales.

C

- **Caillet et Lacroix. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E.coli O157: H7, Salmonella typhimurium, staphylococcus aureus and listeria monocytogenes. *Food control*, **18**(5), 141-420.
- **Ceron I. (1990).** Les plantes antivirales; thèse de doctorat à l'Université de Limoges ; France.
- **Chemouri F.Z., Ghezlaoui-Bendi-Djelloul B.E., Benabadji N. (2015).** Floral Diversity of the Tlemcen Mountains (Western Algeria). *Ecologia Balkanica* 7.
- **Chimi H. (1997).** Sous-produits de la transformation des olives : Possibilités de valorisation et de traitement des margines. *Cours international sur l'amélioration de la qualité de l'huile d'olive*.
- **Chiofalo B., Liotta L., Zumbo A., and Chiofalo V. (2004).** Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research*, **55**: 169–176.
- **Chougui N. (2015).** Technologie et qualité des viandes.
- **Cimanga K., Lubiba N., Makila Bool-Miting F., Tona L., Kambu K., Vlietinck A., Pieters L. (2018a).** Biological activities of arredoul jaune, a phytomedicine based ethanol extract from fresh roots of *Pentadiplandra brazzeana* baill. (*Pentadiplandaceae*) used as an antidiarrhoeal drug in Kisangani-Democratic Republic of Congo. *European journal of biomedical and pharmaceutical sciences* 5, 130-139.
- **Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Casto E., Dominguez H., (2008).** Antioxydant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, 1-7. doi :10.2016/j. 2008.10.017.
- **Coibion L. (2008).** Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur. Thèse de doctorat. Toulouse : 97
- **Coi. (2017/2018).** Les données du COI pour la campagne oléicole 2017/2018 montrent une augmentation interannuelle de la production d'huile d'olive.
- **Cowan M. (1999).** Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12** (4), 564-582.

D

- **Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris.
- **Dahmani M.M., Laoufi R., Selama O., Arab K. (2018).** Gas chromatography coupled to mass spectrometry characterization, anti-inflammatory effect, wound-healing potential, and hair growth-promoting activity of Algerian *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae). *Indian J Pharmacol.* **50(3):123–129.** doi: 10.4103/ijp.IJP_65_17.
- **Dai J et Mumper R.J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* **15**, 7313-7352.
- **Debeaufort F. (1994).** Etude des Transferts de Matière au Travers de Films d’emballages – Perméation de l’eau et de substances d’arôme en relation avec les propriétés physicochimiques de films comestibles. Thèse de doctorat, ENSBANA, Université de Bourgogne, France.
- **De La Casa J.A., Lorite M., Jimenez J., Castro E. (2009).** Valorisation of wastewater from two-phase olive oil extraction in fired clay brick production. *Journal of Hazardous Materials*, **169**, 271–278.
- **De Leonardis A., Aretini A., Alfano G., Macciola V., Ranalli G. (2008).** Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea Europaea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *European Food Research and Technology*, **266**, 653- 659.
- **De Macro E., Savarese M., Paduano A., Sacchi R. (2007).** Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wasterwasters. *Food Chemistry*, **104**, 858-867.
- **Djebari K., Meddour K. (2020).** Détermination de l’huile d’olive préférée, à travers les déterminations de qualité cas d’un panel du centre d’Algie.
- **Diarra M.M. (2007).** Cours de technologie des produits d’origine animale, Bamako : 45.
- **Donzo D. (2016).** Commercialisation des viandes (bovine, caprine, porcine) à Kikwit: analyse comparative de la rentabilité financière. Obtention d’un master en Agroéconomie. Université de Kikwit, 2 p Belitz *et al.*, 2009.

E

- **El-abbassi A., Kiai H., HAFIDI A. (2012).** Phenolic profile and antioxidant activities of olive mill wastewater. *Food Chemistry*, **132**,406-412.
- **El-abbassi A., Saadaoui N., Kiai H., Raiti J., Hafidi A. (2017).** Potential applications of olive mill wastewater as biopesticide for crops protection. *Science of the Total Environment*, **576**, 10–21
- **El Gharras H. (2009).** Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**(12): 2512-2518.
- **El ramouz R. (2005).** Etude des changements biochimiques post mortem dans le muscle de volailles. Contribution à la détermination de l'amplitude de la diminution du ph. Thèse de doctorat. Toulouse : 138.
- **Esmail A., Chahboun N., Mennane Z., Amiyare R., Abed H., Barrahi M., Qebibo A., Ouhssine M ., Berny E H. (2015).** Étude de l'activité antimicrobienne des margines issues de Fès Boulman vis- à-vis de souches pathogènes. *Journal of Materials and Environmental Science*, **6** (3), 869-876.

F

- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies* **331**, 372-379.
- **Fedeli E., et Camurati F. (1981).** In : Séminaire International sur la Valorisation des Sous produits de l'olivier. *PNUDFAO. Monastir, Tunisie, Décembre 1981*, 111-113
- **Fki I., Allouche N., Sayadi S. (2005).** The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, **93**: 197-204.
- **Francesco G.L. (1993).** Evaluations économiques sur l'innovation technologique. Les problèmes de l'environnement dans le secteur oléicole en Italie. *Olivae*, **47** : 15-20.
- **Freire Fierro. A. (2004).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*.
- **Furneri P.M., Piperno A., Saija A., Bisignano G. (2004).** Antimicrobial activity of hydroxytyrosol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; **48**(12): 4892-4894.

G

- **Garcia-Viguera C., Bridle P., Ferreres F., Tomas B.F.A. (1994).** Influence of variety, maturity and processing on phenolic compounds of apricot juices and jams. *Z Lebensm Unters Forsch.* **199**: 433-436.
- **Gee J.M et Johnson I.T. (2001).** Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry.* **8**: 1-182.
- **Ghattas D. (2004).** Valorisation des margines par digestion anaérobie. Mémoire de diplôme d'études approfondies (DEA). Contrôle et gestion de qualité.«Application à l'agroalimentaire». Institut de recherches agronomiques Libanais. p39.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* Vol **3**(4) ; pp 162-169.
- **Girard J.P et Valin C. (1988).** Technologie de la viande et des produits carnés. APRIA, INRA, Lavoisier technique et documentation .Paris. pp01.p280
- **Gonçalves C., Lopes M., Ferreira J.P., Belo I. (2009).** Biological treatment of olive mill wastewater by non-conventional yeasts. *Bioresource Technology,* **100**, 3759-3763
- **Guilbert S et Gontard N. (1992).** Le concept de l'emballage comestible. AGORAL, 5^{ème} Rencontres Technologiques et Scientifiques des industries Alimentaires, Pont à Mousson, France, 166-191.
- **Guilbert S et Cuq B. (1998).** Les Films et Enrobages Comestibles. In : *L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation* ; Multon J.L., Bureau G. (Eds.), Technique & Documentation, Lavoisier, Paris, 472-530.
- **Guillouty A. (2016).** Plantes médicinales et antioxydants ; thèse de doctorat ; universite Toulous III PAUL SABATIER ; Toulouse ; France.

H

- **Hamadi F., Boudif K., Gougam H., Djouab A., Allan T., Benmounah A., Benamara S. (2014).** Caractérisation d'une préparation semi-solide traditionnelle et anti-brulure utilisée dans certaines régions d'Algérie.
- **Hamdi M. (1991).** Nouvelle conception d'un procédé de dépollution biologique des margines, effluents France.

- **Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T. (1998).** Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*; **48**: 125-129.
- **Harbowy M. E et Balentine D. A. (1997).** Tea chemistry. *Crit Rev Plant Sci.* **16**: 415-480.
- **Haslam E et Lilly T.H. (1988).** Natural astringency in foodstuffs: a molecular interpretation. *Crit Rev Food Sci Nutri.* **27**(1): 1-40.
- **Hättenschwiler S et Vitousek P. M. (2000).** The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Tree*, **15**, 238–2
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, **1**: 3-6.
- **Hervé M. (2002).** Fonction Emballage
- **Hilliard J.J., Krause H.M., Bernstein J.I. (1995).** A comparison of active site binding of 4- quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Adv. Exp. Med. Biol.*; **390**: 59-69.
- **Huang a-C., Wilde A., Ebmeyer J., Skouroumounis G., Taylor D-K. (2013).** Examination of the Phenolic Profile and Antioxidant Activity of the Leaves of the Australian Native Plant *Smilax glycyphylla*. *J. Nat. Prod.*, **76**(10):1930-6.

I

- **Iroha I.R., Ugbo E.C., Ilang D.C., Oji A.E., Ayogue R.E. (2011).** Bacterial contamination of raw meat sold in abakaliki. *J public health. epid*, **3**(2) : 49-53.

J

- **Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E., Vivanco J. (2003).** Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, **83**, 547-550.

K

- **Kapellakis L.E., Tsagarakis K.P., Crowther J.C. (2008).** Olive oil his troy, production and by –product mangement. *Review in Environemental Science Biotechnology*, **7**, 126
- **Karima S., Farida S., Mihoub Z.M. (2013).** Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant: *Carthamus caeruleus* L. *Pharmacognosy Communications* **3**.

- **Kaufman D. (2001).** Organiser et gérer l'atelier des arts du langage: une question de mouvement. *Arts du langage*, **79** (2), 114-123
- **Keceli T., Robinson R. K. (2002).** Antimicrobial activity of phenolic extracts from virgin olive oil. *Milchwissenschaft*; (57): 436- 440.

L

- **Lafka T.I., Sinanoglou V.J., Lazos E. S. (2007).** On the extraction and antioxydant activity of phenolic compounds from winery wastes *Food Chemistry*, **104**, 1206-1214.
- **Lafka T.I., Lazou A.E., Sinanoglou V.J., Lazos E.S. (2011).** Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. *Food Chemistry*, **125**, 92–98.
- **Lamarck J.B et Marie J.L. (1785).** Encyclopédie méthodique botanique. Clément Plomteux: France.2.
- **Larif M., Ouhssine M., Soulaymani A., Elmidaoui A. (2015).** Potential effluent oil mills and antibacterial activity polyphenols against some pathogenic strains. *Res Chem Intermed*; **41**:1213-1225.
- **Lee J.Y., Chang E.J., Kim H.J., Park J.H., Choi S.W. (2002).** Antioxidative flavonoids from leaves of *Carthamus tinctorius*. *Archives of pharmacal research* **25**, 313.
- **Leouifoudi I., Harnafi H., Ziad A. (2015).** Olive mill waste extracts: Polyphenols content, antioxidant, and antimicrobial activities. *Advances in Pharmacological Sciences*; 1-11.
- **Lesage-Meesen L., Navarro D., Maunier S., Sigoillot J.C., Lorquin J., Delattrem. (2001).** Simple phenolic content in olive residues as a fraction of extraction systems. *Food Chemistry*, **75**, 501-507.
- **Lorenzo J.M., Munekata P.E.S., Santana A.S., Carvalho R.B., Barbas F.J., Toldrá F., Mora L., Trindade M.A. (2018).** Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. *Trends in Food Science & Technology*, **77**, 1-10.
- **Lutwin B., Fiesta Ros De Ursino J.A., Geiscen K., Kachouri M., Klimm E., De Lorde Monpezat G., Xanthoulis D.D. (1996).** Les expériences méditerranéennes dans le traitement et l'élimination des eaux résiduelles des huilière d'olives, Editions (GTZ) GmbH, Eschorn.

- **Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Paris. 211p.
- **Ludovic. (2008).** Mémoire d'acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur : 50-51.

M

- **Macheix J., Fleuriot A., Jay Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechnologiques et universitaires romandes* : 192p.985
- **Mansouri A., Embarek G; Kokkalow E., Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date plam fruit (phonix dactylifera). *Food Chemistry*, **89**, 411-420.
- **Martin S., Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **51**: 304-315.
- **Martin-Garcia A.I., Moumen A., Yanez-Ruiz D.R., Molina-Alcaide E. (2003).** Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animal Feed Science and Technology*, **107**: 61–74.
- **Masuda T., Yonemori S., Oyama Y., Takeda Y., Tanaka T., Andoh T. (1999).** Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts. From seashore plants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **47**(4): Pp 1749-1754.
- **Mebirouk M. (2002).** Rejet des huileries. Développement d'un procédé intégré pour la biodégradation des polyphénols dans la margine. CMPP News. N°11.
- **Medina E., De Castro A., Romero C., Brenes M. (2006).** Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oil and other plant oils: Correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; **54**: 4954-4961.
- **Mehansho H., Butler L.G., Carlson D.M. (1987).** Dietary tannins and salivary prolin-rich proteins: interaction, induction and defense mechanisms. *Annu Rev Nutr*. **7**: 423.

- **Micol D., Jurie C., Hocquette J. F. (2010).** Qualités sensorielles de la viande bovine. Impacts des facteurs d'élevage In: D. Bauchart and B. Picard (eds.) *Muscle et viande de ruminant*. p 163-172.
- **Mioulane P. (2004).** Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de Jardin. Larousse, Paris, France. 1080 p.
- **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, **26**(2): 211-219.
- **Moning G. (1991).** Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine, **4** : 151-160.
- **Morillo J. A., Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sánchez M., Ramos-Cormenzana A., Russell N. J. (2009).** Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology Biotechnology*, **82**: 25–39.
- **Morton L. W., Amsha A., Caccetta R., Puddey I. B., Croft K. D. (2000).** Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: Relevance to cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. **27**: 152-159.
- **Moure A., Cruz J.M., Franco D., Manuel Dominguez J., Sineiro J., Dominguez H., Nunez M.J., Carlos Parajo J. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, **72**(2), 145-171.
- **Mylonaki S., Kiassos E., Makris D.P., Kefalas P. (2008).** Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal Bioanal Chemistry*, **392**, 977-985.

N

- **Nefzaoui A. (1991).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous produits. *Option méditerranéennes*, **16** : 101-108.
- **Nisperos-Carriedo M.O. (1994).** Edible coatings and films based on polysaccharides. In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Krochta J.M., Baldwin E.A., Nisperos-Carriedo M.O. (Eds.) Technomic Publishing Company, Lancaster, 305-335.
- **Nouich S et Hamdi T.M. (2009).** Superficial bacterial contamination of ovine and bovine carcasses at el-harrach slaughterhouse (Algeria). *European journal of scientific research*, **38**(3): 474-485.

- **Nychas G.J.E., Skandamis PN., Tassou C.C., Koutsoumanis K.P. (2008).** Meat spoilage during distribution. *Meat Sci* **78**: 77-89.

O

- **Obeid H.K., Allen M.S., Bedgood D.R., Prenzler P.D., Robards K. (2005a).** Investigation of Australian olive mill waste for recovery of biophenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 9911-9920.
- **Obied H.K., Bedgood Jr. D.R., Prenzler P.D., Robards K. (2007b).** Bioscreening of Australian olive mill waste extracts: Biophenol content, antioxidant, antimicrobial and molluscicidal activities. *Food and Chemical Toxicology*; **45**(7): 1238-1248.
- **Oh Y., Kang O., Kim S., Mun S., Park C., Kim Y., Lee Y., Han S., Keum J. (2012).** Anti-inflammatory effect of sinomenine by inhibition of pro-inflammatory mediators in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 Cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **16**, 1184-1191.
- **Oszmianski J., Wojdylo A., Lamer-Zarawska E., Swiader K. (2007).** Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chemistry*. **100**: 579-583.
- **Ouali A., Herrera-Mendez C.H., Coulis G., Becilia., Boudjellal A., Aubry L., Sentandreu M.A. (2006).** revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci*, **74**; 44-58.

P

- **Paganga G., Miller N., Rice-Evans C. A. (1999).** The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. *Free Radic Res.* **30**: 62-153.
- **Podsędek A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology* **40**, 1-11.
- **Popovici C., Saykova I. S., Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* **4**, 25-39.
- **Przbylski R., Lee Y.C., Eskin. N.A.M. (1998).** Antioxydant and radical-scavenging activities of buck wheat seed components. *JAOS*, **75**(11), 1595-1601.

Q

- **Qenzel et Santa. (1963).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique en phytothérapie.
- **Quinet G. (1988).** Les locaux in Hygiène et sécurité alimentaire dans la filière viande. APRIA, Paris .pp01.p71.

R

- **Ranalli (1991).** The effluent from olive mill: proposals for re-use and purification withreference to Italian legislation. *olivae*, **37**: 33-39.
- **Rawaa Al Mahdi. (2006).** Mise au point et caractérisation de films comestibles à base de polysaccharides et de matières grasses : Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine. France.
- **Rupasinhe H.P.V., Boulter-Bitzer J., Ahn T., Odumeru J. A. (2006).** Vanillin inhibits pathogenic and spoilage micranoorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh cut apples. *Food Res. Int*; **39**: 575-580.

S

- **Saffidine K. (2018).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *carthamus caeruleus* L. et de *plantago major* L.
- **Saladino R., Bernini R., Mincione E. (2001).** Innovation. Environmental oxidative catalysis for processing of agroindustrial wastewaters, *La Chimica e l'Industria*, **83**:34-38.
- **Salifou C.F.A., Boko K.C., Attakpa Y.E., Agossa R.L., Ogbankotan I.L., Farougou S.I., Mensah G.A., Salifou S.L., Clinquart A., Youssao A.K. (2013).** évaluation de la qualité bactériologique de viande fraîche de bovins abattus aux abattoirs de cotonou-porto-novo au cours de la chaîne de distribution. *Journal of animal & plant sciences*, **17** : 2567-2579.
- **Sansoucy R. (1984).** Utilisation des sous produits de l'olivier en alimentation animale.

- **Santos-Buelga C., Scalbert A. (2000).** Proantocyanidins and tannin like compounds-nature, occurrence dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the science of Food and Agriculture*, **80**: 1094-1117.
- **Sarantopoulos C.I.G.L., De Oliveira L.M., Canavesi E. (2001).** Carnes, aves, pescados e derivados. Requisição, de conservação de alimentos e embalagens flexíveis. Campinas, sp : *cetea* : 151-174.
- **Sartori-Thiel A. (2003).** Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis-en dans le bassin méditerranéen. Etude FAO production et santé animale : 43 polyphénols. *Science et Agronomie* ED **380** Doctorat: 177pp.
- **Scalbert A. (1991).** Antimicrobial properties of tanins. *Phytochemistry*, **30**(12): 3875-3883.
- **Sehaki chabha (2020),** Les plantes médicinales : un avenir prometteur.
- **Stević T., Stanković S., Šavikin K., Godevac D., Dimkić I., Soković M., Berić T. (2017).** Chemical composition and inhibitory activity of selected essential oils against fungi isolated from Medicinal plants. *Lekovite sirovine* **34**, 69-80.
- **Sifoun N. (2007).** Traitement des effluents des huileries d'olive par oxydation au H₂O₂. Mémoire de magister. Spécialité : génie de l'environnement, option : traitement des effluents industriels, Université M'hamed Bougara Boumerdès.
- **Sineiro J., Franco D., Rubilar M., Sanchez M., Jerez M., Pinelo M., Costoya N., Núñez M.J. (2008).** Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. *Electronic Journal of environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **7**(8), 3210-3216.
- **Suman S. (2010).** Phytochemical investigation of *Sonchus oleraceus* leaves and *Citrullus colocynthis* root. *J Herbal Med Toxicol.*; **4**:159–62.
- **Soussa A., Ferreria I.C.F.R., Barros L., Banto A., Pereira J.A. (2008).** Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras”, *LWT*, **41**,739-745.

T

- **Tasioula-Margari M et Okogeri O. (2001).** Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. *Food Chem.*, **74**: 377–383.

- **Theagarjan., Sayatani dutta., JA Moses., Anandharamakrishnan. (2019).** Alginates: Application in the biomedical and food industries, 207.
- **Tsuchiya H., Inuma M. (2000).** Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine*; **7**: 161–165.

W

- **Watterson J.J et Butler L.G. (1983).** Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *J Agr Food Chem*, **31**: 41-45.
- **Wong D.S., Camirand W.M., Pavlath A.E. (1994).** Development of edible coatings for minimally processed fruits and vegetables. In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Krochta J.M., Baldwin E.A., Nisperos-Carriedo M.O. (Eds.), Technomic Publishing Company, Lancaster, 65-88.

Y

- **Yahyaoui N. (2012).** Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif. Mémoire de magister. Université de Mouloud Mammeri. Tizi Ouzou.p129.
- **Yap C.F.Ho C.W., Aida W.M., Chan S.W., Lee C.Y., Leong Y.S. (2009).** Optimization of extraction condition of total phenolic compords from star fruit (*A verrhocarambola* L) residues. *Sains malaysiana*, **38**(4): 511-520.
- **Yoda Y., Hu Z.Q., Zhao W.H., Shimamura T. (2004).** Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *Journal of Infection and Chemotherapy*; **10**: 55-58.
- **Yorulmaz A., Tekin A., Turan S. (2011).** Improving olive oil quality with double protection: Destoning and malaxation in nitrogen atmosphere. *European Journal of Lipid Science and Technology*; **113**: 637-643.
- **You L., Haiqing L., Schanzhong Y., Jiarui Z., Zhenqiang W. (2019).** Sodium Alginate-Based Green Packaging Films Functionalized Guava Leaf Extracts and Their Bioactivites, 12, 2923; doi: 10.3390/ma12182923.

Z

- **Zbakh et El Abbassi A. (2012).** Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. *Journal of Functional Foods*, **4**(1), 53-65.
- **Zhou G.H., Xu X.L., Liu Y. (2010).** Preservation technologies for fresh meat- A review. *Meat Sci* **86**: 119-128.



Annexes

Annexe 1

1.) Préparation de la solution de carbonate de sodium à 20 %

Carbonate de sodium Na_2CO_3 anhydre20g

Eau distillé100ml

Faire dissoudre 20g de Na_2CO_3 dans 100ml d'eau distillé bien agité jusqu'à le mélange soit homogène.

2.) Préparation d'eau physiologique

Nacl9g

Eau distillé.....1000ml

Mettre 9g de Nacl dans un flacon et le compléter avec 1000ml d'eau distillé puis bien agité jusqu'à le mélange soit homogène.

3.) Préparation de la solution DMSO à 10 %

DMSO pure10ml

Eau distillé80ml

Mettre 10ml de DMSO pure dans une fiole et le compléter jusqu'à 100ml avec l'eau distillé ensuite bien agité

Annexe 2

La Composition des milieux de cultures utilisés :

1. Milieu MH (Muller Hinton)

Poudre Muller Hinton 38g

Eau distillé.....1000ml

Dans un flacon faire dissoudre 38g de poudre MH dans 1000ml d'eau distillé ensuite bien agité puis le mettre dans un bain marie jusqu'à le mélange soit homogène puis le verser dans des flacons de 250ml

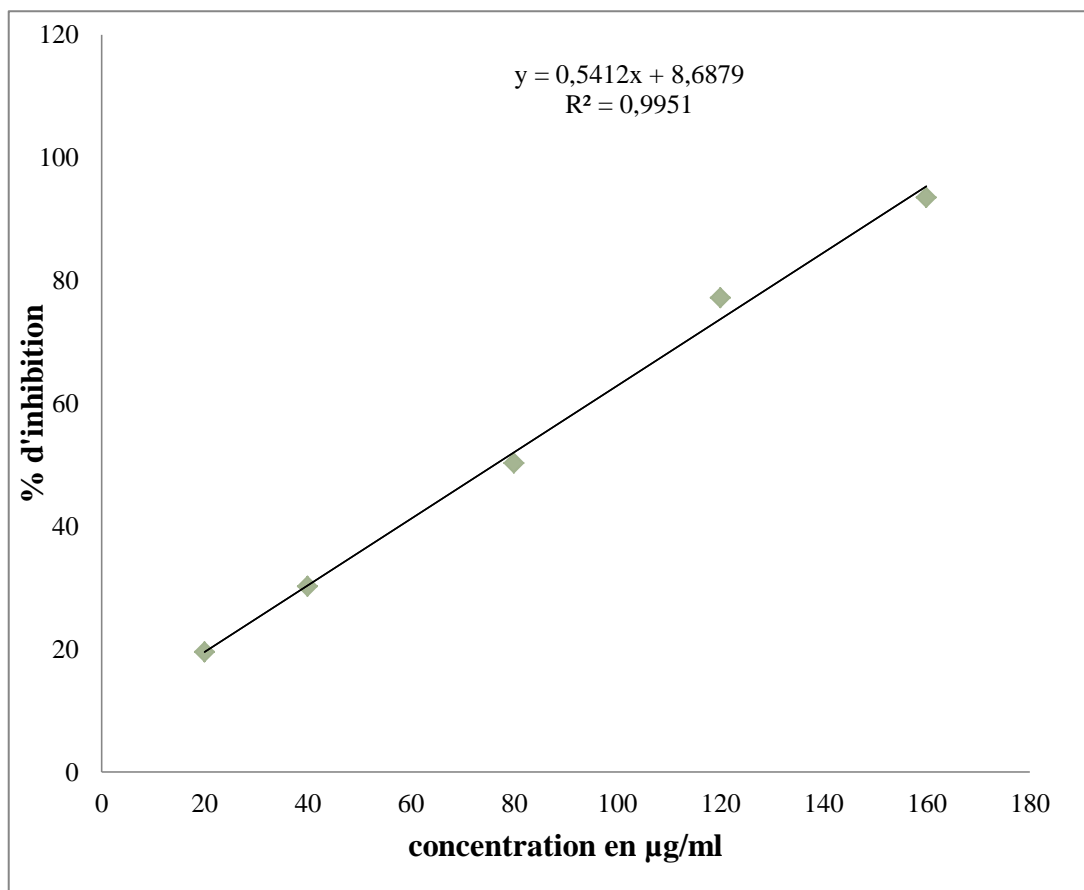
2. Milieu GN (gélose nutritif)

Poudre gélose nutritif23g



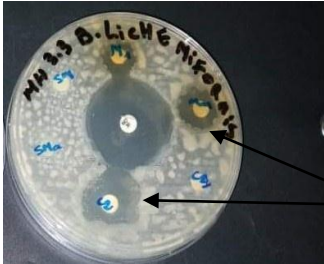
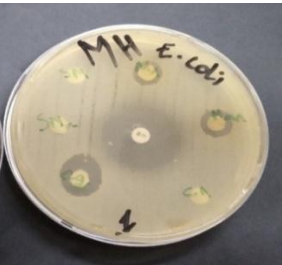

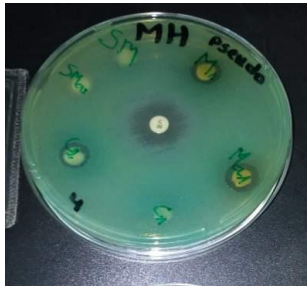
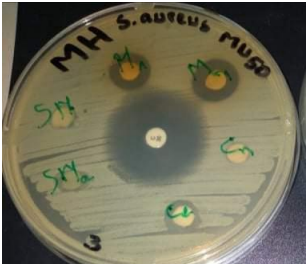





Eau distillé.....1000ml

Dans un flacon faire dissoudre 23g de poudre de GN dans 1000ml d'eau distillé ensuite bien agité puis le mettre dans un bain marie jusqu'à le mélange soit homogène puis le verser dans des flacons de 250ml

NB : tous les milieux sont stérilisés par autoclave durant 20 min à 120 °C.



Annexe 3. Courbe de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique

 <p><i>Klebsiella oxytoca</i></p>	 <p><i>Bacillus cereus</i> (8)</p>	 <p><i>Bacillus licheniformis</i> 3.3</p>
 <p><i>Escherichia coli</i> ATCC225922</p>	 <p><i>Pseudomonas putida</i> souche (13B)</p>	 <p><i>Pseudomonas</i> ATCC27853</p>
 <p><i>Staphylococcus aureus</i> MU50</p>	 <p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923</p>	 <p><i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603</p>
 <p><i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579</p>	 <p><i>Bacillus cereus</i> souche(4)</p>	 <p><i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009</p>

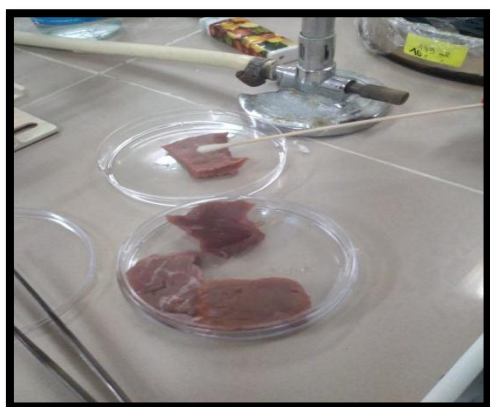
Annexe 4. Photographie des résultats de l'évaluation antimicrobienne des extraits vis-à-vis de différentes souches. (Ma1 : M-A-A ; C1 : C-ETH ; SMa : surnageant + AC ; Ma : M-A ; C2 : C-A-A ; SM : suranageant +AC+ HCl)



A : Stérilisation de la viande



B: Préparation de la viande



C : Contamination de la viande

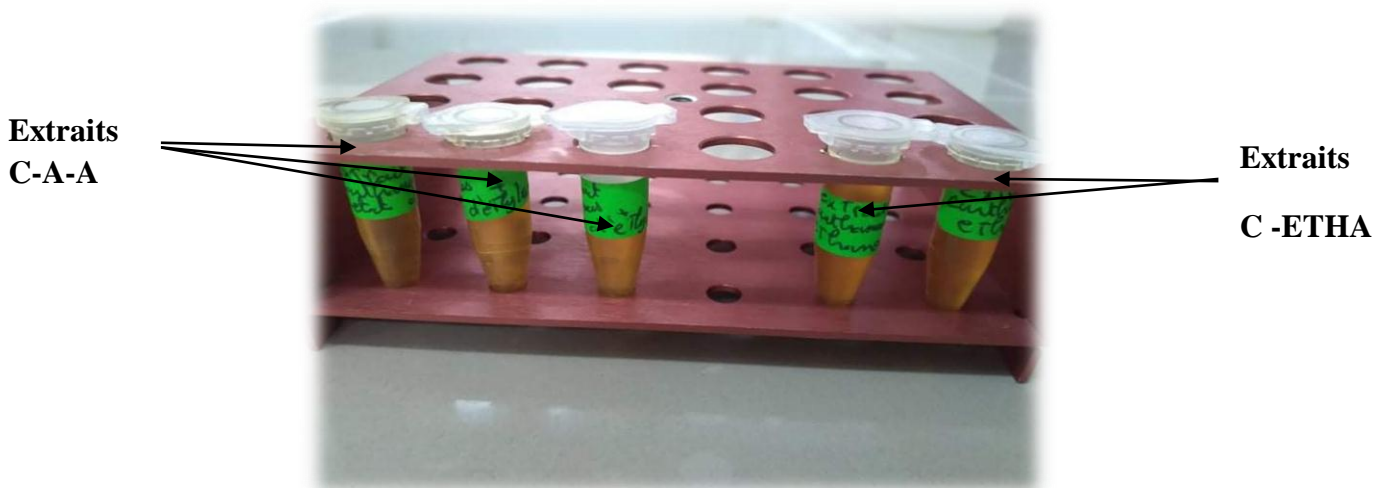


D : Emballage des viandes avec les films

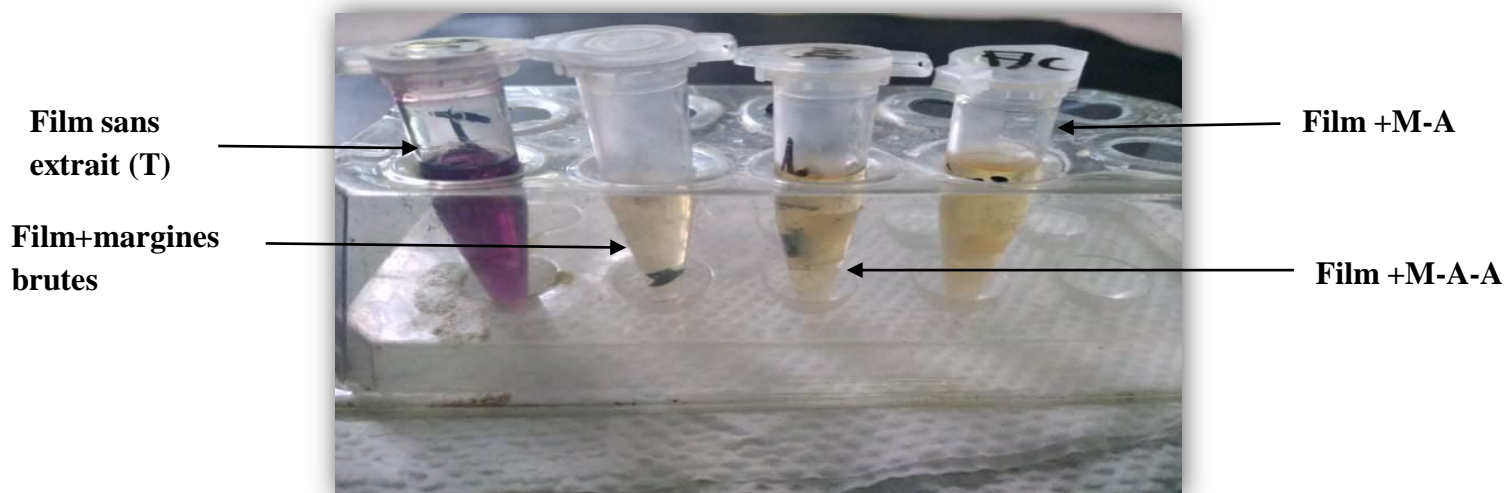
Annexe 5. Les étapes de l'évaluation de l'activité antimicrobienne de la viande et l'effet des films avec les extraits sur la conservation de la matrice.



Annexe 6. Photographie de la gamme des dilutions de l'acide gallique



Annexe 7. Photographie des extraits de *Carthamus caeruleus* L.
(C-A-A : *C caeruleus* L+AC ; C-ETH : *C caeruleus* L+ éthanol)



Annexe 8. Photographie du virage de couleur de DPPH montrant l'activité antioxydante des films (M-A : Margines + AC ; M-A-A : Margines +AC +HCl ; T : Témoin).