



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de science alimentaire



Mémoire de fin de cycle

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

Spécialité : agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème

**Valorisation des sous-produits oléicoles :
Approche pour une application en emballage
Actif**

Réalisé par :

- Melle IDRICI Lina
- Mr IDRI Yanis

Soutenu le 17/09/2024

Devant le jury composé par ;

President : Mr. AMROUCHE Tahar

Professeur à l'UMMTO

Examineur : Mr. BENGANA Mohammed

MCB à l'UMMTO

Promotrice : Mme LAMMI /MEFIDENE Sarah

MCB à l'UMMTO

2023/2024



REMERCIEMENTS

*En premier lieu, nous remercions **ALLAH** le tout Puissant de nous avoir accordé la volonté, la santé et le courage durant ces années d'études.*

*Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans la confiance, la patience, la générosité et l'encouragement de notre promotrice, **Madame LAMMI S.** qui nous a encadré et dirigé avec une grande rigueur scientifique. Nous lui sommes profondément reconnaissants pour sa disponibilité, ses précieux conseils, ainsi que pour ses qualités relationnelles et humaines.*

*Nos remerciements vont également aux membres de jury **Mr AMROUCHET.** qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence du jury, veuillez trouver ici l'expression de notre profond respect. A **Mr BENGANA M.** qui nous fait l'honneur d'examiner notre travail.*

Nous remercions chaleureusement nos familles qui, nous ont soutenues et contribuées à la réalisation de ce travail.

Enfin, merci à toute personne qui a pu, de près ou de loin contribuer à l'accomplissement de ce travail.

LINA et YANIS

Dédicace

Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour, sincérité et fierté

Ma moitié maman

Les mots ne peuvent jamais vraiment exprimer toute la gratitude et l'amour que je ressens pour toi Malika. Ton sacrifice, ta tendresse et ta sagesse m'ont façonné en la personne que je suis aujourd'hui Merci pour chaque sourire, chaque étreinte, chaque conseil et chaque instant partagé.

Mon merveilleux papa

Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute ma gratitude et mon amour pour toi rahim. Tu as été la force silencieuse derrière chaque succès, le guide patient dans chaque épreuve, et la présence rassurante dans chaque moment de doute.

Ma princesse Ghina

Tu es bien plus qu'une sœur pour moi, tu es une amie. Tu grandis si vite, et je suis émerveillée par la personne incroyable que tu deviens. Ta gentillesse, ta générosité et ta force intérieure sont des qualités qui te rendent uniques et précieuse

Mon petit trésor mima

Je suis là pour toi à chaque étape de ta vie, prête à partager tes triomphes, à t'épauler dans les moments difficiles et à t'encourager à poursuivre tes rêves les plus audacieux. Sache que tu peux toujours compter sur moi

A la famille Amireche

A mes oncles Mamou, Farid, Amar, Djimi En cette occasion, je tiens à vous dire merci. Merci pour votre présence dans ma vie, pour vos conseils avisés et pour les rires partagés qui illuminant mes journées. Vous êtes plus que des oncles pour moi, vous êtes des modèles.

A ma douce Amel

Dans le livre de ma vie, tu occupes une place spéciale, éclairant chaque page de ton amour et de ta lumière.

A mes amis

**A mon cher ami idir, compagnon de mille aventure, je te remercie pour ta loyauté inconditionnelle et d'être cet ami sur lequel je peux toujours compter
Sans oublier mon cher binôme yanis pour son soutien moral sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet**

LYNA

Liste des abréviations

ATCC: American type culture collection

DMSO : Diméthylsulfoxyde

E. coli : Escherichia coli

FF : Feuilles fraîche

FS ; Feuilles séchées

FSB : Feuilles séchées broyées

GF : Grignon Frais

GS : Grignon séché

GSB : Grignon

MH: bouillon de Muller Hinton

PPT : polyphénols totaux

S.aureus : staphylocoque aureus

Liste des figures

Figure 1 : Carte oléicole d'Algérie	5
Figure 2 : caractéristiques morphologique de l'Olivier.....	8
Figure 3 : graphe de la production mondiale de l'huile d'olive.....	9
Figure 4 : Répartition des zones géographiques de l'oléiculture algérienne (Hadjou <i>et al.</i> , 2013).....	10
Figure 5 : schéma général du processus d'extraction d'huile d'olive par presse (Source : originale).....	13
Figure 6 : Système continu d'extraction de l'huile d'olive par centrifugation à trois phases (Vlyssies <i>et al.</i> ,2004 ;Dermeche <i>et al.</i> , 2013 ; Nadour <i>et al.</i> , 2015).....	16
Figure 7 : Système continu d'extraction de l'huile d'olive par centrifugation à deux phases (Vlyssides <i>et al.</i> , 2004 ; Dermeche <i>et al.</i> ,2013 ; Nadour <i>et al.</i> , 2015).....	17
Figure 8 :Exemples de polyphénols dans l'olivier. Glc-Glucose ; Rut-Rutinose (Yoon,2018).....	21
Figure 9 : Bassin de séchage des margines à Zaouiat Cheikh.....	26
Figure 10 : Grignon d'olive à la sortie de l'huilerie si Mhend Sahmoun à Mekla (Tizi- Ouzou).....	37
Figure 11 : séchage de grignon d'olive dans l'étuve.....	38
Figure 12 : Résultat du broyage avec un mortier en cuivre.....	38
Figure 13 : tamisage du grignon broyé.....	39
Figure 14 : feuilles d'olivier.....	40
Figure 15 : séchage des feuilles d'olivier.....	41
Figure 16 : broyage des feuillesd'olivier.....	41
Figure 17 : poudre des feuilles d'olivier.....	42
Figure 18 : Les étapes de coloration de Gram (Clark, 1981).....	43
Figure 19 : Comparaison de la turbidité entre la solution de McFarland 0.5 et la suspension bactérienne standardisée.....	44
Figure 20 : Préparation de la culture bactérienne (Repiquage).....	46
Figure 21 : Antibiogramme avec les disque d'antibiotiques (test positif).....	46

Figure 22 : antibiogramme réalisé selon la technique des puits.....	47
Figure 23 : Schéma d'une extraction solide-liquide	48
Figure 24 : protocole de dosage des polyphenols.....	50
Figure 25 : Séries de dilutions des extraits de grignon d'olives et de feuilles d'olivier pour le dosage des polyphénols totaux.....	52
Figure 26 : filtration (A) et évaporation (B) de l'extrait de grignon frais.....	54
Figure 27 : Vérification de l'activité antibactérienne de l'EGF	56
Figure 28 :Préparation du gel à l' EGF	58
Figure 29 : Vérification de l'activité antibactérienne du gel à l' EGF (De haut en bas les différentes concentrations du gel 10%, 30% et 50%. De gauche à droite les trois répétitions pour la même concentration du gel).....	59
Figure 30 : Transformation de grignon d'olive.....	58
Figure 31 : Transformation de feuilles d'olivier.....	60
Figure 32 : Observation des souches bactérienne (E. coli : A) et (S. aureus : B) après Coloration de Gram sous Microscope optique (G x 100).....	61
Figure 33 : observation macroscopique et microscopique des colonies d' E. coli sous microscope optique G x 40.....	63
Figure 34 : observation macroscopique et microscopique des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sous au microscope optique G x 40.....	63
Figure 35 : rendement (%) des extraits de grignon d'olive et feuilles d'olivier.....	64
Figure 36 : résultat d'antibiogramme de disque sur les deux souches.....	67
Figure 37 : effet antibactérien de grignon d'olive et feuilles d'olivier sur les 2 bactéries ciblées.....	68
Figure 38 : Effet Antibactérien de l'Extrait sur E. coli et S. aureus.....	72
Figure 39 : Effet Antibactérien du gel à base d'extrait de grignon d'olive frais sur les souches testées à différentes concentrations (10%, 30%, 50%).....	74

Liste des tableaux

Tableau 1 : production mondiale d'huile d'olive (2021/2024).....	9
Tableau 2 : Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100g) selon plusieurs auteurs.....	18
Tableau 3 : Les groupes phénoliques dans l'extrait de feuille d'olive (OLE) (Benavente Garcia <i>et al.</i> , 2000).....	21
Tableau 4 : résultats en (cm) des diamètres des zones d'inhibition.....	69

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	

1^{er} partie : partie bibliographique

Introduction	
1. Généralités sur l'oléiculture.....	3
1.1. Olive et olivier.....	3
1.2. Origine de l'olivier.....	7
1.3 Production mondiale.....	9
1.4 Production nationale.....	11
1.5 Procédés d'extraction de l'huile d'olive.....	12
1.5.1 Préparation des olives.....	12
1.5.2. Procédé discontinu.....	13
1.5.3. Procédé continu.....	14
1.6. Les sous-produits oléicoles.....	19
1.6.1. Feuilles d'olivier.....	20
1.6.2. Margine	27
1.6.3 Grignon d'olive.....	28

2 /EMBALAGE ACTIF

2.1. Introduction.....	30
2.2.Emballage alimentaire : fonction Et enjeux.....	30

3/REVETEMENT ALIMENTAIRE

3.1 Définition d'un revêtement alimentaire.....	28
3.2 Rôle d'un revêtement alimentaire.....	30
3.3 Types de revêtement alimentaire.....	33
3.4 Nouvelles alternatives de revêtements pour l'emballage alimentaire.....	34

2^{ème} partie : Etude expérimentale

1. Matériel et Méthodes.....	36
1.1. Matériel.....	36
1.2. Méthodes.....	36
1.2.1. Récolte des sous-produits oléicoles.....	36
1.2.1.1. Grignon d'olive.....	36
1.2.1.2. Feuilles d'olivier.....	38
1.3 Etude microbiologique	
1.3.1. Vérification de la pureté des souches bactériennes.....	41
1.3.2 Préparions d'un standard de Mc Farland à 0,5.....	42
1.3.3 Antibiogramme	43
1.3.3.1 Evaluation de la sensibilité des bactéries tests aux antibiotiques commerciaux.....	44
1.3.3.2 Evaluation de l'activité antibactériennes des sous-produits oléicoles par la technique des puits.....	45
1.3.4 Extraction et dosage des polyphénols totaux.....	46
1.3.5 Préparation du gel antibactérien.....	51
1.3.5.1 Extraction des polyphénols à partir de grignon frais.....	51
1.3.5.2 Evaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait de grignon d'olive.....	52

3^{ème} partie : Résultats et discussion

Résultats et discussion.....	56
1. Préparation de biomasses.....	56
1.1. Grignon d'olive.....	56
1.2. Feuilles d'olivier.....	58
2. Résultats de l'étude microbiologique.....	60
2.1 Vérification de la pureté des souches bactériennes.....	60
2.1.1 La coloration de Gram.....	61

2.1.2 Etude macroscopique et microscopique des souches d'Escherichia coli et Staphylococcus aureus.....	61
2.2 Résultats des dosages de polyphénols totaux des extraits de grignon d'olive et les feuilles de l'olivier.....	63
2.3 Antibiogramme.....	66
2.3.1 Résultat de l'évaluation de la sensibilité des bactéries tests aux antibiotiques.....	67
2.3.2 Résultats d'évaluation de l'activité antibactériennes les différentes biomasses par la technique des puits.....	70
2.3.3 Résultats d'évaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait de grignon d'olive (EGO).....	70
2.3.4 Résultats d'évaluation de l'effet antimicrobien du gel.....	72

L'industrie oléicole, tout en produisant l'une des huiles les plus prisées au monde, génère également d'importantes quantités de sous-produits, notamment les margines, les grignons d'olives et les feuilles d'olivier. Ces résidus, longtemps perçus comme des déchets, posent des défis environnementaux majeurs, mais offrent aussi des opportunités de valorisation. Les margines, riches en composés organiques, les grignons, issus du mélange de pulpe et de noyaux d'olives, ainsi que les feuilles d'olivier, souvent négligées, peuvent être exploités dans divers secteurs économiques tels que l'agriculture, la cosmétique et l'industrie pharmaceutique.

En 2024, la production mondiale de grignons d'olives atteint environ 3 millions de tonnes, bien que cette quantité fluctue en raison des conditions climatiques et des tendances économiques. En Algérie, cette production est estimée à environ 160 000 quintaux, avec une légère augmentation par rapport aux années précédentes. Lors de la transformation de 100 kg d'olives, environ 35 à 40 kg de grignons sont générés, accompagnés de 40 à 55 kg de margines et d'une quantité moindre de feuilles d'olivier (environ 1 à 2 kg). Ces sous-produits, autrefois considérés comme des résidus sans valeur, regorgent de composés bioactifs aux propriétés intéressantes, notamment les polyphénols.

L'exploitation des grignons d'olives, en particulier, se présente comme une nécessité incontournable. Ces derniers sont riches en polyphénols, des composés reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. La valorisation de ces composés permet non seulement de réduire l'impact écologique de l'industrie oléicole, mais aussi de créer des produits à forte valeur ajoutée. Par exemple, 100 kg de grignons peuvent permettre l'extraction d'environ 0,9 à 1,0 kg de polyphénols, en fonction de leur origine et des procédés de traitement utilisés.

En parallèle, les feuilles d'olivier, bien que souvent sous-estimées, représentent-elles aussi une ressource précieuse. Disponibles en grande quantité, notamment lors de la taille annuelle des oliviers, elles contiennent des concentrations élevées de composés bioactifs tels que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol. Ces composés présentent un fort potentiel dans des industries comme la cosmétique, l'alimentation et même l'énergie. De plus, les recherches récentes ont montré que les feuilles d'olivier pouvaient

également être utilisées dans la production de bioplastiques ou encore dans l'alimentation animale, renforçant ainsi leur intérêt économique et environnemental.

En plus de ces sous-produits, la taille annuelle des oliviers génère également une quantité significative de feuilles, estimée à environ 25 à 30 kg de feuilles par arbre. Cette quantité peut varier en fonction de la taille des arbres, des pratiques agricoles et de la variété des oliviers.

Selon Malik (2022), l'étude explore l'extraction de composés phénoliques et antioxydants à partir des feuilles d'olivier. Les résultats montrent que ces feuilles contiennent des concentrations élevées de composés bioactifs, notamment l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol, qui présentent un fort potentiel d'utilisation dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques en raison de leurs propriétés bénéfiques. Ces composés peuvent également être utilisés pour leurs effets antioxydants, contribuant ainsi à la prévention de diverses maladies liées au stress oxydatif.

Ces études montrent que les feuilles d'olivier peuvent être valorisées de nombreuses façons, notamment par l'extraction de composés bioactifs, l'utilisation dans l'alimentation animale, la production de bioénergie, et d'autres applications industrielles et environnementales. La valorisation des feuilles d'olivier offre des opportunités pour réduire le gaspillage, générer de nouvelles sources de revenus et promouvoir des pratiques durables dans l'industrie oléicole.

L'ensemble de ces initiatives de valorisation s'inscrit dans une dynamique globale visant à minimiser le gaspillage tout en maximisant les bénéfices économiques et écologiques de la filière oléicole. Avec des politiques incitatives appropriées, cette approche pourrait non seulement contribuer à la durabilité de l'industrie, mais aussi à la création de nouvelles sources de revenus, tout en favorisant une économie circulaire.

L'objectif de ce travail est de valoriser les sous-produits solides de l'oléiculture, comme le grignon d'olives et les feuilles d'olivier, en développant un gel antibactérien innovant. Ce gel pourrait être utilisé comme revêtement dans les emballages alimentaires actifs.

Cette étude vise à offrir une solution durable en utilisant les sous-produits de l'industrie oléicole et en favorisant des pratiques respectueuses de l'environnement.

Introduction

L'olivier appartient à la famille des oléacées dont le nom latin est « *Olea* ». Il comporte diverses espèces dont ; l'*Olea europaea* qui se divise en deux sous- espèces '*Olea europaea sylvestris* ou oléastre, c'est à dire l'olivier sauvage et '*Olea europaea sativa* ou l'olivier cultivé (Argenson et al., 1999).

Les produits dérivés de l'olivier jouissent d'une réputation bien établie pour leurs bienfaits avérés sur la santé et leur valeur nutritionnelle. En raison de ces avantages et de l'importance socio-économique, environnementale et agricole de l'olivier, la culture de cet arbre est en pleine croissance à l'échelle mondiale et nationale (Dermeche, 2020).

1. Généralités sur l'oléiculture

1.1. Olive et olivier

Dont les noms vulgaires, dans le bassin méditerranéen, dérivent de deux sources uniques : *EAAIA (OLEUM)*, terme d'origine égéenne, passé directement du grec au latin : *OLEA* ; le nom hébreux *ZAIT* ou *SAIT* qui a passé dans l'arabe : *ZAITUM*. Ces deux noms, grecs et hébreux, provenant de ce substrat méditerranéen, laissant supposer un intermédiaire étrusque, sont venus, par les deux rives de la méditerranée, se rejoindre dans la péninsule ibérique. Les espagnols disent *OLIVO*, *OLIVEIRA*, en Andalousie *ACEI- TUNO* (olivier cultivé), *AZEBRUCHE* (olivier sauvage). Les portugais : *OLIVEIRA* (olivier cultivé) et *ZAMBUGEIRO* (olivier sauvage). Les algériens disent *ZEMBOUDGE* pour l'olivier sauvage.

L'olivier est intimement lié à l'histoire des civilisations qui ont émergées autour du bassin méditerranéen. Dans les sociétés de l'Antiquité, telles que les Grecs, les Romains, les Égyptiens et les Phéniciens, l'olivier était un symbole de paix, de sagesse et de prospérité. On le retrouvait dans les couronnes des vainqueurs de compétitions sportives et son huile était utilisée dans la cuisine, pour l'hygiène corporelle et même comme source de lumière.(Henry, 2003)

L'olivier est le premier des arbres rapporté par la bible. Mais l'olivier été déjà présent bien avant que les premières traces que l'on a de cet arbre datent de 37 000 ans avant Jésus Christ, sur des feuilles fossilisées découvertes dans les îles de Santorin, en Grèce (Henry, 2003) de pollens et de feuilles fossiles de plus de 20 000 ans avant J.C., en France, de feuilles fossilisées datant de 12 000 ans avant J.C., en bordure de Sahara (Benhayoun & Lazzeri, 2007)

1.1.1. Botanique

L'olivier appartient à la famille des oléacées. Le genre est appelé "Olea" et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe (Akarkar, 2018)

La classification botanique de l'olivier selon (Dupont & Guignard, 2012), est la suivante :

- ✓ Embranchement : Spermaphytes
- ✓ Sous embranchement : Angiospermes
- ✓ Classe : Dicotylédones
- ✓ Sous classe : Astérides
- ✓ Ordre : Lamiales
- ✓ Famille : Oléacée
- ✓ Genre : Olea
- ✓ Espèce : Olea europea

1.1.2 Répartition géographique en Algérie

La répartition géographique des oliveraies en Algérie est principalement concentrée dans trois régions principales :

1. **Le Centre** : Cette région représente la plus grande part de la superficie oléicole en Algérie, avec environ 54,3 %. Elle est caractérisée par des zones montagneuses et accidentées.
2. **L'Est** : Cette région détient environ 28,3 % de la superficie totale des oliveraies en Algérie.
3. **L'Ouest** : Il compte pour environ 17 % de la superficie oléicole totale.

La plupart des oliveraies, environ 80 %, se trouvent dans des zones de montagne, sur des terrains accidentés et marginaux, qui sont peu fertiles et ont une pluviométrie moyenne comprise entre 400 et 900 mm par an.

En revanche, environ 20 % des oliveraies sont situées dans les plaines occidentales du pays, notamment dans les régions de Mascara, Sidi Bel Abbès et Relizane, où la pluviométrie moyenne annuelle est plus basse, autour de 300 à 400 mm (Benouafa, 2014).

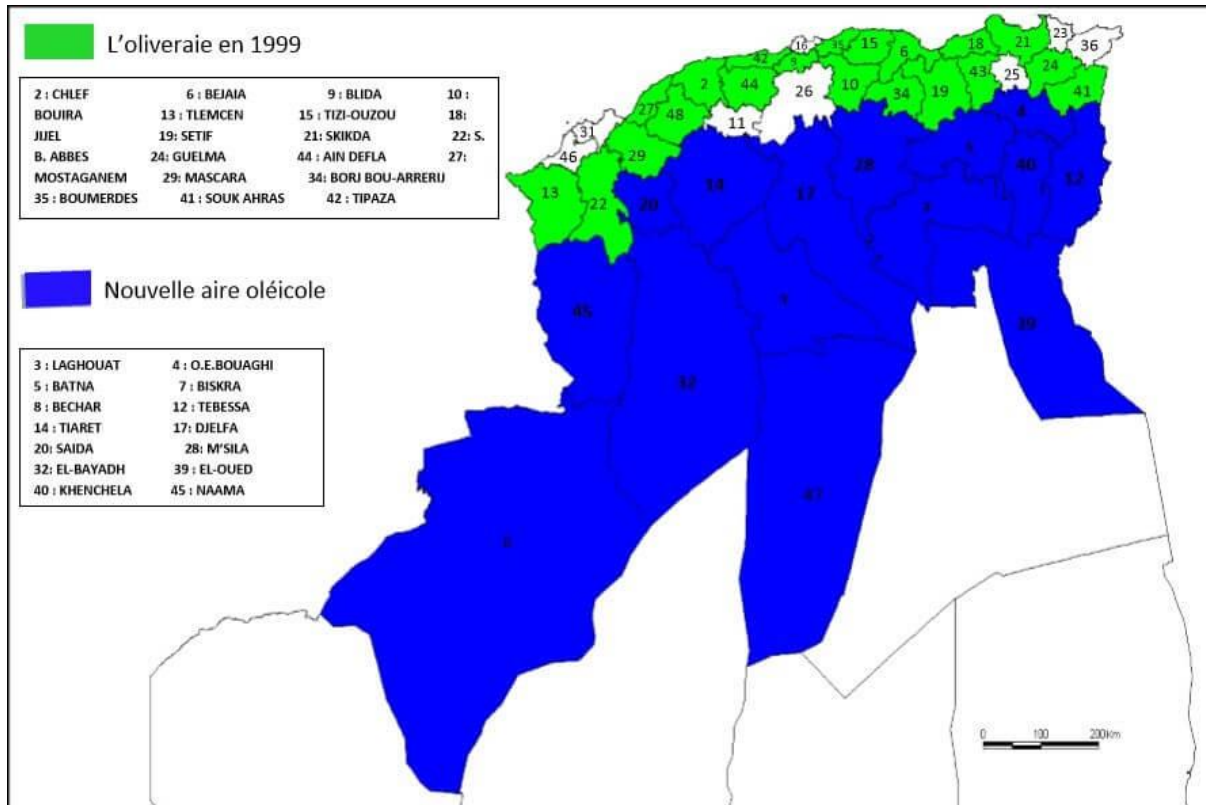


Figure 1 : Carte oléicole d'Algérie {Zohra}

1.2. Origine de l'olivier

L'Olivier est cultivé depuis environ 6000 ans dans le bassin méditerranéen où se trouve

95% du patrimoine oléicole mondial. Ses lieux d'origine les plus probables sont la Syrie et

L'Iran (Loussert, 1978) Les qualités nutritionnelles, organoleptiques, diététiques et médicinales du produit noble notamment l'huile d'olive, récemment confirmées par des résultats de recherches scientifiques assez pointues, expliquent l'intérêt spectaculaire accordé à cet arbre durant les vingt dernières années. Dans tous les pays du pourtour méditerranéen, l'olivier qui symbolise la paix, la sagesse et la prospérité renferme une grande diversité génétique. A présent, plus de 2000 variétés d'olivier ont été identifiées et sont cultivées dans le monde. En Espagne, 262 variétés ont été répertoriées, 476 variétés en Italie et plus de 150 variétés en Algérie.

L'olivier apporte à l'homme deux principaux produits : son fruit, l'olive, dont on extrait l'huile.

- L'huile : représente sa plus grosse production (dépassant largement toutes les autres) et se classe au cinquième rang parmi les huiles végétales comestibles fluides. Fort appréciée dans tout le bassin méditerranéen, tant par sa finesse et sa saveur que par ses qualités culinaires.
- L'olive : Petit fruit ellipsoïdale d'environ 2 cm de longueur qui comporte un noyau lui-même allongé. L'olive ne comporte pas moins de 10 minéraux (sodium, magnésium, fer, cuivre...), des acides au nombre de 6 ou 7, des vitamines (A, D et F), des pigments, de la cire, de la chlorophylle, de l'eau et divers autres éléments (Bourbia, 2016). L'olive se présente sous deux formes vertes et noires. L'olive verte est la plus demandée. L'olive noire, moins recherchée, possède une plus grande valeur nutritive.

Divers sous-produits sont tirés de l'olivier :

- Grignons : employés comme engrais et combustible. Frais, ils servent d'aliments pour les porcs. En pulpe conviennent à n'importe quel bétail
- Bois : très apprécié des ébénistes.
- Feuilles utilisées en pharmacie (autrefois servaient d'aliments verts aux animaux

depuis quelques années, les noyaux intéressent des industries spécialisées (moulage, matériaux plastiques, etc.) (Pagnol, 1984)

L'oléiculture algérienne est caractérisée par une large gamme de variétés. La filière oléicole de montagne est localisée principalement dans la région de Kabylie ; l'huile d'olive reste dans cette région un produit naturel et sain.

- **Chemlal** : c'est la variété la plus dominante en Algérie, elle représente près de 45% du patrimoine oléicole nationale.
- **Sigoise** : c'est une variété auto-fertile, elle représente 20% du verger oléicole national. Généralement, elle se localise à l'ouest du pays allant d'Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen.
- **Azeradj** : en termes de potentiel productif, cette variété a l'avantage d'être la seule à assurer un rendement en huile allant de 24 à 28%, qui est meilleur que les autres variétés pour lequel ce rendement est d'environ 16 à 24%. Le second atout de cette variété est sa résistance à la sécheresse.(Lamani & Ilbert, 2016)
- **Bouchouk** : elle accompagne généralement les peuplements de Chemlal dont Azeradj améliore la pollinisation. Elle présente un gros fruit destiné à la conserverie et même à la production d'huile.
- **Limli** : représente 8% du verger oléicole national, elle se rencontre dans la région d'Oued Soummam.
- **Roulette de Mitidja** : c'est une variété à huile installée dans la plaine de Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude.
- **Roulette et blanquette de Guelma** : elles se trouvent en association dans la région est du pays(Maouche & Hebib, 2021).

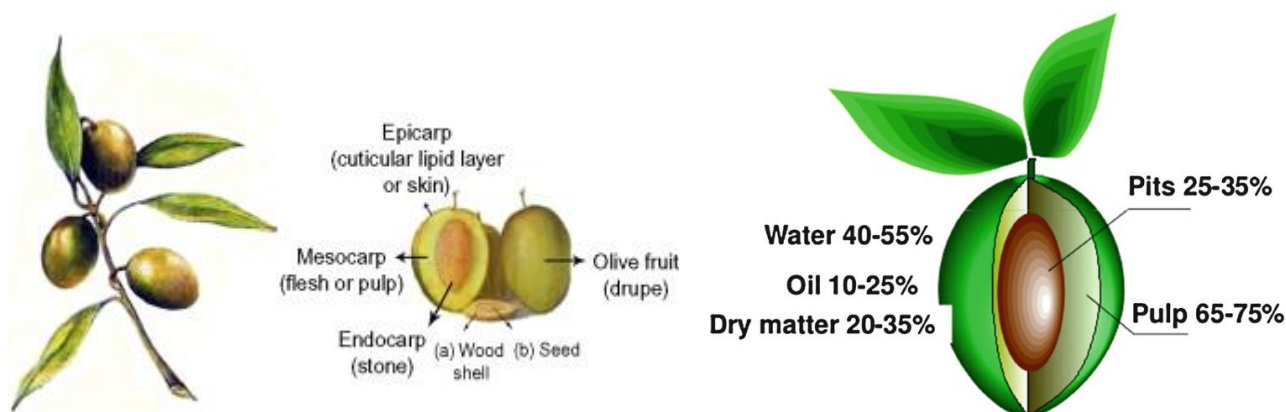


Figure 2 : caractéristiques morphologiques de l'Olive (Maymone et al., 1961).

L'olive se compose de ces différents tissus

- Un épicarpe 2 à 2.5 % : l'eau de l'olive, il est recouvert d'une matière cireuse, la cuticule, qui est imperméable à l'eau.
- Un mésocarpe 71,5 à 80,5% : la pulpe du fruit est constituée de cellules dans lesquelles va être stockée l'huile d'olive.
- Un endocarpe : 17,3 à 23,0% paroi du noyau 2,0 à 5,5% Amandes

1.3. Production mondiale

Selon les prévisions du COI (Conseil International Oléicole), la production mondiale d'huile d'olive 2023/2024 devrait chuter à 2,4 Mt, soit une baisse de 8 % par rapport à la campagne précédente.

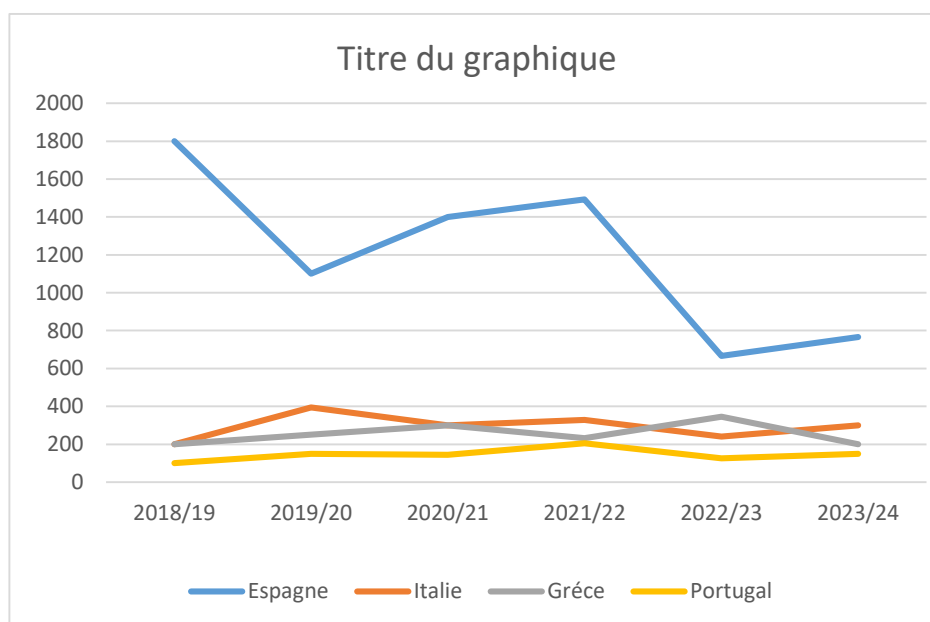
La production de la campagne oléicole 2023/24 sera, pour la deuxième année consécutive, inférieure à la moyenne des quatre campagnes précédentes. Les principaux pays producteurs devraient produire 1,9 Mt soit une diminution de 7 % en un an. Malgré tout, selon les premières estimations de l'UE, la production d'huile d'olive européenne devrait s'approcher de 1,5 Mt (1,4 Mt en 2022/2023) en hausse de 7 % par rapport à la campagne précédente.

Tandis que les pays de la méditerranée occidentale (Espagne, Italie, Portugal, Tunisie et Maroc) prévoient des volumes de récolte plus importants ou stables par rapport à 2022/23, la Grèce et la Turquie annoncent une baisse significative de leur production, principaux pays producteurs mondiaux (tableau N°1)

Tableau I : production mondiale d'huile d'olive (2021/2024)

Bassin de production occidental (1000t)

	2021/22	2022/23	2023/24	variation 2023/24%
Espagne	1 492	666	766	+ 15 %
Italie	329	241	300	+ 25 %
Tunisie	240	180	200	+ 11 %
Portugal	206	126	150	+ 19 %
Maroc	190	107	106	- 1 %
Bassin de production oriental				
Turquie	235	380	210	- 45 %
Grèce	232	345	200	- 42 % supérieure à 40 %.

**Figure 3 : graphe de la production mondiale de l'huile d'olive**

1.4. Production nationale

La superficie totale du verger oléicole national s'élève, comme évoqué auparavant, à environ 389 000 ha pour plus de 25 millions d'arbres.

L'oléiculture est concentrée exclusivement au niveau de 6 principales wilayas, trois wilayas de la région du Centre, qui représente plus de 50% de la surface oléicole nationale (Bejaia, Tizi-Ouzou, Bouira) et trois de la région Est (Bourdj Bourreridj, Sétif et Jijel). Quant au reste du verger oléicole, plutôt consacré à la production d'olives de table, il se trouve essentiellement dans trois autres wilayas (Tlemcen, Mascara et Relizane). L'oléiculture orientée vers la production d'huile d'olive domine la quasi-totalité de la région de Bejaia, avec près de 70% de la surface arboricole totale. Elle s'étend sur une superficie de plus de 60 000 ha (Boudi *et al.*, 2013). Comparativement aux autres wilayas productrices d'olives destinées à l'huile, Bejaia est en première position. (Lamani & Ilbert, 2016)

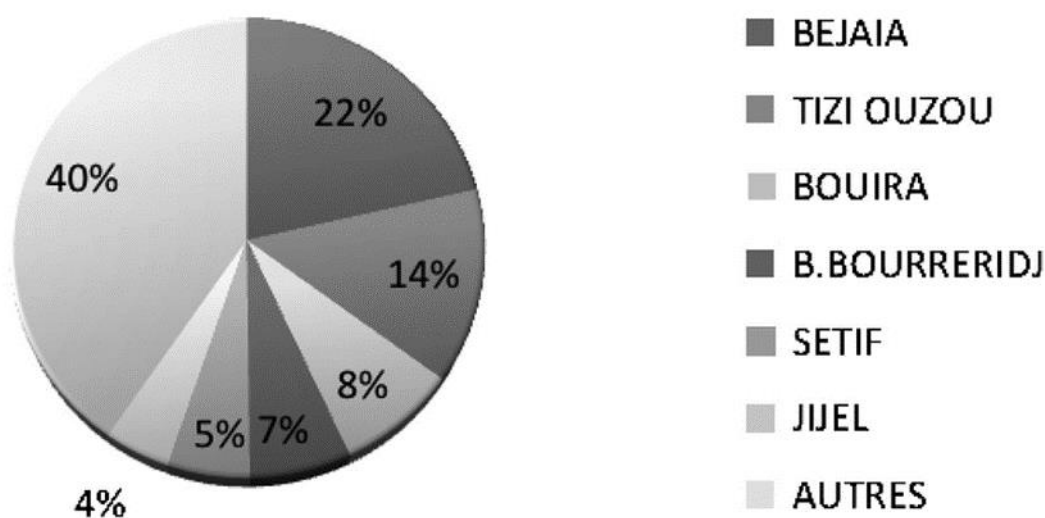


Figure 4 : Répartition des zones géographiques de l'oléiculture algérienne

(Hadjou *et al.*, 2013)

1.5. Procédés d'extraction de l'huile d'olive

L'huile d'olive est obtenue à partir du fruit de l'olivier grâce à des procédés d'extraction à plusieurs étapes, qualifiés de discontinus par pressage ou continus par centrifugation (horizontales et verticales) dans des industries oléicoles traditionnelles ou modernes. La qualité de l'huile d'olive et le rendement d'extraction sont étroitement associés à la variété, la période de collecte, la durée de stockage des olives et le système d'extraction employé.

L'utilisation de certaines préparations enzymatiques durant le processus d'extraction améliore la qualité de l'huile d'olive ainsi que le rendement d'extraction (Montedoro *et al.*, 1993; Peres *et al.*, 2014 ; Peres *et al.*, 2017).

1.5.1. Préparation des olives

Avant de procéder à l'extraction de l'huile d'olive, la première étape consiste en le nettoyage des olives, l'enlèvement des tiges, des feuilles, des brindilles et d'autres débris. Le lavage vise également à éliminer les pesticides et les poussières (Souilem *et al.*, 2017). Les contaminants légers sont alors éliminés par un flux d'air ou d'eau et les particules lourdes retombent dans un bain d'eau. Le lavage est un point de contrôle critique en raison d'une éventuelle contamination microbologique et de dommages physiques pouvant affecter les olives (Souilem *et al.*, 2017). Le stockage des olives à court terme avant l'extraction de l'huile peut réduire les attributs sensoriels de l'huile d'olive en raison des changements dans les propriétés physico-chimiques des composés phénolique CP (Vichi *et al.*, 2015).

1.5.2. Procédé discontinu

Le procédé d'extraction de l'huile d'olive le plus répandu et le plus ancien est bien le système discontinu par presse (figure 5). La pâte résultante suite au broyage des olives est étendue sur des disques de fibres entassés les uns sur les autres puis placés dans le pressoir. Ces disques sont traditionnellement construits en fibres de chanvre ou de noix de coco ou en fibres synthétiques pour de plus faciles nettoyage et maintenance (Kapellakis *et al.*, 2008).

La phase solide de la pâte des olives est compactée par pression appliquée sur les disques, les phases liquides générées, l'huile et les eaux de végétation (connues sous le nom de margines, amuredje en Kabylie, amurca ou alpechin en Europe) sont ensuite récupérées.

Afin de faciliter la séparation de l'huile des autres phases, une faible quantité d'eau est ajoutée. De plus, ce procédé génère aussi une fraction solide appelée grignon d'olive (amegrouche en Kabylie) contenant la pulpe d'olive, la peau, le noyau et l'eau. Ce sous-produit, mélangé avec une émulsion qui contient l'huile d'olive, est séparé par décantation du reste des margines. Les principaux avantages de cette méthode résident dans le faible coût de l'équipement, la simplicité de la technique et plus particulièrement, la faible quantité d'eau utilisée réduisant ainsi le volume des margines à environ 40 à 60 L/100 kg d'olives (Kapellakis *et al.*, 2008).

En revanche, ces margines en étant plus concentrées, posent de sérieux problèmes écologiques comparées à celles générées par les autres procédés d'extraction utilisant des volumes d'eau plus importants (Di Giovacchino *et al.*, 2002). De surcroît, la discontinuité du procédé demeure fastidieuse et présente un coût élevé de la main d'œuvre.

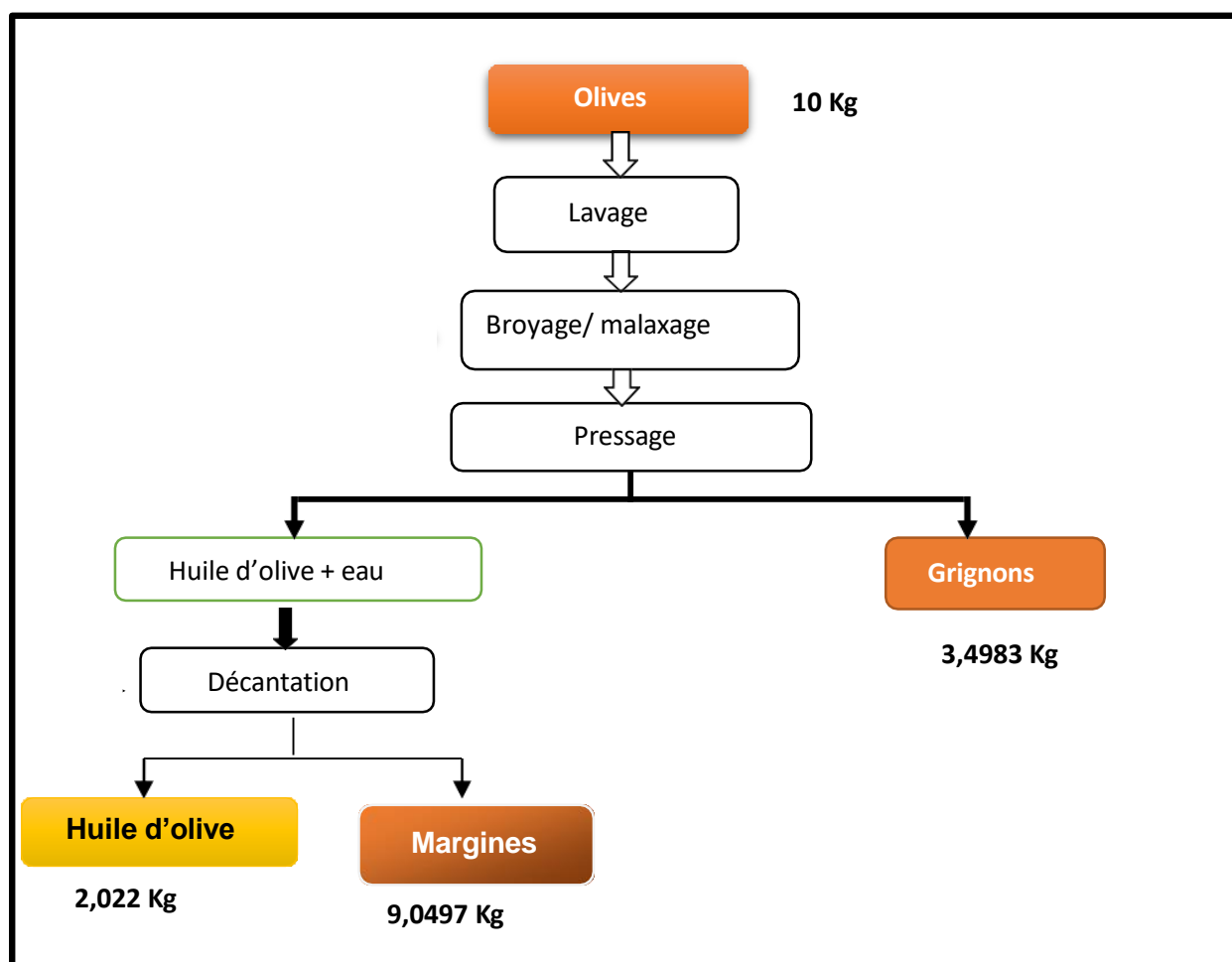


Figure 5 : schéma général du processus d'extraction d'huile d'olive à presse

(Vlyssides et al .,2004 ; Dermeche et al .,2013 ; Nadour et al., 2015).

1.5.3. Procédé continu

Le procédé continu d'extraction de l'huile d'olive utilise un décanteur industriel, où s'effectue le fractionnement des phases par centrifugation selon la différence de densité des composants de la pâte d'olives (huile, eau et résidus insolubles). La pâte d'olive, obtenue suite au broyage et malaxage automatique, peut être alors traitée soit par un décanteur centrifuge à deux phases, soit par un décanteur centrifuge à trois phases. Dans le système à deux phases, le produit est séparé en phase liquide (huile) et en phase solide (fragments des noyaux, pulpe et un concentra d'eau de végétation). Dans le système d'extraction à trois phases (figure 6), le produit est séparé en phase liquide légère (huile), en phase liquide lourde (les margines) et en phase solide qui est le grignon (fragments de noyaux et pulpe). Cette dernière

porte plusieurs appellations en Europe selon sa concentration, laquelle est étroitement associée aux volumes d'eau utilisées. Ainsi, les termes ou appellations "olive *pomace*, *alperujo*" européennes se réfèrent aux grignons humides pâteux du système d'extraction à deux phases. Dans les deux systèmes à deux et à trois phases, la phase huileuse est récupérée par une séparation gravitationnelle (Souilem *et al.*, 2017).

1.5.4.1 Extraction à trois phases

Le procédé d'extraction à trois phases a été introduit durant les années 1970 d'une part, pour la rapidité opérationnelle en vue d'augmenter les quantités d'olives à traiter et les rendements d'extraction et d'autre part, pour réduire la main d'œuvre et la durée de stockage des olives (Souilem *et al.*, 2017).

Comme le montre la (figure 6), le procédé d'extraction continu à trois phases génère un volume considérable de margines qui représente environ 80 à 120 L/100 Kg d'olive et ce, en raison de l'addition de l'eau chaude à l'étape de centrifugation qui est de 1,25 à 1,75 fois supérieure à une extraction traditionnelle (Albuquerque *et al.*, 2004).

Une automatisation totale et une production d'huile rapide et de meilleure qualité sont les avantages marquant ce système. En revanche, une consommation élevée en eau et en énergie ainsi que des coûts d'équipements assez importants soulignent les inconvénients de ce système.

En dépit de la grande consommation en eau, ce procédé demeure toujours employé et plus particulièrement dans les pays producteurs de grandes quantités de l'huile d'olive et ce, sur de courtes périodes.

1.5.4.2 Extraction à deux phases

Le procédé d'extraction à deux phases a été développé durant les années 1990. Il a été surnommé de décanteur économique, car il ne nécessite pas l'adjonction de gros volumes d'eau et par conséquent, il génère d'infimes quantités de margines comme le résume (la figure 7) (Roig *et al.*, 2006., Kapellakis *et al.*, 2008). Ces dernières, sont incluses avec le grignon et la pulpe résiduels pour donner un grignon humide constituant ainsi un sous-produit semi solide. Le système à deux phases est caractérisé par sa grande capacité de traitement, jusqu'à 100 tonnes d'olives par jour. Le grignon peut être exploité pour extraire davantage d'huile et augmenter ainsi les rendements (Aparicio et Harwood, 2013 ; Romero-Garcia *et al.*, 2014). Cependant, le grignon humide résultant est difficile à gérer pour sa charge polluante associée à sa concentration importante en matières organiques et en polyphénols. Le système d'extraction à deux phases prédomine actuellement en Espagne, où environ 90% des huileries opèrent avec cette technologie. Néanmoins, les problèmes de gestion des grignons humides très polluants limitent son utilisation par les autres pays producteurs de l'huile d'olive (Mcnamara *et al.*, 2008).

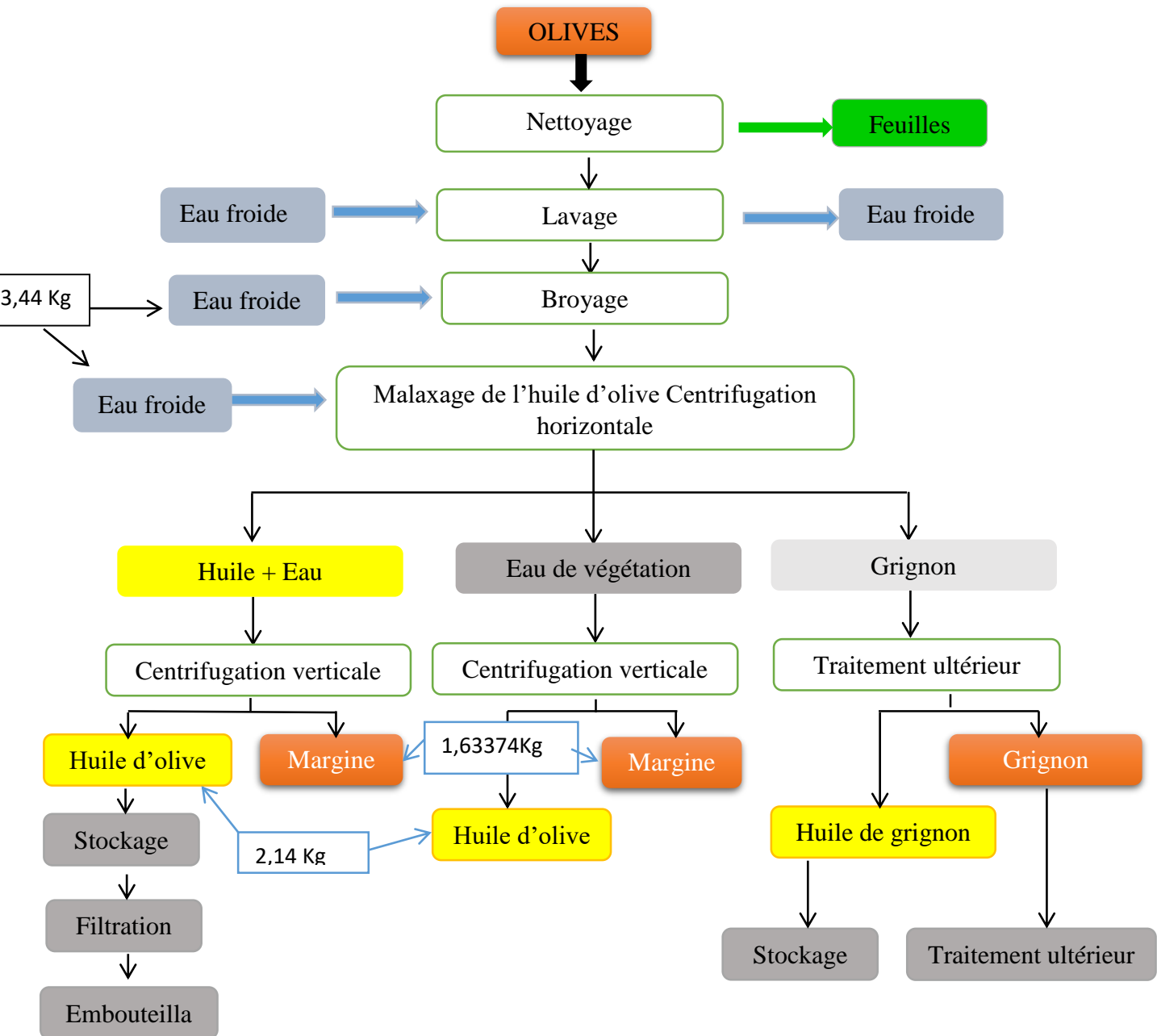


Figure 6 : Système continu d'extraction de l'huile d'olive par centrifugation à trois phases (VLYSSIES *et al.*,2004 ;DERMECHE *et al.* ,2013 ;NADOUR *et al.* ,2015).

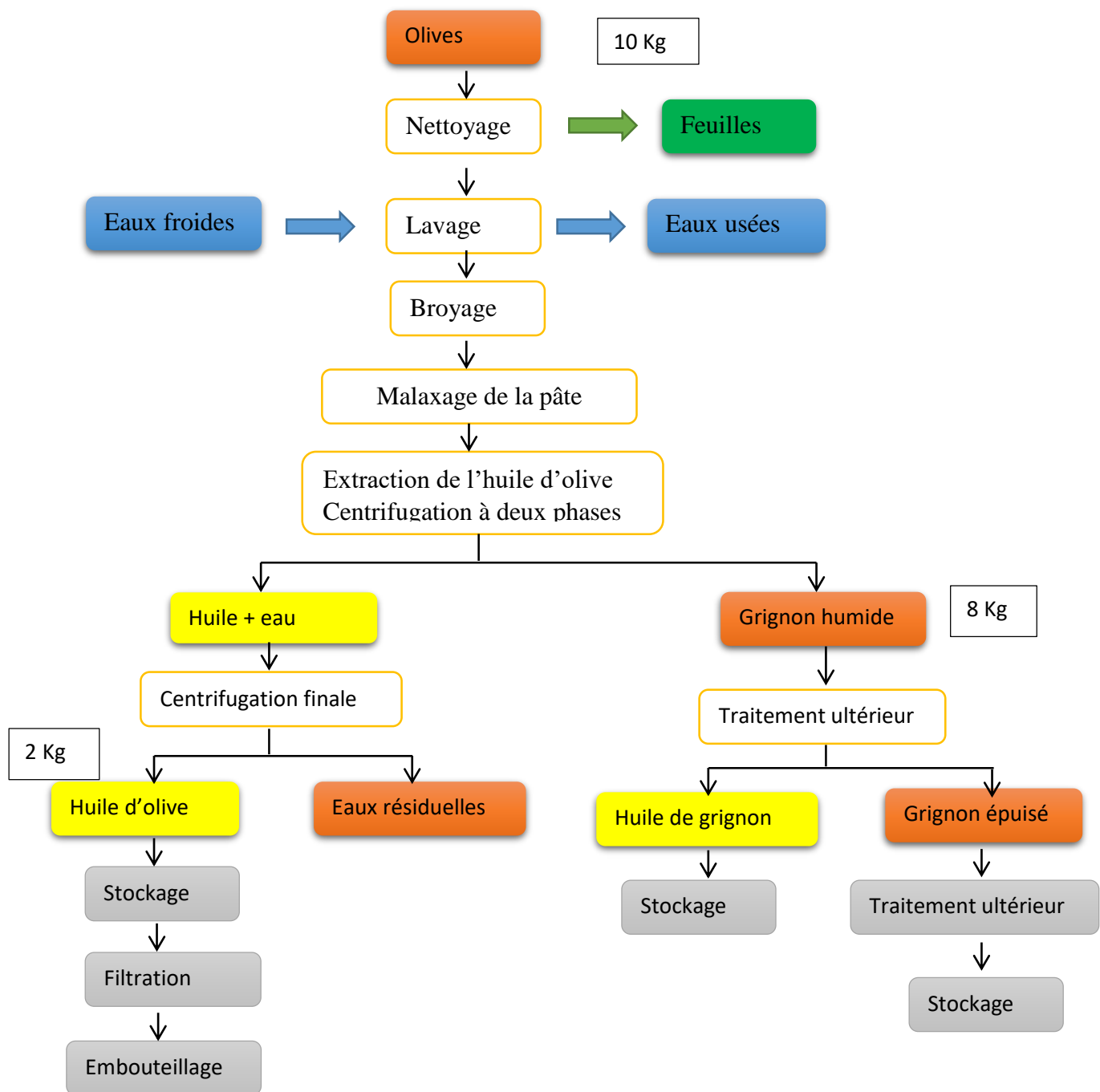


Figure 7. Système continu d'extraction de l'huile d'olive par centrifugation à deux phases (Vlyssides et al., 2004 ; Dermeche et al., 2013 ; Nadour et al., 2015).

1.6. Les sous-produits oléicoles

La croissance significative de la production d'huile d'olive dans les pays méditerranéens, tels que l'Algérie, entraîne la génération de grandes quantités de sous-produits connus sous le nom de margines et de grignons d'olives. À l'échelle mondiale, les industries oléicoles produisent chaque année près de 30 millions de mètres cubes de margines et 20 millions de tonnes de grignons. En Algérie, la production est estimée en moyenne à 2 millions de tonnes de margines et 9 millions de tonnes de grignons d'olive. Comme d'autres pays producteurs d'huile d'olive, l'Algérie est confrontée à la problématique de la pollution due aux effluents oléicoles et cherche à développer des biotechnologies pour les traiter. Avant d'examiner les différentes façons de valoriser les résidus oléicoles, examinons les divers systèmes d'extraction, les facteurs influençant la qualité de l'huile d'olive, ainsi que la composition chimique des résidus et leur impact sur l'environnement. (Dermeche, 2020)

1.6.1 Feuilles d'olivier

Le terme "feuilles d'olivier" indique qu'il s'agit d'un mélange de feuilles et de branches obtenues à partir de la taille des oliviers et de la récolte et du nettoyage des olives. Il représente environ 10% du poids des olives. Les feuilles d'olivier (FO) sont opposées, ovales allongées, portées par un court pétiole, Coriaces, entières, enroulées sur les bords, d'un vert foncé luisant sur la face supérieure, et d'un vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure (Aouidi, 2012).

1. Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques

Les composés phénoliques sont pour la plupart des dérivés substitués d'acide hydroxycinnamique (forme libre phénolique) et acide hydroxybenzoïque (forme liée phénoliques) (Singh et Saldaña, 2011). Les feuilles d'olivier peuvent être considérées comme une source naturelle bon marché et facilement disponible des composés phénoliques. Le rendement théorique maximal des teneurs en polyphénols déterminée par l'essai Folin-Ciocalteu, soit 250,2 mg d'acide gallique par 100 g de poids sec d'extrait de feuilles d'olivier (Sivakumaran *et al.*, 2004). Il varie entre 2,8 mg/g de matière sèche (Altıok *et al.*, 2008) et 44,3 mg/g de matière sèche (Boudhrioua *et al.*, 2009). Elle peut même dépasser les 250 mg/g de matière sèche (Mylonaki *et al.*, 2008).

Les polyphénols sont présents dans presque toutes les parties de l'olivier, mais leur nature et la concentration varient beaucoup d'un tissu à l'autre. Cinq groupes de composés phénoliques sont principalement identifiés dans les feuilles d'olivier :

- **Les oleuropéosides** (oleuropéine et verbascoside),
- **Les flavones** (lutéoline 7-O-glucoside, apigénine 7-O-glucoside, diosmétine 7-O-glucoside, lutéoline et diosmétine),
- **Les flavonols** (rutine),
- **Les flavan-3-ols** (catéchine)
- **Les phénols substitués** (tyrosol, hydroxytyrosol, vanilline, acide vanillique et acide caféique).

Les composés phénoliques les plus abondants dans les feuilles d'olivier est l'oleuropéine, suivie de l'hydroxytyrosol, le flavone-7-glucosides de lutéoline, d'apigénine et de verbascoside (Yoon, 2018).

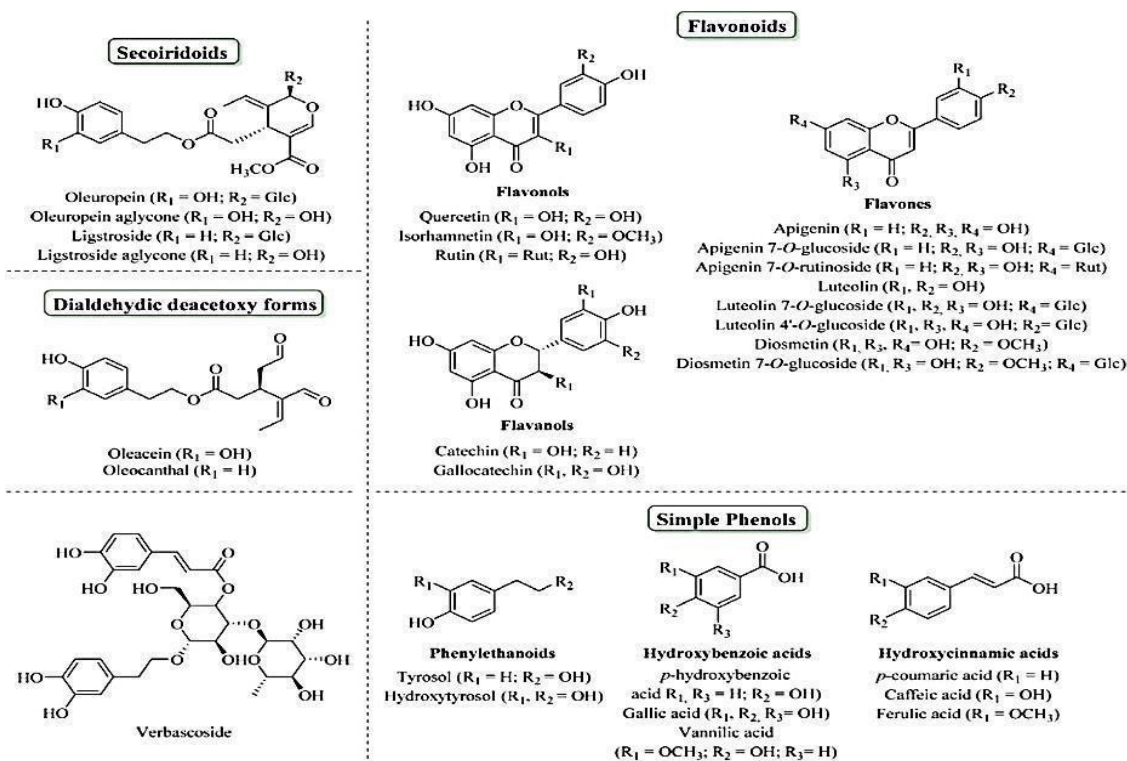


Figure N° 9 : Exemples de polyphénols dans l'olivier. Glc-Glucose ; Rut-Rutinoside (Yoon, 2018).

1.1 Composition

Tableau II : Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100g) selon plusieurs auteurs

Composition	Boudhrioua <i>et al.</i> , 2009	Erbay et Icier, 2009	Martin-Garcia <i>et al.</i> , 2006	Garcia-Gomez <i>et al.</i> , 2003	Fegeros <i>et al.</i> , 1995
Eau	46,2-49,7 a	49,8 a	41,4 a	Nd	44,0 a
Protéines	5,0-7,6 a	5,4 a	7,0 b	Nd	Nd
Lipides	1,0-1,3 a	6,5 a	3,2 b	6,2 b	Nd
Minéraux	2,8-4,4 a	3,6 a	16,2 b	26,6 b	9,2 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	27,5 a	Nd	Nd	Nd
Fibres brutes	Nd	7,0 a	Nd	Nd	18,0 b
Cellulose	Nd	Nd	Nd	19,3 b	11,4 b
Hémicellulose	Nd	Nd	Nd	25,4 b	13,3 b
Lignin	Nd	Nd	Nd	30,4 b	14,2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b	Nd	2,5 b	Nd	Nd
Tannins solubles	Nd	Nd	Nd	Nd	0,3 b
Tannins condensés	Nd	Nd	0,8 b	Nd	1,0 b

a : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

b : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

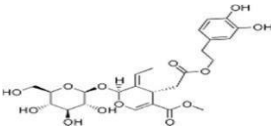
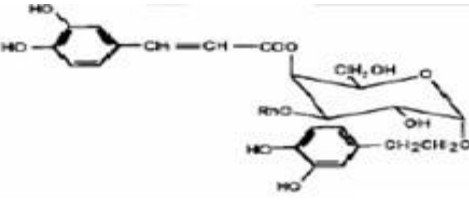
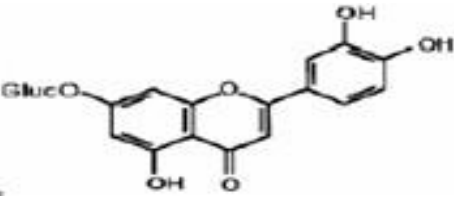
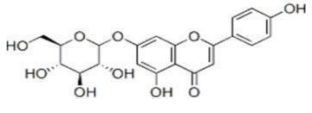
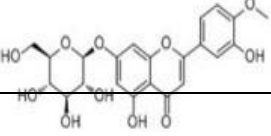
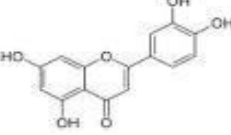
Nd : valeur non déterminée

1.2 Profil bioactif des feuilles d'olivier

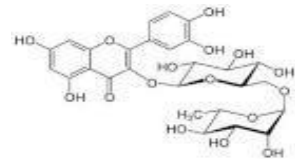
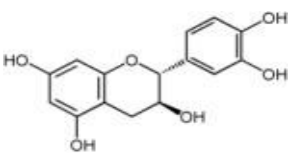
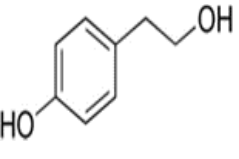
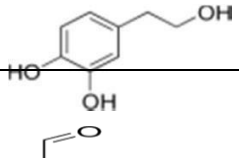
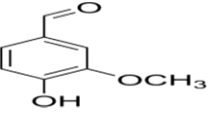
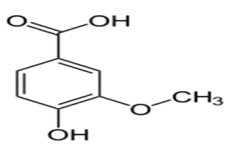
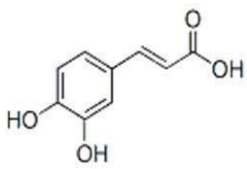
Les feuilles d'olivier contiennent plusieurs composés phénoliques (Tableau 3) tels que les sécoiridoïdes (oleuropéine, ligstroside, diméthyloleuropéine et oléoside), les flavonoïdes (apigénine, kaempférol, lutéoline) et les composés phénoliques (caféine acide, tyrosol, hydroxytyrosol). Une analyse qualitative et quantitative de la composition a été effectuée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la photodiode. La détection par réseau a révélé six composés polyphénoliques majeurs présents dans l'extrait de la feuille d'olivier : oleuropéine (24,5 %), verbascoside (1,1%), lutéoline-7-O-glucoside (1,4%), apigenin-7-O-glucoside, hydroxytyrosol (1,5 %) et tyrosol (0,7 %) (Hayes *et al.*, 2011 ; Niaounakis et Halvadakis, 2006 ; Rafiee *et al.*, 2012).

L'huile essentielle de feuilles d'olivier est un produit très complexe, c'est un mélange contenant des aldéhydes, des cétones, des esters, des alcools, des alcènes et des alcanes. Les composants majeurs de l'huile essentielle de feuille d'olivier sont du 2-décénal-(E) (20,43 %), benzène-acétaldéhyde (4,00 %), 2-undécénal (3,71 %) et valencen (3,31 %) (Konoz *et al.*, 2013).

Tableau III : Les groupes phénoliques dans l'extrait de feuille d'olive (OLE) (Benavente Garcia *et al.*, 2000).

Groupe	Composé	Structure	TEAC ^a de OLE (mM)
Oleuropéosides	Oleuropéine		0.88 ± 0.09
	Verbascoside		1.02 ± 0.07
Flavones	Luteolin-7-glucoside		0.71 ± 0.04
	Apigenin-7-glucoside		0.42 ± 0.03
	Diosmetin-7-glucoside		0.64 ± 0.09
	Lutéoline		2.25 ± 0.11
	Diosmétine		1.42 ± 0.07

Suite Tableau 3

Flavonols	Rutine		2.75 ± 0.05
Flavan-3-ols	Catéchine		2.28 ± 0.04
Phénols substitué	Tyrosol		0.35 ± 0.05
	Hydroxytyrosol		1.57 ± 0.12
	Vaniline		0.13 ± 0.01
	Acide Vannilique		0.67 ± 0.09
	Acide caffeique		1.37 ± 0.08
Capacité antioxydante équivalente de Trolox			

1.6.2. Margine

Les margines est un liquide d'aspect trouble, de coloration brune-rougeâtre à noire. Leur odeur rappelle celle de l'huile d'olive, mais elle peut devenir gênante lors des phénomènes de rancissement ou de fermentation. Elles sont caractérisées par un pH acide (3-5) et une très grande conductivité électrique. Sa couleur noire est due à la présence des polyphénols (Lesage-Meessen et al., 2001) . Les margines peuvent être considérées comme un complexe chargé en matières organique et minérale. Les changements dans les caractéristiques des margines résultent du type du procédé d'extraction de l'huile, de la qualité, de la variété des olives et de la conduite des opérations d'extraction (Fadil et al., 2003). Les composés fondamentaux des margines sont l'eau (83-96%), les matières organiques (3.5-15%) et de sels minéraux (0.5-2%) (Anglada et al., 2011)

1.6.3 Grignon d'olive

C'est un sous-produit du processus d'extraction de l'huile d'olive, issus de la première pression ou centrifugation (Nefzaoui, 1987). C'est un résidu solide composé des peaux, des résidus de la pulpe et des fragments des noyaux. Il est composé par une fraction riche en lignine provenant des fragments de noyaux, et l'autre renfermant principalement des glucides, comme la cellulose et l'hémicellulose et, dans une moindre mesure, des protéines et de l'huile résiduelle qui dépend de la technique d'extraction (Nefzaoui, 1984).

1.6.3.1 Caractéristiques physiques des grignons

Plusieurs types de grignons peuvent être distingués :

- Grignon brut

Résidu de la première extraction de l'huile par pression de l'olive entière, ses teneurs relativement élevées en eau (24%) et en huile (9%) favorisent son altération rapide lorsqu'il est laissé à l'air libre (Sansoucy, 1984).

- Grignon épuisé

Résidu obtenu après déshuilage du grignon brut par un solvant, généralement l'hexane (Sansoucy, 1984).

- Grignon partiellement dénoyauté

Résulte de la séparation partielle du noyau de la pulpe par tamisage ou ventilation (Sansoucy, 1984) : il est dit "gras" si son huile n'est pas extraite par solvant il est dit "dégraissé ou épuisé" si son huile est extraite par solvant

- La pulpe d'olive :

Pâte obtenue lorsque le noyau a été séparé de la pulpe préalablement à l'extraction de l'huile. Elle est riche en eau (60%) et de conservation très difficile (Sansoucy, 1984).

1.6.3.2 Composition chimique des grignons

La composition chimique des grignons d'olive varie dans de très larges limites selon le stade de maturité, le procédé d'extraction de l'huile et l'épuisement par les solvants (Nefzaoui, 1984).

1.6.3.2.1 La cellulose brute

Le taux de cellulose brute est élevé pour les grignons non dénoyautés. Le dénoyautage partiel réduit considérablement cette teneur, mais même la pulpe pure contient autour de 20% de cellulose brute (Sansoucy, 1984).

1.6.3.2.2 Les matières azotées

Leurs teneurs varient selon le type de grignon, mais restent relativement modestes (Sansoucy, 1984). Elles sont en moyenne de l'ordre de 10% (Nefzaoui, 1984)

1.6.3.2.3 Les cendres

Leurs teneurs sont normalement faibles, entre 3 et 5% (Nefzaoui, 1984).

1.6.3.2.4 Les matières grasses

La teneur en matières grasses des différents tourteaux vierge ou tourteaux pression est très élevée, de 15 à 20 % en moyenne. L'extraction de l'huile par des solvants permet d'abaisser ce taux à 4 - 5 % de matières grasses (Loussert et Brousse, 1998).

L'EMBALLAGE ACTIF

1. Introduction

Tous les aliments subissent une transformation progressive de leurs propriétés microbiologiques, chimiques, physiques et organoleptiques. La durée de conservation des aliments intéresse l'ensemble des acteurs de la chaîne alimentaire, du producteur au consommateur. Elle est influencée par de nombreux facteurs, parmi lesquels l'emballage joue un rôle primordial (Parisi, 2002).

Sans le développement de l'emballage, les systèmes de récolte, de traitement et de distribution des produits alimentaires n'auraient pas atteint leur niveau actuel. Les consommateurs n'auraient pas eu un accès facile à la vaste gamme d'aliments disponible aujourd'hui, et les déchets ainsi que les pertes dues à la détérioration des aliments auraient été plus importants (Cirillo *et al.*, 2015). Des systèmes d'emballage ont été mis en place pour atteindre ces objectifs, et des efforts considérables ont été déployés pour développer des matériaux plus efficaces sur les plans mécanique et fonctionnel (Volpe *et al.*, 2015).

2. Emballage alimentaire : fonction et enjeux

Avant de communiquer, tracer, transporter, commercialiser, l'emballage a pour fonction primaire de protéger et de stabiliser l'aliment (Zhang et Mittal, 2010). Qu'il soit en plastique, papier-carton, verre, bois, métal ou composite, l'emballage est mis en œuvre le plus souvent, à la fin de la chaîne de production de l'aliment et fait partie intégrante des technologies de conservation de l'aliment (Gontard, 2015).

La première fonction de l'emballage alimentaire est en effet de protéger, transporter et stocker ces denrées périssables que sont nos aliments. Cette nécessité est apparue durant la deuxième partie du vingtième siècle où l'emballage a été célébré par une intensification et une diversification considérables de ses formes et de ses utilisations. Deux prix Nobels ont été co-attribués en 1963 dans le domaine de la chimie des plastiques pour la découverte de catalyseurs permettant la polymérisation des polyéthylène et polypropylène qui sont aujourd'hui couramment utilisés comme emballage alimentaire. En réduisant les pertes des denrées alimentaires au cours des étapes de distribution, stockage et commercialisation, ces matériaux contribuaient ainsi déjà à d'importants enjeux de sécurité alimentaire (Gontard *et al.*, 2017).

Les systèmes d'emballage et les techniques de conditionnement peuvent être considérés comme des outils technologiques mis en œuvre pour assurer la

conservation des denrées alimentaires (Multon, 1998). Pour ces applications, les emballages sont avant tout des systèmes de protection passive des denrées alimentaires (exemple : une barrière physique entre le produit et le milieu environnant). La fonction de protection des emballages prend en compte la protection mécanique (contre les chocs), la protection contre les transferts de matière (essentiellement les gaz et les liquides), la protection contre les transferts d'énergie (lumière et chaleur) et la protection contre les micro-organismes. Les emballages participent ainsi pleinement au maintien de la qualité hygiénique et microbiologique des aliments tout au long des chaînes de distribution (Cuq et Redl, 2000).

La conservation des aliments pourrait être définie en termes de réduction des réactions de dégradation, à savoir des réactions physico-chimiques et microbiennes pour les produits non vivants et aussi des réactions physiologiques pour les produits vivants. La qualité et la salubrité des aliments dépendent de la qualité initiale des matières premières et du taux de réactions de dégradation qui surviennent pendant le traitement des aliments, du stockage, de la distribution et des étapes de préparation à domicile (Steele, 2004). L'emballage définit matériellement autour de l'aliment une atmosphère favorable à la préservation des qualités gustatives, nutritionnelles et de la sécurité sanitaire des aliments. Il permet de maîtriser les transferts de vapeur d'eau, d'oxygène et/ou de gaz carbonique qui conditionnent les vitesses de nombreuses réactions d'oxydation des constituants de l'aliment (vitamines, acides gras essentiels, composés d'arôme etc.), le développement microbien ou encore les réactions physiologiques de maturation des produits vivants (Guillard et Gontard, 2017).

Centre d'importants enjeux économiques, environnementaux et de santé publique, l'emballage alimentaire impose aujourd'hui aux acteurs économiques de faire évoluer les matériaux et les technologies vers des solutions plus respectueuses à la fois de l'environnement et du consommateur (Gontard *et al.*, 2017).

Le principal enjeu de la recherche et développement se situe aujourd'hui sur l'amélioration de l'impact environnemental du système « aliment emballé » dans son ensemble, non seulement en minimisant l'impact négatif du matériau d'emballage sur

l'environnement mais aussi en améliorant son rôle positif sur la réduction des pertes et gaspillages alimentaires qui impactent très fortement notre environnement (Angellier *et al.*, 2013).

En outre, la demande des consommateurs pour des aliments frais, légèrement transformés, faciles à préparer et prêts à consommer tout en conservant leur aspect attrayant pendant plusieurs jours, ainsi que les exigences de plus en plus strictes concernant la santé du consommateur, posent des défis majeurs pour la qualité et la sécurité des aliments (Vermeiren *et al.*, 1999 ; Yam *et al.*, 2005). Par conséquent, un emballage simple avec une couche barrière passive est souvent insuffisant (Hauser and Wunderlich, 2011).

Revêtement alimentaire

1. Définition d'un revêtement alimentaire

Un revêtement alimentaire se définit comme une fine couche de matériau comestible ou non comestible appliquée directement sur la surface d'un produit alimentaire ou sur la face interne d'un emballage en contact avec l'aliment. Cette couche généralement d'une épaisseur inférieure à 0,3 mm agit comme une barrière protectrice entre l'aliment et son environnement extérieur. Contrairement à un emballage traditionnel, le revêtement est en contact direct avec l'aliment et fait partie intégrante du système de protection (Dangi *et al.*, 2023).

2. Rôle d'un revêtement alimentaire

Les revêtements en emballage alimentaire jouent un rôle crucial dans l'industrie agroalimentaire moderne. Ils agissent comme une barrière protectrice contre les facteurs externes tels que l'humidité, l'oxygène et la lumière, qui peuvent altérer la qualité de l'aliment. Cette protection permet de préserver la fraîcheur du produit et d'étendre sa durée de conservation. De plus, les revêtements peuvent améliorer l'apparence visuelle du produit, le rendant plus attrayant pour le consommateur, tout en facilitant sa manipulation et son transport (Pavithra *et al.*, 2023).

3. Types de revêtement alimentaire

Les revêtements alimentaires peuvent être classés en plusieurs catégories selon leur composition, leur fonction et leurs propriétés. Voici une vue d'ensemble des principaux types de revêtements utilisés dans l'industrie alimentaire :

3.1. Revêtements synthétiques : largement utilisés dans l'industrie alimentaire, sont fabriqués à partir de polymères dérivés du pétrole tels que le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP) et le polyéthylène téréphtalate (PET). Ces matériaux offrent d'excellentes propriétés barrières contre l'humidité et les gaz, assurant ainsi une protection efficace des aliments. Leur durabilité et leur coût relativement faible en font des choix populaires pour de nombreuses applications. Cependant, leur nature non biodégradable soulève des préoccupations environnementales croissantes, incitant l'industrie à explorer des alternatives plus durables (Bajpai *et al.*, 2023).

3.2. Revêtements à base de biopolymères : constituent une catégorie innovante et écologique de revêtements alimentaires, s'inscrivant dans la tendance croissante vers des solutions d'emballage plus durables. Ces revêtements sont composés de polymères naturels, généralement dérivés de ressources renouvelables d'origine végétale ou animale, offrant ainsi une alternative biodégradable aux revêtements synthétiques traditionnels (Gómez *et al.*, 2023).

Parmi les biopolymères couramment utilisés, on trouve :

- **Le chitosane :** le chitosane est dérivé de la chitine présente dans les coquilles de crustacés. Le chitosane est apprécié pour ses propriétés antibactériennes, sa biodégradabilité, et sa non-toxicité, ce qui le rend idéal pour des applications telles que la conservation des aliments, les emballages et les pansements médicaux (Aranaz *et al.*, 2010).
- **L'acide polylactique :** le PLA est un autre biopolymère largement utilisé. Ce polyester thermoplastique est dérivé de ressources renouvelables comme le maïs et la canne à sucre. En plus d'être biodégradable, le PLA est couramment utilisé dans l'emballage alimentaire, les films agricoles, et certains dispositifs médicaux.
- **L'amidon :** extrait du maïs, de la pomme de terre ou du blé, est utilisé comme matériau biodégradable offrant des propriétés de barrière modérées. Il est employé dans la fabrication de films d'emballage alimentaire, de revêtements pour papier et carton, ainsi que dans des applications agricoles telles que les revêtements de semences. Les protéines de soja sont également utilisées comme biopolymères. Transformées en films et revêtements, elles offrent des propriétés mécaniques et de barrière adéquates pour les emballages alimentaires et les films protecteurs comestibles.
- **Les protéines de lait :** en particulier la caséine, sont utilisées pour produire des films avec de bonnes propriétés barrières. Ces protéines sont utilisées dans les films comestibles, les emballages alimentaires, et les revêtements de protection pour le papier (Garcia *et al.*, 2000)
- **Alginate :** un autre biopolymère extrait des algues brunes, il est utilisé pour former des films comestibles et des revêtements qui peuvent être appliqués sur divers aliments pour améliorer leur durée de conservation (Hernández-Izquierdo et Krochta, 2008).

3.3. Revêtements actifs

Les revêtements actifs représentent une innovation majeure dans le domaine de l'emballage alimentaire, marquant une évolution significative par rapport aux revêtements traditionnels passifs. Le revêtement actif est une couche de matériau appliquée sur un aliment ou un emballage, incorporant intentionnellement des composants destinés à être libérés dans l'aliment ou à absorber des substances de l'aliment et/ou de son environnement. Cette interaction contrôlée vise à maintenir ou améliorer la qualité et la sécurité du produit alimentaire, prolongeant ainsi sa durée de vie.

Les types de revêtements actifs couramment utilisés :

- **Revêtements antimicrobiens** : les revêtements antimicrobiens empêchent la croissance de micro-organismes sur les surfaces grâce à des agents actifs comme les ions argent, le cuivre, le zinc, ou des biocides. Ils sont utilisés dans les secteurs médical et alimentaire pour prévenir les contaminations et assurer une hygiène optimale (Rai *et al.*, 2012).
- **Revêtements à base de protéines** : sont des films comestibles fabriqués à partir de protéines naturelles, utilisées pour protéger les aliments et améliorer leur conservation. Ces revêtements forment une barrière contre l'oxygène, l'humidité, et les contaminants, aidant ainsi à prolonger la durée de conservation et à maintenir la qualité des produits. Ces derniers sont de plus en plus populaires en raison de leur caractère biodégradable, comestible, et respectueux de l'environnement, tout en offrant des solutions efficaces pour la conservation des aliments. Quelques types de revêtements à base de protéines :

- **Protéines de lait**

Les protéines de lait, principalement la caséine et la lactalbumine, sont utilisées pour créer des films comestibles qui offrent une bonne barrière contre l'oxygène. Ces revêtements sont souvent appliqués sur les fromages, les confiseries, et les produits de boulangerie pour prévenir l'oxydation et le dessèchement (Gontard *et al.*, 1993).

- **Protéines de Soja**

Les protéines de soja sont couramment utilisées pour fabriquer des films et des revêtements comestibles en raison de leur disponibilité et de leur faible coût. Ces revêtements possèdent de bonnes propriétés barrières et mécaniques et sont utilisés pour les fruits, les légumes, les produits de viande et les confiseries.

- **Protéines de Blé (gluten)**

Le gluten de blé est utilisé pour créer des films avec de bonnes propriétés barrières contre les gaz. Il est souvent utilisé dans l'emballage alimentaire et pour les applications de conservation des fruits et légumes frais.

- **Gélatine**

La gélatine, dérivée du collagène présent dans les peaux et os d'animaux, est utilisée pour fabriquer des films flexibles et transparents. Ces revêtements sont principalement utilisés pour les produits de confiserie et les applications de gélification.

- **Protéines de maïs (Zeine)**

La zeine, une protéine du maïs, est utilisée pour fabriquer des films résistants à l'humidité et aux huiles. Ces films sont souvent utilisés pour recouvrir des bonbons, des fruits secs, et des noix afin de prolonger leur durée de conservation.

- **Protéines de poisson**

Les protéines de poisson peuvent être utilisées pour créer des films comestibles avec de bonnes propriétés barrières à l'oxygène et à l'humidité. Elles sont souvent appliquées sur les fruits de mer et autres produits alimentaires pour prolonger leur fraîcheur (Gontard *et al.* , 1993).

3.4. Revêtements à base de cire

Les revêtements alimentaires à base de cire sont utilisés pour protéger et conserver les aliments en formant une barrière efficace contre l'humidité, l'oxygène et les contaminants. Ces revêtements peuvent être fabriqués à partir de cires naturelles ou synthétiques, chacune ayant des propriétés spécifiques adaptées à diverses applications alimentaires (Garcia *et al.*,2000).

- **La cire d'abeille** : est l'une des cires naturelles les plus couramment utilisées. Produite par les abeilles, elle est connue pour ses propriétés protectrices et son caractère comestible. Elle est souvent appliquée sur les fruits, tels que les pommes et les citrons, pour prolonger leur durée de conservation, ainsi que sur les produits de boulangerie et les fromages. De plus, la cire d'abeille est utilisée dans la fabrication d'emballages alimentaires et de produits cosmétiques en raison de ses propriétés de barrière (Garcia *et al.*, 2000).
- **Cire de carnauba** : une cire végétale provenant des feuilles du palmier carnauba, est également largement utilisée. Cette cire est employée pour enrober des bonbons, des fruits et des légumes, grâce à ses excellentes propriétés anti-humidité et de brillance. Elle est prisée dans l'industrie alimentaire pour améliorer l'apparence et la durée de conservation des produits (Hagenmaier & Shaw, 1992).
- **La cire de candelilla** : obtenue à partir de la plante *Euphorbia cerifera*, est une autre cire végétale utilisée comme alternative à la cire de carnauba. Elle est appliquée sur des bonbons, des fruits et des légumes, et trouve également des applications dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques, en raison de ses propriétés protectrices et brillantes (Kostić *et al.*, 2015).
- **Les cires synthétiques** : fabriquées à partir de polymères et d'autres composés chimiques, imitent souvent les propriétés des cires naturelles. Elles sont utilisées pour des revêtements spécifiques qui nécessitent des caractéristiques particulières, comme des propriétés de barrière renforcées. Ces cires trouvent leur place dans les revêtements de fruits et légumes, ainsi que dans d'autres produits alimentaires nécessitant une protection supplémentaire (Garcia *et al.*, 2000).

4. Nouvelles alternatives de revêtements pour l'emballage alimentaire

Les revêtements pour l'emballage alimentaire jouent un rôle crucial en prolongeant la durée de conservation des aliments, en améliorant leur sécurité et en préservant leur qualité. Avec l'augmentation de la sensibilisation à l'environnement et les préoccupations concernant les matériaux synthétiques, plusieurs nouvelles alternatives de revêtements sont en cours de développement. Voici quelques-unes des alternatives innovantes :

4.1 Revêtements comestibles

Ces revêtements sont fabriqués à partir de matériaux naturels comme les polysaccharides tels que le chitosane, la cellulose, les protéines comme les protéines de lait ou de soja et les lipides. Les revêtements comestibles peuvent protéger les aliments de l'oxygène et de l'humidité tout en étant entièrement sûrs à consommer (Atsuko *et al.*, 2018).

4.2 Revêtements bioplastiques

Les bioplastiques, tels que le PLA (acide polylactique), sont fabriqués à partir de ressources renouvelables comme le maïs et la canne à sucre. Ils offrent une alternative plus écologique aux plastiques traditionnels et sont biodégradables (Auras *et al.*, 2004).

4.3 Nano revêtements

L'utilisation de nanoparticules, comme l'argile nano composite ou les nanoparticules d'argent, peut améliorer les propriétés barrières des revêtements contre l'oxygène, la lumière et les micro-organismes. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer la sécurité des nanomatériaux (Rhim *et al.*, 2013).

4.4 Revêtements à base d'amidon

L'amidon est une ressource renouvelable et abondante qui peut être utilisée pour créer des films comestibles. Les revêtements à base d'amidon sont utilisés pour emballer les fruits, les légumes, et les produits de boulangerie, car ils sont biodégradables et comestibles (Mali *et al.*, 2014).

4.5 Revêtements antimicrobiens Naturels

Ces revêtements incorporent des extraits de plantes ou des huiles essentielles ayant des propriétés antimicrobiennes, comme l'huile de thym, l'huile de romarin, ou l'extrait de cannelle. Ils peuvent prolonger la durée de conservation des aliments en inhibant la croissance des micro-organismes (Hanani *et al.*, 2013).

4.6 Revêtements à base de Protéines

Les protéines comme la caséine ou la gélatine peuvent être transformées en films pour emballages alimentaires. Ces revêtements sont souvent utilisés pour les fruits et les légumes et peuvent aider à réduire le gaspillage alimentaire en prolongeant la durée de conservation (Benbettaïeb *et al.*, 2019).

4.7 Revêtements à base de Cellulose

La cellulose, extraite de plantes, est un matériau biodégradable et renouvelable qui peut être utilisé pour créer des films d'emballage alimentaire. Les revêtements à base de cellulose peuvent être modifiés pour améliorer leur résistance à l'eau et leur capacité de barrière contre l'oxygène.

Ces nouvelles alternatives de revêtements pour l'emballage alimentaire représentent une avancée vers des solutions plus durables et respectueuses de l'environnement, tout en garantissant la sécurité et la qualité des aliments (Azeredo *et al.*, 2020).

2^{ème} partie : Etude expérimentale

1. Matériel et Méthodes

La partie expérimentale de notre travail a été réalisée au niveau des laboratoires de microbiologie et de physico-chimie du département de sciences alimentaires de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

➤ Objectif

Dans un premier temps, l'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne de deux sous-produits oléicoles : le grignon d'olives et les feuilles d'olivier. Ensuite, nous avons procédé à l'extraction et au dosage des polyphénols totaux de ces résidus. Enfin, nous avons développé différentes formulations de gel en incorporant l'extrait de polyphénols pertinent, pour une éventuelle application en tant que revêtement d'emballage actif.

1.1. Matériel (voir annexe n°1)

1.2. Méthodes

1.2.1. Récolte des sous-produits oléicoles

1.2.1.1. Grignon d'olive

Le grignon d'olives (GO) est obtenu à partir de l'extraction d'huile de la variété *Chemlal*, en utilisant un système de presse automatique. Il a été gracieusement fourni par l'huilerie de la région de Mekla (Tizi-Ouzou, Algérie) (Figure 11), le 6 Mars 2024. Ce résidu est composé de noyaux partiellement concassés, de pulpe et de peau. Le GO a été récupéré dans une boîte en plastique, fermée hermétiquement et stocké rapidement à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 10 : Grignon d'olive à la sortie de l'huilerie si Mhend Sahmoun à Mekla (Tizi-Ouzou)

❖ Séchage

Le grignon d'olive est étalé sur des plateaux en aluminium et séché dans une étuve à une température de 50 °C pendant 48 heures, en le retournant et mélangeant de temps à autre (Figure 11).



Figure 11 : séchage de grignon d'olive dans l'étuve

❖ Broyage

Le grignon d'olive est broyé en utilisant un mortier en cuivre pour obtenir vers la fin une poudre avec des particules de dimension différentes (Figure 13).

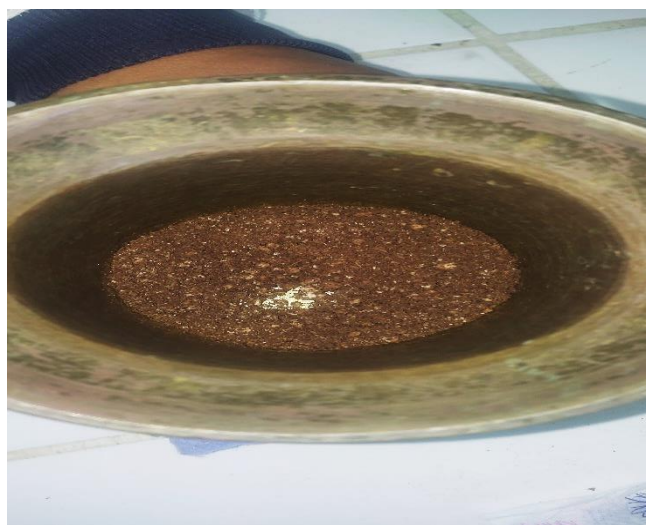


Figure 12 : Résultat du broyage avec un mortier en cuivre

❖ Tamisage

Le grignon broyé est tamisé manuellement dans une série de tamis à différentes ouvertures de mailles. La poudre obtenue après tamisage comprend les particules avec un diamètre ≤ 0.63 mm (Figure 13). La poudre ainsi obtenue est recueillie dans un bocal en verre et conservée au frais jusqu'à son utilisation.



Figure 13 : tamisage du grignon d'olive

1.2.1.2. Feuilles d'olivier

Des feuilles fraîches d'olivier de la variété *Chemlal* (Figure 14), sont cueillies en pleine période de floraison (Mars-Avril) dans la région d'Ait Boumahdi à Ouacif (Tizi-Ouzou, Algérie), à une altitude de 566 m du niveau de la mer. La collecte des feuilles est effectuée à la main le matin, juste après l'évaporation de la rosée.



Figure 14 : feuilles d'olivier

❖ Séchage

Après récolte, les feuilles sont nettoyées avec de l'eau pour éliminer la poussière et les impuretés. Ensuite, elles sont égouttées, étalées et séchées sur un tissu à température ambiante à l'air libre pendant 2 semaines (Figure 15).



Figure 15 : séchage des feuilles d'olivier

❖ Broyage

Les feuilles ainsi séchées sont réduites en poudre avec un mortier en porcelaine (figure16).



Figure 16 : broyage des feuilles d'olivier

❖ Tamisage

La poudre obtenue est tamisée à l'aide d'un tamis à ouverture de maille de 0.63 mm (Figure 17), puis stockée dans un bocal en verre.



Figure 17 : poudre des feuilles d'olivier

1.3 Etude microbiologique

Les bactéries tests utilisées dans ce travail ont été fournies aimablement par Monsieur MSELA, enseignant à la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Il s'agit des bactéries *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

1.3.1. Vérification de la pureté des souches bactériennes

➤ Coloration de Gram

La coloration de Gram est une technique de coloration différentielle utilisée pour classer les bactéries en fonction de la structure de leur paroi cellulaire et confirmer leur pureté (Waites et al., 2009).

Pour préparer une lame à une la coloration de Gram, commencez par étaler une fine couche de la culture bactérienne sur une lame de microscope et laissez-la sécher à l'air. Ensuite, fixez la préparation en passant rapidement la lame à travers la flamme d'un bec Bunsen, ce qui tue les bactéries et les fait adhérer à la lame. Appliquez ensuite du violet de gentiane sur la lame et laissez agir pendant environ une minute. Rincez doucement la lame à l'eau distillée. Décolorez

Ensuite avec de l'alcool (éthanol) pendant environ 10 à 30 secondes. À ce stade, les bactéries Gram négatives, comme *E. coli*, perdent la couleur violette et deviennent incolores, tandis que les cellules Gram positives, comme *S. aureus*, retiennent le complexe violet de gentiane-iode et restent violettes. Rincez immédiatement à l'eau distillée pour arrêter l'action de l'alcool. Appliquez ensuite de la safranine ou de la fuchsine basique pendant environ une minute. Cette étape colore les bactéries Gram négatives (*E. coli*) en rose ou rouge, sans affecter les Gram positives (*S. aureus*) qui restent violettes. Enfin, rincez la lame à l'eau distillée et laissez-la sécher à l'air.

➤ Observation

Observer la préparation au microscope. Les cellules d'*Escherichia coli* apparaîtront en rose ou rouge, indiquant leur nature Gram négative. Les cellules de *Staphylococcus aureus* apparaîtront en violet, confirmant leur nature Gram positive. (Figure 18).

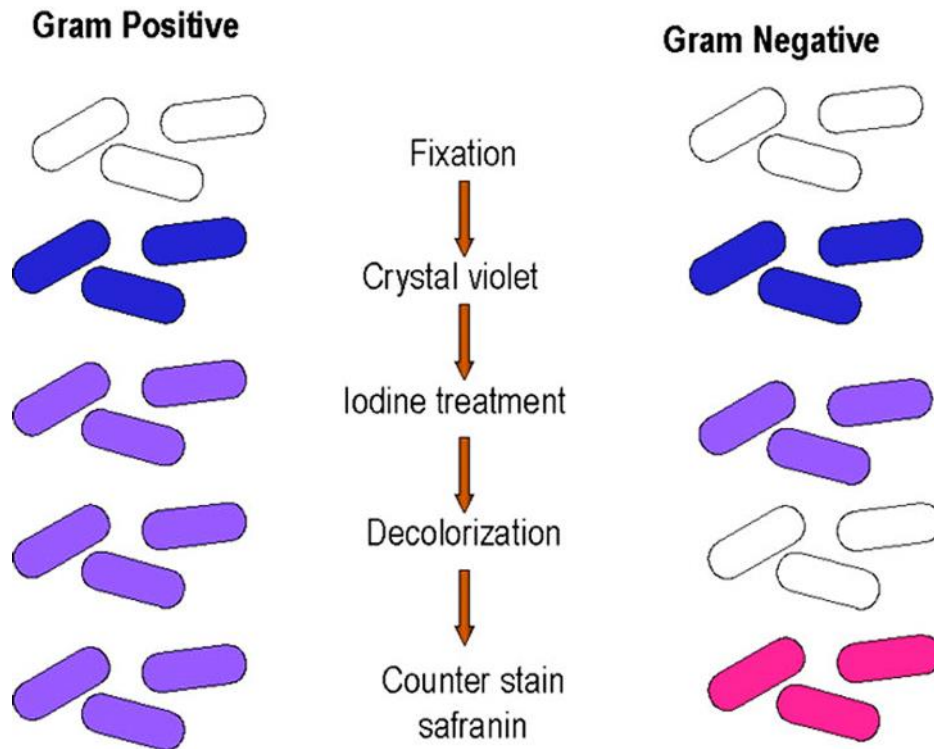


Figure 18 : Les étapes de coloration de Gram (Clark, 1981)

1.3.2 Préparions de solution McFarland

La solution de McFarland 0,5 est un standard de turbidité, utilisée en microbiologie pour préparer des suspensions bactériennes à une densité cellulaire déterminée équivalente à $1,5 \times 10^8$ unités formant colonies (UFC) par millilitre (Gayathiri *et al.*, 2018) (voir préparation annexe N°2).

➤ Utilisation

Une suspension bactérienne est préparée dans l'eau physiologique stérile. La densité de cette suspension est ensuite ajustée pour correspondre visuellement au standard McFarland choisi (figure 19). Il est essentiel de bien mélanger les standards McFarland avant chaque utilisation pour garantir des résultats précis et fiables.

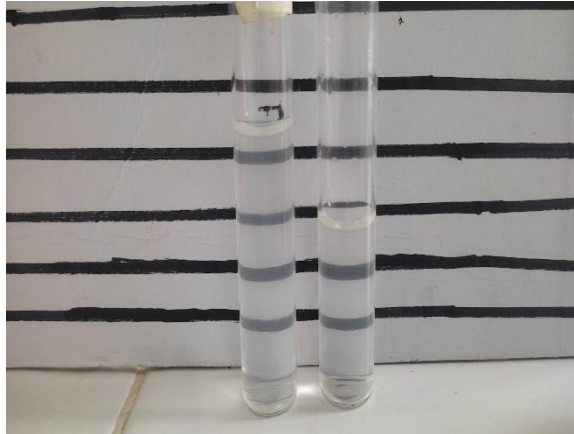


Figure 19 : Comparaison de la turbidité entre la solution de McFarland 0.5(à gauche)et la suspension bactérienne standardisée (a droite).

1.3.3 Antibiogramme

Un antibiogramme est un test de laboratoire utilisé pour déterminer la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques. Dans cette expérience, quatre échantillons sont testés : grignon frais (GF), grignon séché non broyé (GS), grignon séché broyé (GSB) et feuilles séché broyées (FSB), sur deux bactéries : *E. coli* et *S. aureus*.

1. Préparation de la culture bactérienne

- Prélever une colonie d'*Escherichia coli* à partir d'une culture pure (figure 20)
- Inoculer la colonie sur le milieu de culture Mueller-Hinton (milieu MH) (voir composition en annexe 3) et incuber à 37 °C pendant 18heures pour obtenir une pré-culture bactérienne jeune.

2. Préparation de la suspension bactérienne

- Ajuster la concentration de la suspension bactérienne dans de l'eau physiologique stérile par comparaison en standard Mc Ferland 0.5

3. Ensemencement de la boîte de Pétri

- Dans une boîte de Pétri contenant le milieu MH, ensemencer 100µl de la suspension bactérienne standardisée puis, l'étaler uniformément sur toute la surface de la boîte à l'aide d'un râteau.



Figure 20: Préparation de la culture bactérienne (Repiquage)

1.3.3.1 Evaluation de la sensibilité des bactéries tests aux antibiotiques

Après avoir ensemencé la boîte de Pétri, on dépose avec une pince stérile les disque d'antibiotique Ampicilline et Gentamicine (témoins positifs) sur la surface de la gélose inoculée (figure 21). Cette opération est effectuée pour les deux bactéries tests.

➤ Incubation

Incuber les boîtes de Pétri à l'envers à 37°C pendant 24 heures.

➤ Lecture des résultats

Après l'incubation, on observe l'apparition des zones d'inhibition autour des disques.

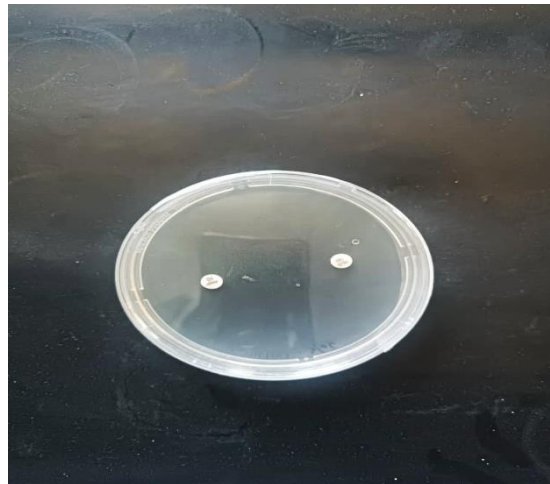


Figure 21 : Antibiogramme avec les disque d'antibiotiques (test positif)

1.3.3.2 Evaluation de l'activité antibactériennes des sous-produits oléicoles par la technique des puits

Les puits sont obtenus à l'aide du col d'un tube à essai préalablement flambé et refroidi (diamètre de puits 17 mm) dans des boîtes de Pétri préalablement ensemencées par les bactéries tests. Ces puits sont ensuite remplis avec les échantillons à tester à l'aide s'une spatule stérile. Cette opération est effectuée pour les deux bactéries tests en réalisant trois répétitions.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, mesurer les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque puits à l'aide d'une règle (figure 22).

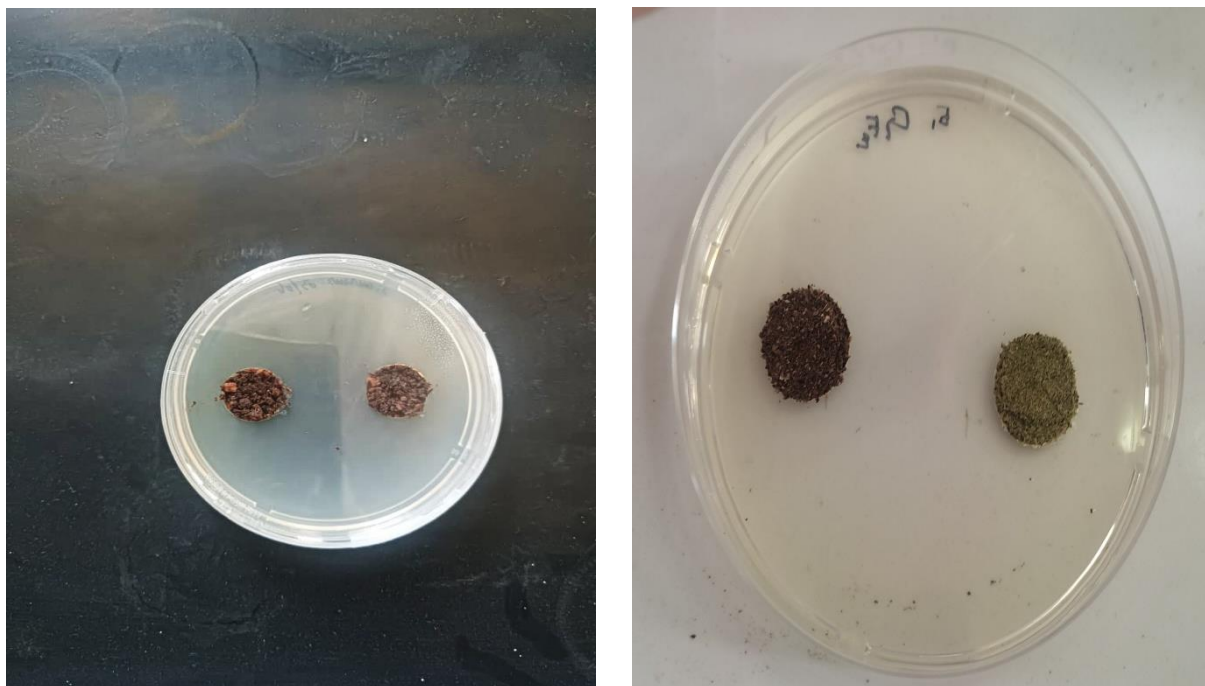


Figure 22 : antibiogramme réalisé selon la technique des puits

1.3.4 Extraction et dosage des polyphénols totaux

Les phénols totaux sont dosés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu avec spectrophotométrie UV-visible (Waterhouse, 2002).

➤ Préparation des extraits

L'objectif de cette extraction est de libérer les polyphénols présents dans des structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion.

Nous avons quatre échantillons : grignon frais, grignon séché non broyé, grignon séché broyé et feuille séchée broyée. Pour chaque échantillon, 10 g sont ajoutés à 100 ml d'éthanol à 75% dans des flacons en verre. Les mélanges sont ensuite placés sur un agitateur pendant 24 heures à l'abri de la lumière.

Ensuite, une filtration est réalisée à l'aide de papier filtre Whatman N°15. Des solutions aqueuses des extraits bruts sont obtenues, puis séchées sur un bain-marie. Les extraits secs sont récupérés avec un volume déterminé. Ils sont ensuite conservés dans des flacons au réfrigérateur à l'abri de la lumière dans le but de préserver les principes actifs (figure23).

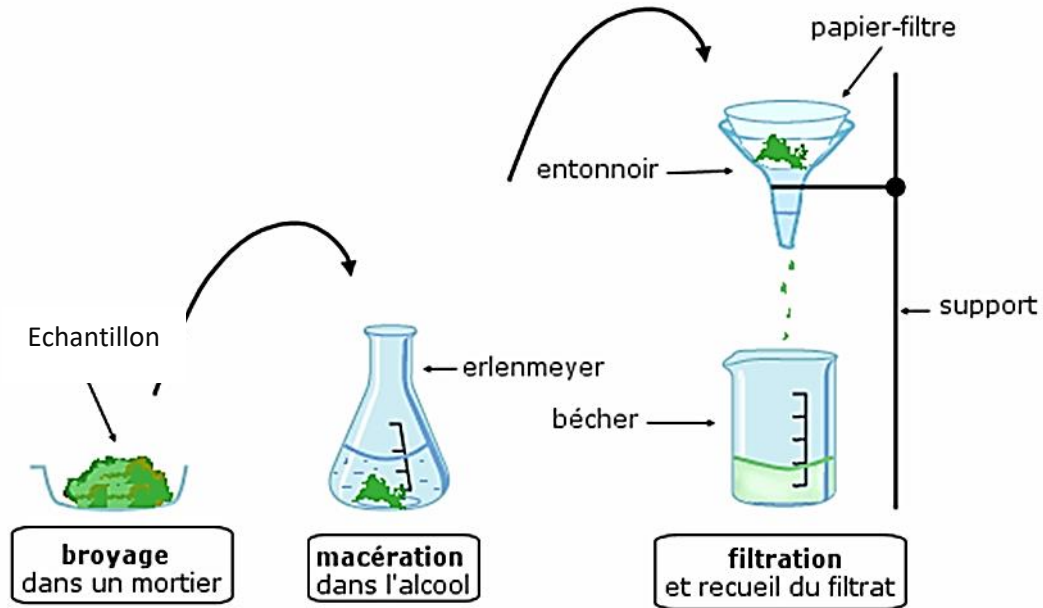


Figure 23 : Schéma d'une extraction solide-liquide

1.3.4.1 dosage des polyphenols totaux

Ce protocole est illustré dans (la figure 24) ci-dessous.

1. Préparation de l'échantillon :

Une solution mère est préparée pour chaque échantillon de la biomasse végétale étudiée en introduisant 2g dans 10 ml d'éthanol à 75%, ensuite des dilutions sont préparées à partir de cette solution mère (20g/ml) ensuite la 2^{ème} dilution (2g/ml) après (0.2g/ml) puis (0.02g/ml) ensuite (0.002g/ml). (Bougandoura & Bendimerad, 2013)

2. Préparation des standards d'acide gallique :

Dans cette étude, l'acide gallique est utilisé comme standard pour le dosage des polyphenols totaux. Une gamme d'étalon est préparée à partir d'une solution d'acide gallique de 0,5 g/l dans de l'eau distillée. (Bekara et al., 2016)

3. Réaction avec le réactif de Folin-Ciocalteu :

On a pipeté 1 ml de chaque solution diluée avec 9 ml d'éthanol. Ensuite, on a ajouté 5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Le mélange a été laissé en contact pendant 5 minutes à température ambiante. Enfin, on a ajouté 4 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5%.

Laissez le mélange incuber pendant 1 heure à température ambiante, à l'abri de la lumière, afin de permettre le développement de la couleur.

4 . Mesure de l'absorbance :

On mesure l'absorbance des solutions à 760 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible. Pour ajuster le zéro de l'appareil, on utilise une solution (le blanc) contenant uniquement le réactif de Folin-Ciocalteu dilué et le Na_2CO_3 , sans échantillon. Cette étape permet d'établir une référence de fond pour des mesures précises des échantillons traités.

5. Réalisation de la courbe d'étalonnage :

On trace la courbe d'étalonnage en mettant en graphique l'absorbance en fonction des concentrations connues d'acide gallique (Debit, 2015) ;(Ouadan et al., 2018)

Le pourcentage en polyphénols (équivalents en acide gallique) est calculé selon l'équation :

$$\% \text{ phenols totaux} = (C.V/1000.M) \times 100$$

Avec :

C: Concentration en équivalent acide gallique (g/l)

V : Volume de la solution (ml)

M : Masse de l'échantillon à l'état frais (0.2g)

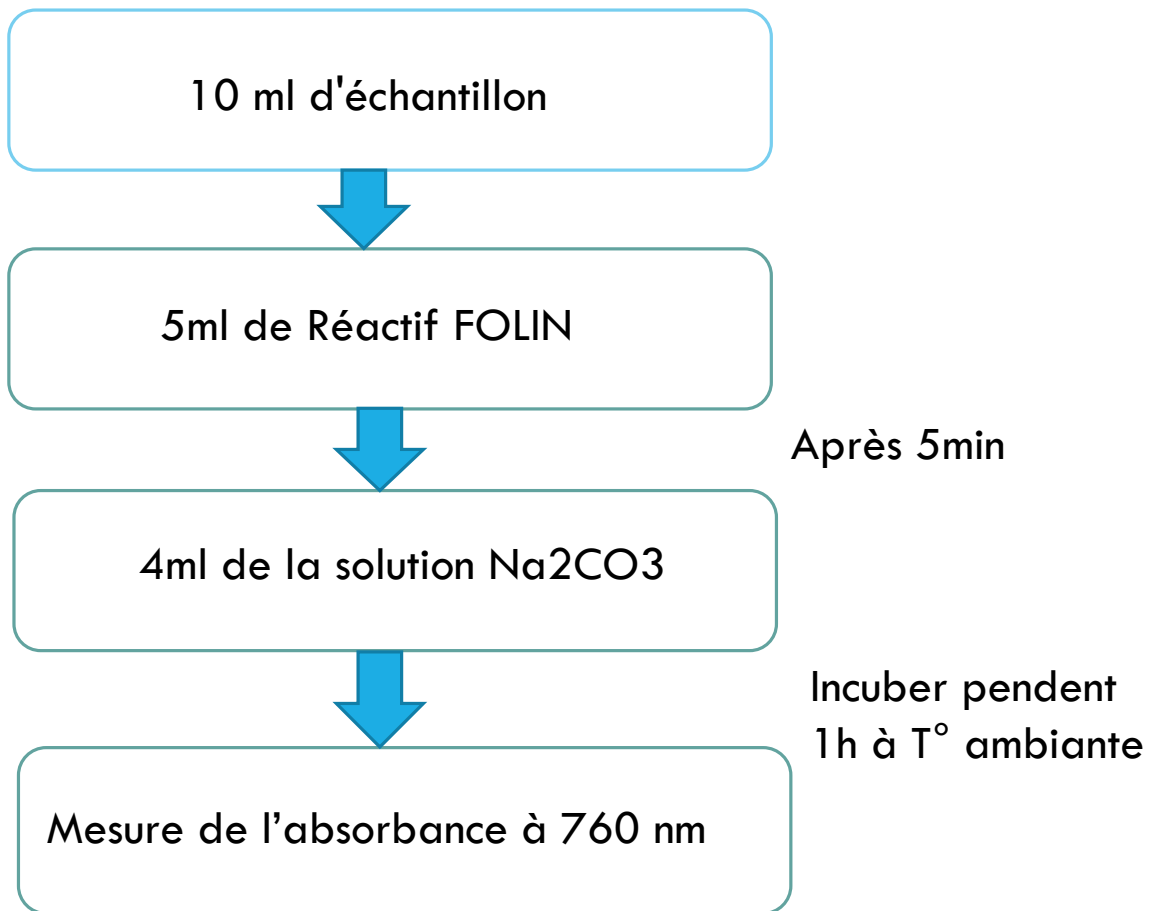


Figure 24 : protocole de dosage des polyphenols totaux



GF



GSB



FF



GSNB

Figure 25 : Séries de dilutions des extraits de grignon d'olives et de feuilles d'olivier pour le dosage des polyphénols totaux

1.3.5 Préparation du gel antibactérien

En se basant sur les résultats du dosage des polyphénols totaux, nous avons sélectionné le grignon frais pour la préparation d'un gel antimicrobien en vue d'une éventuelle application dans l'emballage actif.

1.3.5.1 Extraction des polyphénols a partir du grignon frais :

Nous appliquant le meme protocole d'extraction expliqué précédement et illustré dans la figure 26 (mais pour une plus grande quantité). Nous commençons par mélanger 20 g de grignon frais avec 200 ml d'éthanol à 75% pour l'extraction. Le mélange est ensuite agité pendant 24 heures afin de favoriser l'extraction des composés actifs. Après cette période, nous filtrons le mélange pour séparer l'extrait liquide des résidus solides. Puis nous concentrons l'extrait en évaporant le solvant.

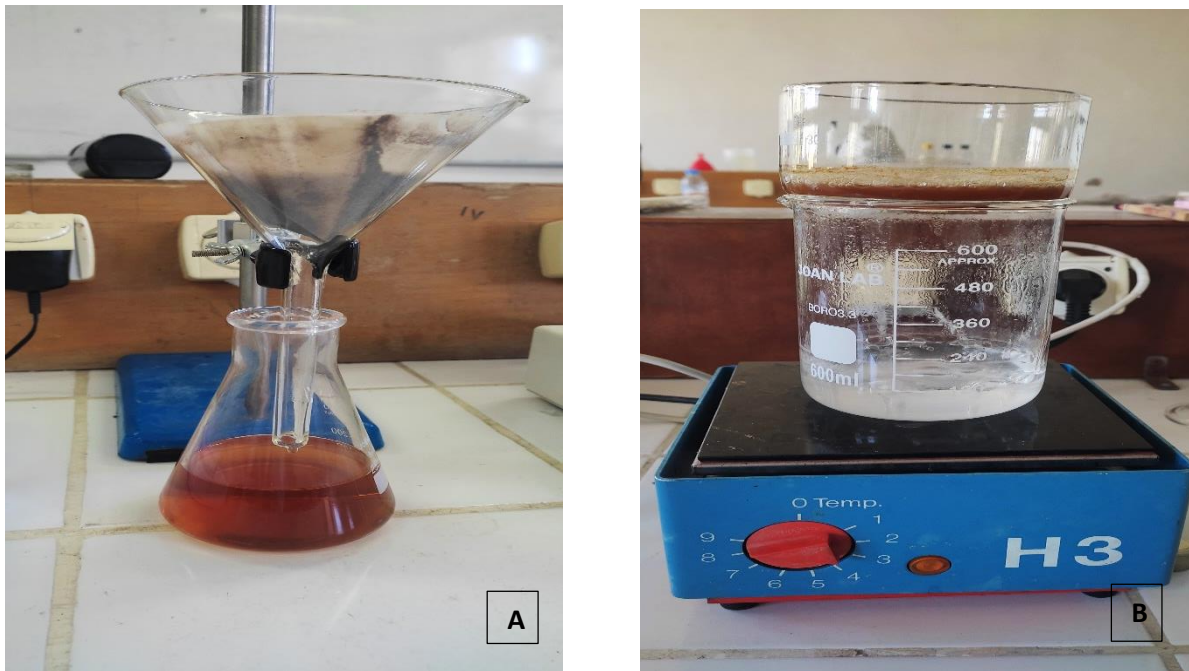


Figure 26 : filtration (A) et evaporation (B) de l'extrait de grignon frais

1.3.5.2 Evaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait de grignon d'olive

L'extrait de grignon frais (EGP) est dilué dans la DMSO ensuite, un antibiogramme est réalisé avec la technique des dosage (figure 27). Préparer une suspension bactérienne en ajustant sa densité à la solution standard McFarland 0,5. À l'aide d'un râteau stérile, étalez uniformément 100 µl de cette suspension sur toute la surface d'une boîte de Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton. Avec une micropipette, déposez une goutte de l'EGF sur des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre, en utilisant une quantité standardisée d'extrait pour chaque disque. Placez délicatement les disques imbibés sur la surface de la gélose ensemencée et placer un disque témoin négatif (imbibé de DMSO) au centre, en veillant à bien espacer les disques pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition et un disuque.

Incubez les boîtes de Pétri à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, observez les zones d'inhibition autour des disques.

Cette méthode permet de tester l'efficacité antimicrobienne de l'EGF contre différentes souches bactériennes.

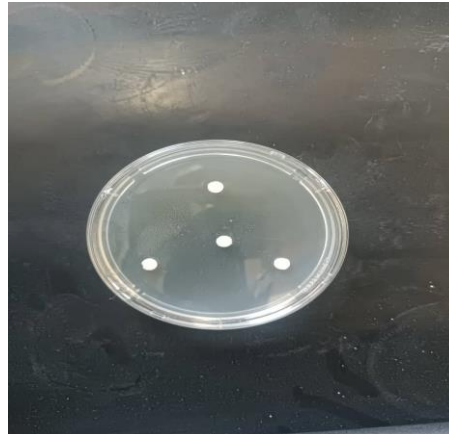


Figure 27: Vérification de l'activité antibacterienne de l'EGF

(a droite le disque temoin imbibe de DMSO,le 3autres disque sont imbibes d'un volume de l'EGP)

1.3.5.3 Préparation du gel à l'extrait de grignon d'olive

1.3.5.3.1 Préparation de la solution gélifiante :

Pour la preparation de la solution gelifiante, nous avant procedé comme suit :

Faire dissoudre 20 g d'agent gelifiant Agar-agar dans 1 L d'eau distillée.

Placer le mélange sur une plaque chauffante et sous agitation continue pour dissoudre l'agent gelifiant.

La solution ainsi préparée est stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 20min (Voir figure 28)

Incorporation des composés actifs :

Ajouter l'EGF concentré à la solution gélifiante tiède et stérile. Il est important d'attendre le refroidissement du gel avant d'incorporer le concentré actif. Préparer des solutions avec différentes dilutions de 10%, 30%, et 50%. Mélanger soigneusement pour homogénéiser et assurer une distribution uniforme des composés actifs dans la solution gélifiante.

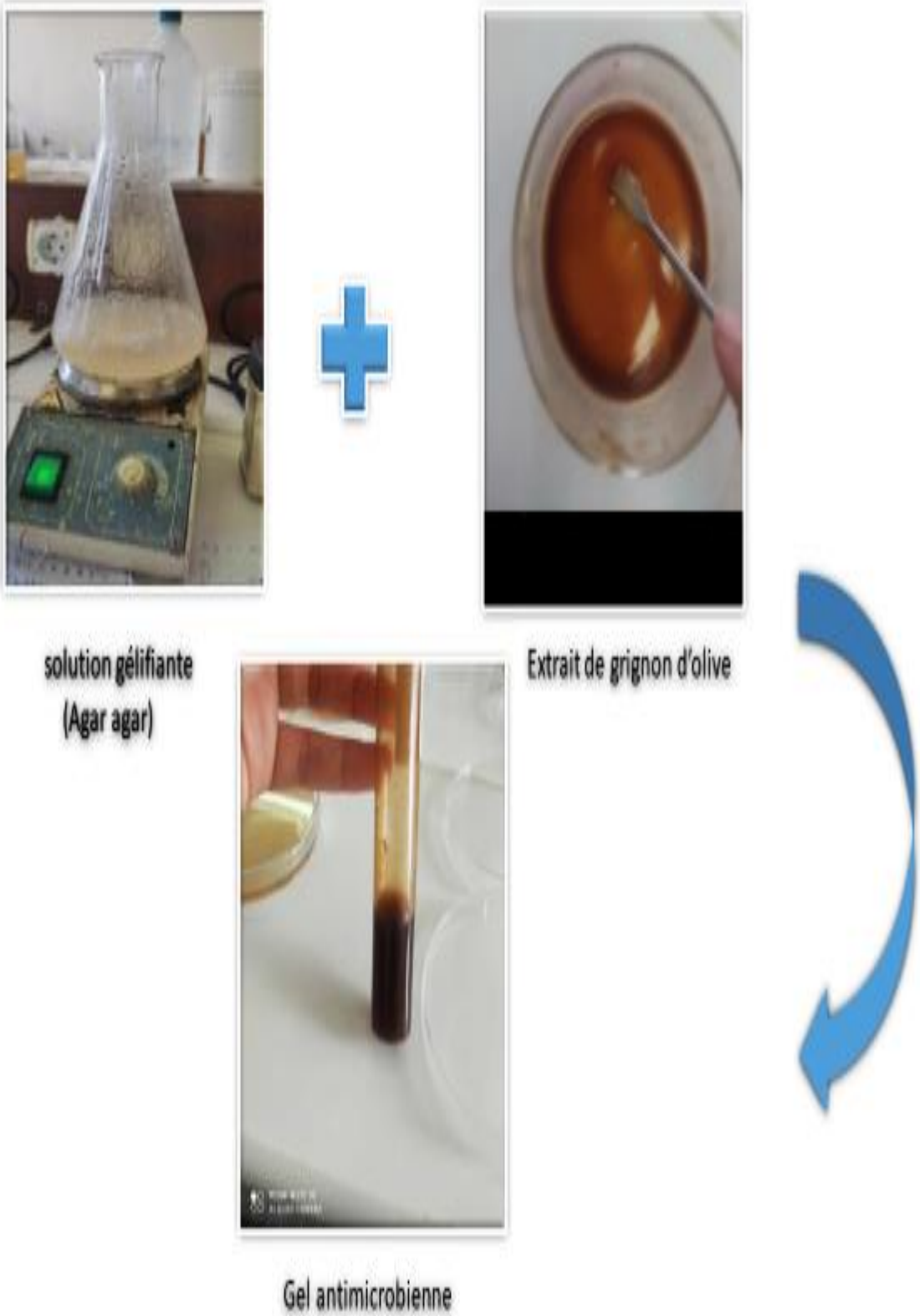


Figure 28 :Preparation du gel à l' EGF

1.3.6 Evaluation de l'effet antimicrobien du gel

Realiser un antibiogramme selon la technique des gouttes sur les deux bacteries tests *E.coli* et *S.aureus* (voir figure ci-dessous 29).

Des gouttes du gel à l' EGF, sont appliquées sur la surface des géloses ensemencées. Après une incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, les zones d'inhibition autour des gouttes sont observées pour déterminer l'efficacité du gel.

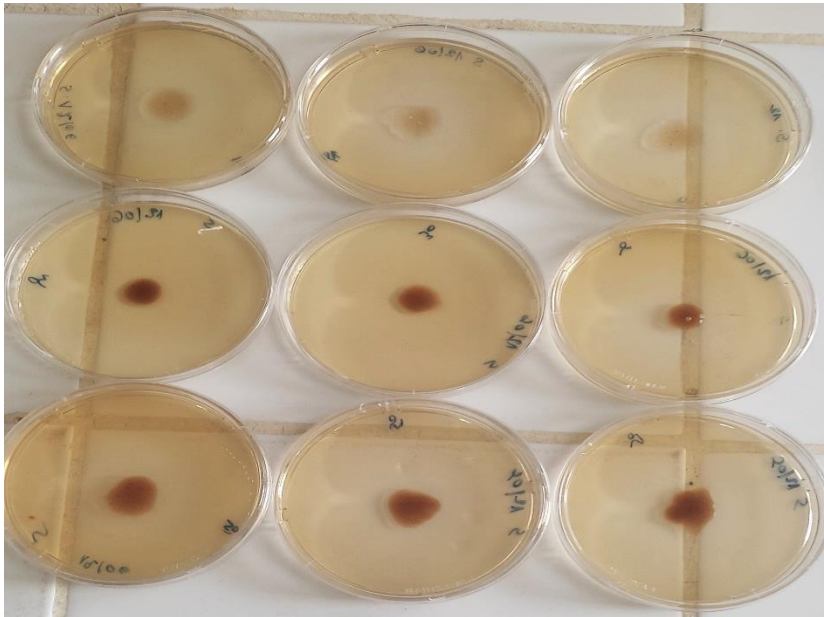


Figure 29 : Vérification de l'activité antibacterienne du gel à l' EGF
(De haut en bas les differentes concentrations du gel 10%, 30% et 50%.
De gauche à droite les trois repetitions pour la meme concentration du gel)

3^{ème} partie : Résultats et discussion

Résultats et discussion

Dans cette partie, nous présenterons les résultats de l'étude de l'effet antimicrobien des extraits de grignon d'olive frais contre les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Nous comparerons également l'efficacité de ces extraits à celle des antibiotiques standards pour mettre en perspective leur potentiel comme alternatives naturelles.

1.Preparation des biomasses

1.1. Grignon d'olive

Le grignon utilisé dans ce travail est récolté auprès d'une huilerie semi-automatique. Le séchage dans une étuve à 50°C pendant 24 heures a assuré une déshydratation uniforme et rapide du grignon, avec un rendement de séchage d'environ 84 %, soit une réduction de 10 kg de grignon frais à environ 8,4 kg après séchage. Le broyage avec un mortier suivi d'un tamisage a produit une poudre fine et homogène, adaptée pour diverses applications (figure 30).

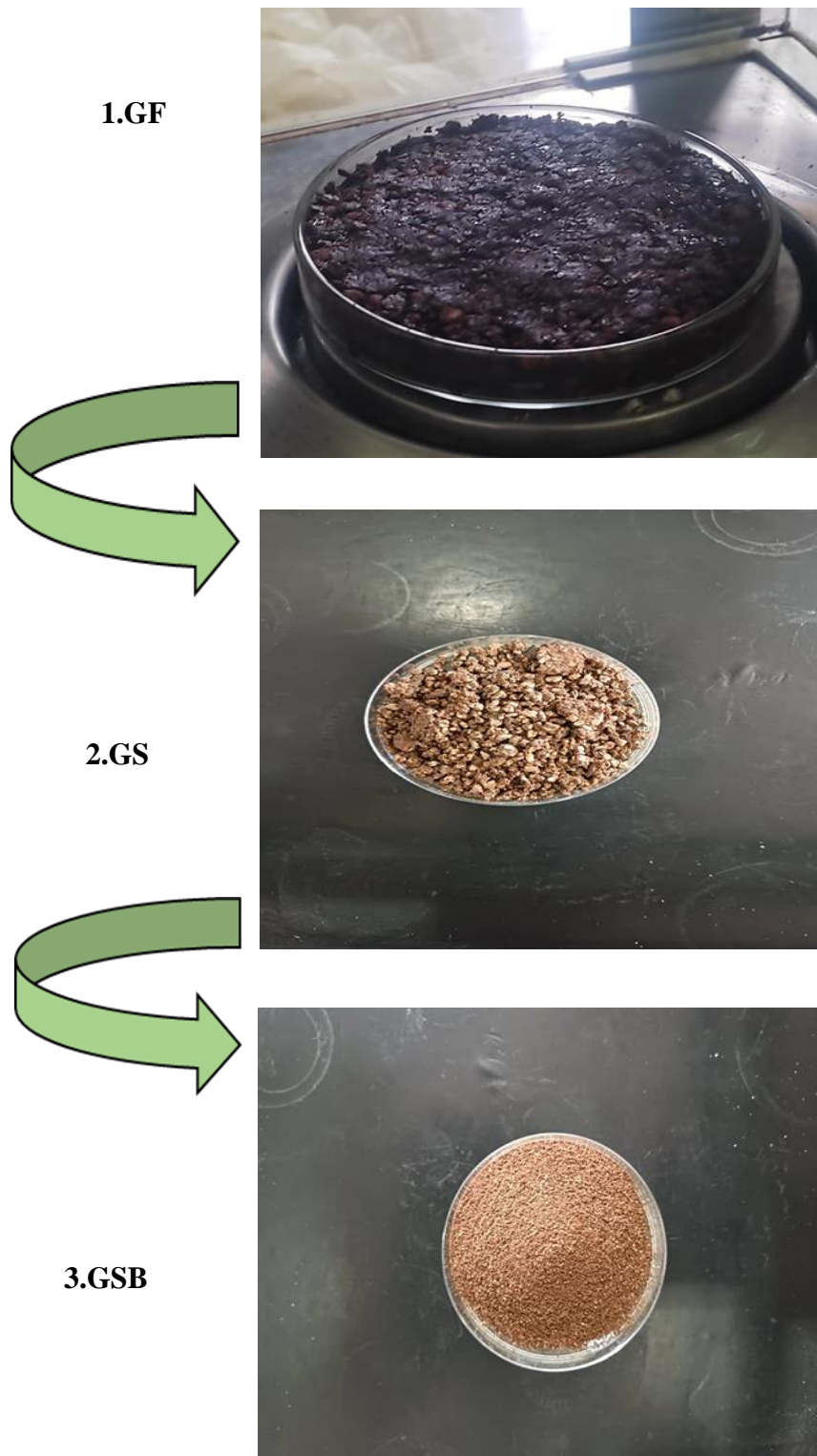


Figure 30 : Transformation de grignon d'olive

GF : Grignon frais

GS : Grignon séché

GSB : Grignon séché broyé

1.2. Feuilles d'olivier

Le processus de séchage, broyage et tamisage des feuilles d'olivier a permis d'obtenir une poudre homogène et fine. Les feuilles d'olivier, avec un poids initial de 5 kg, ont été séchées à l'air libre pendant une semaine, permettant de conserver leurs propriétés. Après séchage, le poids final des feuilles était de 4,7 kg, ce qui correspond à un rendement de séchage de 94 %. Elles ont ensuite été broyées en petites particules à l'aide d'un mortier. La poudre obtenue a été tamisée pour éliminer les particules trop grosses et obtenir une granulométrie uniforme. Le résultat est une poudre de couleur verte homogène, d'une texture farineuse. (Figure 31).



Figure 31 : Transformation de feuilles d'olivier

FF : Feuilles fraiche

FS : Feuilles séché

FSB : Feuille séché broyé

2. Résultats de l'étude microbiologique

2.1 Vérification de la pureté des souches bactériennes

2.1.1 Coloration de Gram

La coloration de gramme est fréquemment utilisée en microbiologie pour mettre en évidence les bactéries Gram positif ou négatif (figure 32). Cela permet de différencier et de classer les différentes populations de micro-organismes.

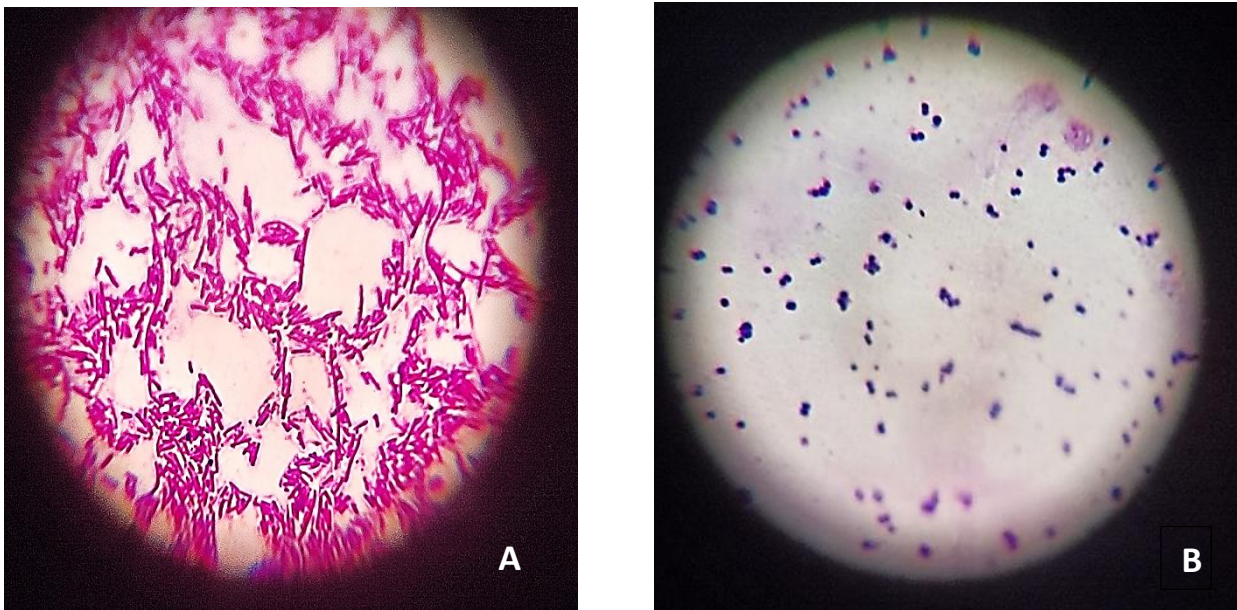


Figure 32 : Observation des souches bactériennes (A : *E. coli*) et (B : *S. aureus*) après coloration de Gram sous microscope optique (G x 100)

La coloration de Gram est une technique différentielle permettant la classification des bactéries en Gram positif (Gram⁺) et Gram négatif (Gram⁻), tout en mettant en évidence leur morphologie et leur organisation spatiale. Les bactéries Gram négatives possèdent une paroi cellulaire mince en peptidoglycane recouverte d'une membrane externe complexe, composée d'une couche phospholipidique interne et de macromolécules de lipopolysaccharides (LPS). Cette structure rend la décoloration par l'alcool plus efficace, facilitant ainsi la pénétration de la fuchsine (contre-coloration).

Le violet de gentiane traverse la paroi et la membrane bactérienne, se liant aux composants cytoplasmiques grâce au Lugol. La distinction entre les types Gram est effectuée par l'application d'alcool, qui pénètre les bactéries et décolore le cytoplasme des Gram négatives. Ensuite, la contre-coloration par la fuchsine colore en rose toutes les bactéries qui ont été décolorées lors de l'étape précédente, permettant une observation plus détaillée de leur structure et de leur disposition.

Selon Beveridge (1999) et Silhavy et *al.* (2010), la structure et la composition des parois cellulaires des bactéries Gram négatives jouent un rôle crucial dans leur réponse à la coloration de Gram. Beveridge (1999) a décrit en détail comment la paroi cellulaire des bactéries Gram négatives, avec sa fine couche de peptidoglycane et sa membrane externe riche en lipopolysaccharides (LPS), permet une décoloration rapide par l'alcool, ce qui facilite la pénétration de la contre-coloration comme la fuchsine. Cette structure particulière est essentielle pour la classification différentielle lors de la coloration de Gram, car elle dicte la rétention ou la perte du complexe violet de gentiane-Lugol.

2.1.1 Etude macroscopique et microscopique des souches *d'Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

Des cultures de 24 heures à 37°C sur milieu de culture Mueller-Hinton sont utilisées pour l'observation microscopique des colonies des deux bactéries testées à l'aide d'un microscope optique avec un grossissement de 40x.

2.1.1.1 *Escherichia coli*

Les colonies d'*E. coli* sur une boîte de Pétri sont généralement circulaires, lisses et légèrement convexes, avec une couleur blanche ou grisâtre à beige, translucide et des bords réguliers. La texture des colonies est moelleuse, légèrement visqueuse (Figure 33).

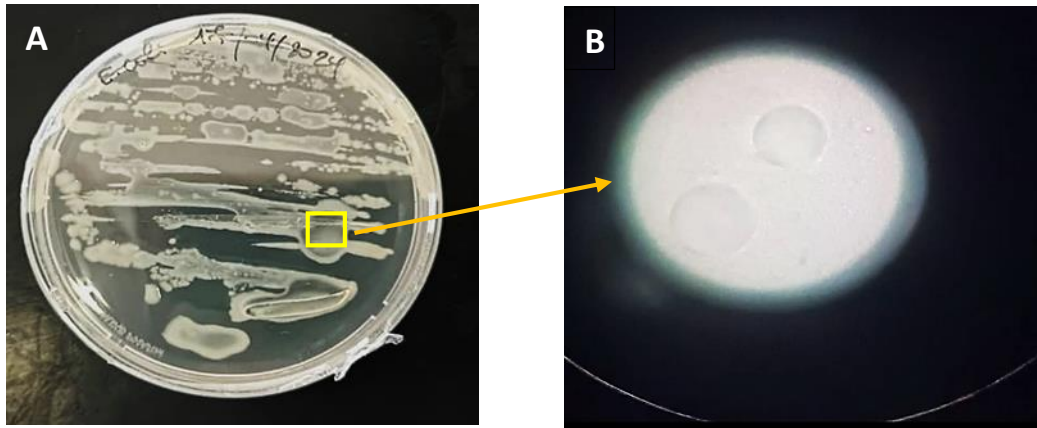


Figure 33 : observation macroscopique (A) et microscopique (B) des colonies d' *E. coli* sous microscope optique G x 40.

2.1.1.2 *Staphylococcus aureus*

Les colonies de *Staphylococcus aureus* sur une boîte de Pétri sont généralement rondes, lisses, et de couleur jaune doré, d'où leur nom "aureus" signifiant "doré" en latin. Elles sont opaques, souvent légèrement convexes, avec des bords réguliers (Figure 34).

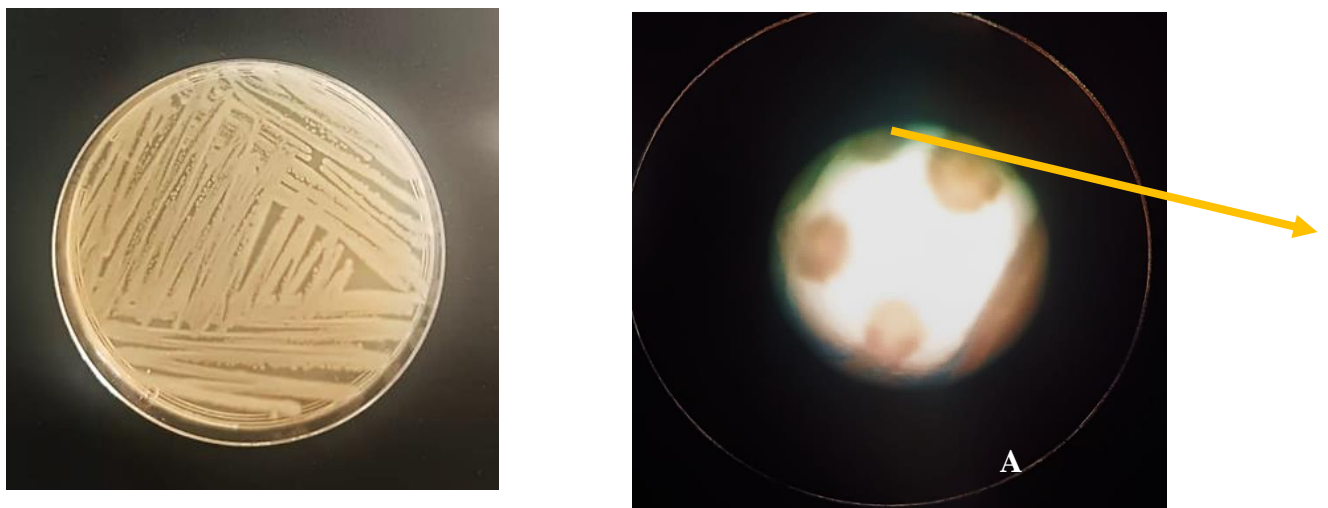


Figure 34 : observation macroscopique (A) et microscopique (B) des colonies de *Staphylococcus aureus* sous microscope optique G x 40

2.2 Résultats des dosages de polyphenols totaux des extraits de grignon d'olive et les feuilles de l'olivier

Le dosage des PPT est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est considérée comme la meilleure méthode de détermination du taux des PPT des extraits de plantes (Djeridane et *al.*, 2010) car elle est standardisée, simple, reproductible et les interférences avec la matrice de l'échantillon qui est souvent coloré sont minimisés à la longueur d'onde d'absorption (760 nm) utilisée (Huang et *al.*, 2013).

Le rendement est désigné après évaporation du solvant (ethanol), il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale (10g) du grignon et feuilles d'olivier soumise à l'extraction.

Le processus a impliqué l'extraction des polyphenol totaux à partir de grignon d'olive frais (GF), grignon sec (GS), grignon sec broyé (GSB), ainsi que des feuilles d'olivier séchées, broyées (FSB). Les resultats sont illustrés dans la figure ci-dessous (Figure 35).

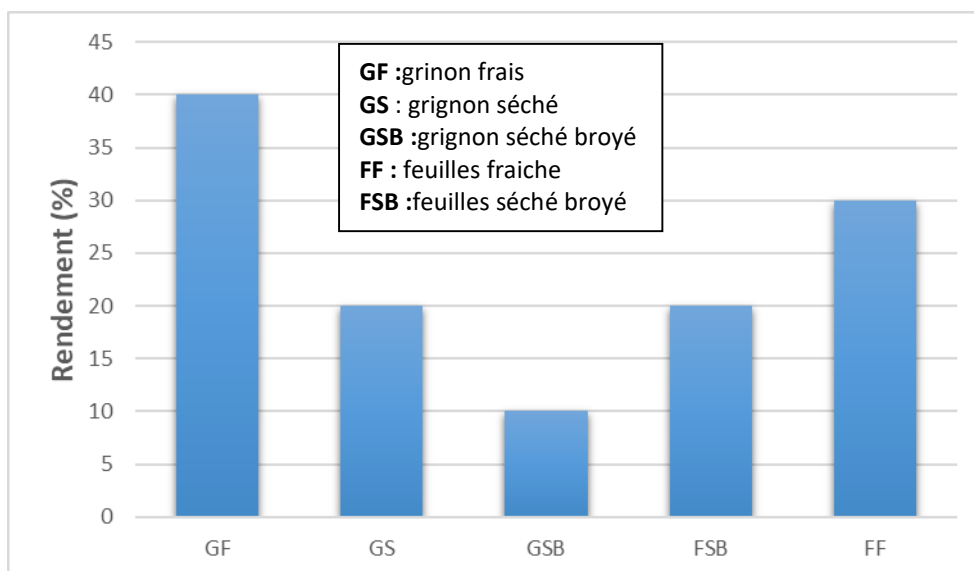


Figure 35 : Rendements (%) en polyphenol totaux des differentes biomasses

D'après nos résultats, les grignons d'olive frais ont montré le rendement en polyphénols le plus élevé. La présence d'eau dans les grignons frais peut aider à solubiliser et libérer une plus grande quantité de polyphénols, facilitant ainsi leur extraction. En comparaison, les grignons d'olive secs ont présenté un rendement en polyphénols plus faible, car le processus de séchage peut entraîner la dégradation de certains composés phénoliques. Cette observation est soutenue par plusieurs études dans la littérature. Par exemple, Matić *et al.* (2012), ont trouvé que les grignons d'olive frais contiennent une plus grande concentration de polyphénols en raison de leur teneur en eau, qui facilite la solubilisation et l'extraction de ces composés.

En comparaison, Aparicio *et al.* (2011), ont rapporté que le processus de séchage des grignons peut entraîner une dégradation significative des polyphénols, réduisant ainsi leur rendement. Cette dégradation est attribuée aux conditions de température élevée et à l'exposition prolongée à l'air durant le séchage, qui peuvent altérer la structure chimique des polyphénols.

Le broyage des grignons d'olive secs a permis d'augmenter légèrement le rendement en polyphénols par rapport aux grignons séchés non broyés, grâce à la réduction de la taille des particules qui facilite leur extraction. Toutefois, le rendement en polyphénols des grignons secs est resté inférieur à celui des grignons frais. Cela est principalement dû à la dégradation des polyphénols pendant le processus de séchage, qui limite l'efficacité d'extraction même après broyage. Del Carlo *et al.* (2004), ont également montré que le broyage des grignons secs augmentait le rendement en polyphénols en améliorant la surface de contact pour l'extraction. Néanmoins, ils ont observé que le rendement des grignons secs restait inférieur à celui des grignons frais, en raison de la perte de polyphénols causée par le séchage.

Toutefois, le rendement des grignons secs, même après broyage, reste inférieur à celui des grignons frais. Cette différence est principalement due à la dégradation des polyphénols qui se produit lors du séchage, comme le soulignent les travaux de Del Carlo *et al.* (2004) et Zou *et al.* (2013).

Les feuilles d'olivier ont également été étudiées sous différentes formes. Les feuilles séchées et broyées ont présenté un rendement en polyphénols inférieur à celui des feuilles fraîches, indiquant que le séchage et le broyage ont dégradé les polyphénols. Cependant, ces rendements restent inférieurs à ceux des grignons frais, selon Malik et Bradford (2006), les feuilles fraîches contenaient des niveaux plus élevés de polyphénols par rapport aux feuilles

séchées et broyées. Selon ces auteurs, le séchage à haute température provoque une dégradation thermique des polyphénols, réduisant ainsi leur rendement global. Cette conclusion est cohérente avec nos observations où le séchage et le broyage ont réduit le rendement en polyphénols par rapport aux feuilles fraîches.

2.3 Antibiogramme

2.3.1 Resultat de l'évaluation de la sensibilité des bactéries tests aux antibiotiques

La détermination de l'efficacité des disques d'antibiotiques *ampicilline* et la *gentamicine* sur les souches réalisée par la méthode de diffusion sur gélose .

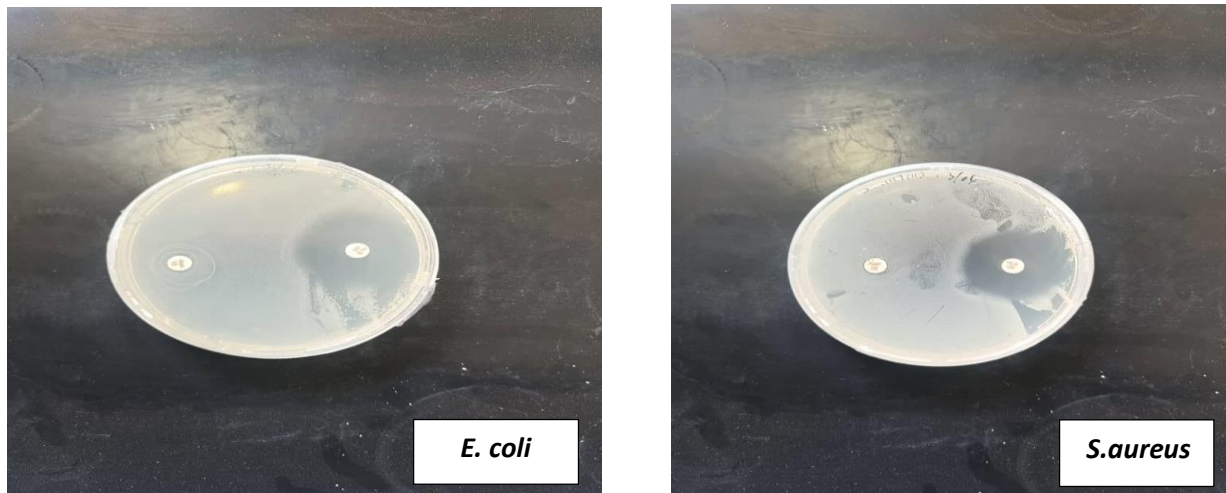


Figure 36 : Résultats de sensibilité des deux souches bactériennes aux antibiotiques Ampicilline (à gauche) et Gentamicine (à droite)

Les résultats obtenus dans la figure (36) montrent une différence marquée dans l'efficacité des deux antibiotiques testés sur les deux bactéries. L'ampicilline s'est révélée inefficace ou peu efficace contre les deux bactéries. Cette inefficacité peut être attribuée à la présence de mécanismes de résistance tels que la production de bêta-lactamases, des enzymes capables de dégrader l'ampicilline (Livermore, 1995). En revanche, la gentamicine a montré une forte activité antimicrobienne contre les deux bactéries. La grande zone d'inhibition observée suggère que la gentamicine est très efficace contre *E. coli* et *S. aureus*. La gentamicine, qui appartient à la classe des aminosides, agit en se liant aux ribosomes bactériens, inhibant ainsi la synthèse protéique et entraînant la mort bactérienne Kotra, (2000).

2.3.2 Résultats d'évaluation de l'activité antibactériennes des différentes biomasses par la technique des puits

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée en utilisant la technique des puits, permettant de comparer l'efficacité des différents échantillons de grignon d'olive frais, grignon séché non broyé, grignon séché broyé, et feuilles sèches broyées contre les deux bactéries ciblées (figure 37). (voire annex N° pour plus de photos)

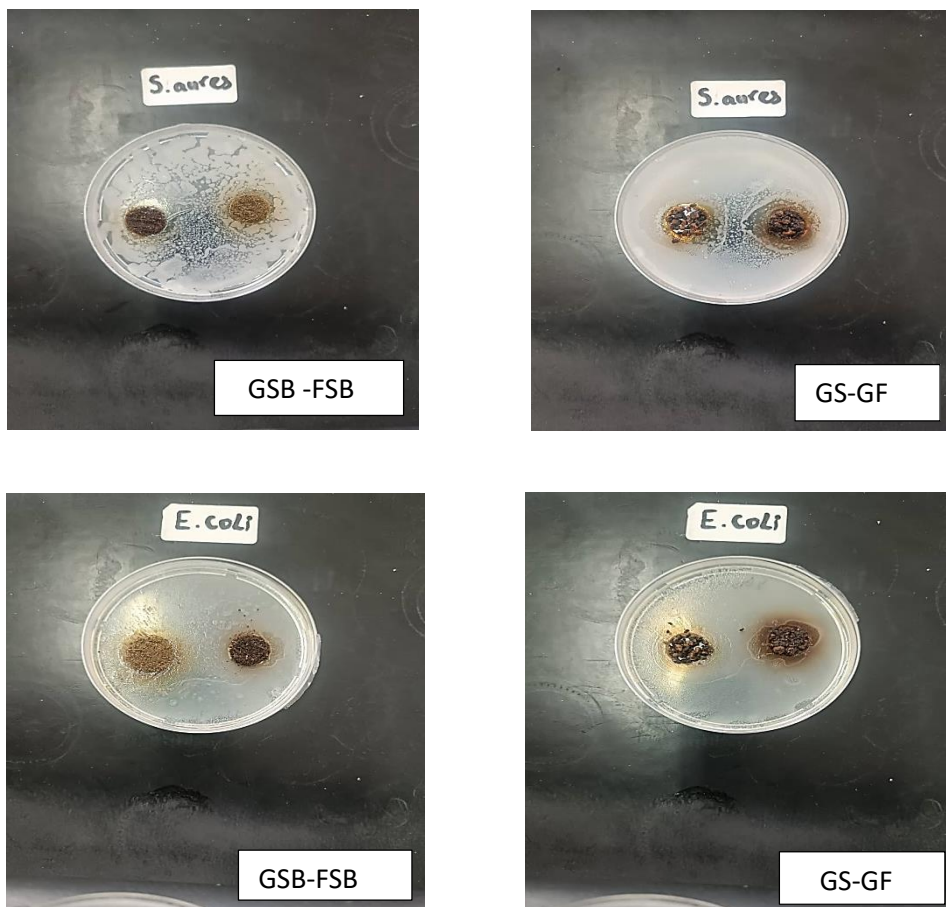


Figure 37 : Effet antibacterien de grignon d'olive et de feuilles d'olivier

Tableau 7 : resultats en (cm) des diametres des zones dihibition
(diametre du puit inclus $\varnothing= 17\text{mm}$)

- **E.Coli**

ECHANTILLONS	ESSAI 1	ESSAI 2	ESSAI 3
GS	3±1	3±1	4±1
GF	2.8±1	2.7±1	2.5±1
GSB	2.5±1	2.4±1	2.4±1
FSB	2.9±1	3±1	2.8±1

- **S.aureus**

ECHANTILLONS	ESSAI 1	ESSAI 2	ESSAI 3
GS	3.2±1	3.5±1	3.2±1
GF	2±1	2.4±1	2.3±1
GSB	2±1	2.1±1	2±1
FSB	1.9±1	2±1	2.1±1

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits de grignon d'olive et de feuilles d'olivier, réalisée par la technique des puits, a révélé que ces échantillons présentent une activité antibactérienne contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition entre (1.9 cm et 4 cm), suggérant une meilleure efficacité des polyphénols bioactifs. En comparaison, les grignons d'olive frais ont présenté une activité antibactérienne modérée, probablement en raison de la réduction de la disponibilité des polyphénols après le séchage. Les grignons secs broyés ont montré une légère amélioration de l'activité antibactérienne par rapport aux grignons secs non broyés, indiquant que le broyage augmente la surface de contact et facilite la libération ou la diffusion des composés bioactifs, bien que l'efficacité globale reste inférieure à celle des grignons secs non broyés .

Selon Micol *et al.* (2005) et Tuck *et al.* (2019), une activité antibactérienne significative des extraits de grignons d'olive a également été observée, avec des zones d'inhibition allant de 2,0 cm à 4,5 cm contre des bactéries telles que *E. coli* et *S. aureus*. Leur étude a mis en évidence que la présence de polyphénols bioactifs, tels que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol, est responsable de l'efficacité antimicrobienne des extraits de grignons d'olive. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus, où les grignons d'olive, particulièrement les grignons frais, ont montré une forte activité antibactérienne en raison de leur teneur élevée en polyphénols.

Les feuilles d'olivier sèches broyées ont montré une activité antibactérienne, mais à un niveau inférieur à celui des grignons d'olive (1.9 cm à 3cm), suggérant que la concentration de polyphénols dans les feuilles est moindre et que le processus de séchage et de broyage réduit leur efficacité antimicrobienne., les grignons frais offrant les meilleures propriétés antimicrobiennes, probablement en raison de leur teneur plus élevée en composés phénoliques actifs.

En revanche, l'étude de Tuck *et al.* (2019) a rapporté que les extraits de feuilles d'olivier présentaient une activité antibactérienne modérée, avec des zones d'inhibition variant de 1,5 cm à 3,5 cm. Cette variation dans l'activité antibactérienne des feuilles d'olivier peut être attribuée à la concentration plus faible de polyphénols comparée aux grignons d'olive. Les résultats montrent que les feuilles d'olivier sèches broyées ont une activité antibactérienne inférieure à celle des grignons d'olive, ce qui correspond aux conclusions de Tuck et ses collaborateurs (2019) concernant la variabilité de l'efficacité des extraits de feuilles d'olivier en fonction de leur teneur en composés phénoliques et des conditions d'extraction.

2.3.3 Resultats d'évaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait de grignon d'olive (EGO)

2.3.3.1 Vérification de l'activité antibacterienne de l'EGO

L'évaluation du potentiel antibacterien des extraits phénoliques de grignon d'olive est réalisée sur deux bacterie . La sensibilité des germes vis-à-vis des extraits est exprimée par l'apparition des zones d'inhibition .

Les disques imprégnés d'extrait ont montré des zones d'inhibition significatives autour des diques, indiquant un effet antibactérien notable (figure 38).

Les valeurs en cm des zones ou diamètres d'inhibitions relatives aux différentes souches testées. Selon Dengar (2021).

On a utilisé le DMSO comme témoin (contrôle négatif) dans nos tests antimicrobiens, car il n'a généralement pas d'activité antimicrobienne propre. Cela permet de distinguer les effets spécifiques du solvant de ceux de l'extrait testé, garantissant ainsi que les résultats observés sont attribués à l'extrait de grignon d'olive (EGO) plutôt qu'au DMSO.



E.coli

S.aureus


 : disque témoin DMSO

Figure 38 : Effet Antibactérien de l'EGF sur *E. coli* et *S. aureus*

L'étude a examiné l'efficacité de l'extrait de grignon d'olive sur les bactéries testées en utilisant la méthode des disques. Les résultats obtenus ont montré la présence de zones d'inhibition autour des disques imprégnés de l'extrait de grignon d'olive pour les deux bactéries testées, indiquant une activité antibactérienne de l'extrait contre *E. coli* et *S. aureus*.

La présence de zones d'inhibition sans mesures précises indique que l'extrait de grignon d'olive a un effet inhibiteur sur la croissance des deux bactéries. Cette observation suggère que l'extrait contient des composés bioactifs capables de perturber la croissance bactérienne, ce qui en fait un candidat potentiel pour le développement d'agents antimicrobiens naturels.

On a trouvé que Medina et al. (2007) ont étudié les propriétés antibactériennes des extraits de grignons d'olive et ont constaté des résultats similaires, montrant que les extraits possèdent des propriétés antibactériennes notables contre divers pathogènes, y compris *E. coli* et *S.*

aureus. Leur recherche a démontré que les composés phénoliques présents dans les grignons d'olive,

tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, sont responsables de l'inhibition de la croissance bactérienne, corroborant ainsi nos observations d'une activité antibactérienne significative.

En conclusion, les résultats démontrent que l'extrait de grignon d'olive frais possède des propriétés antibactériennes efficaces contre *E. coli* et *S. aureus*, justifiant des recherches plus approfondies pour identifier les composés actifs et évaluer leur potentiel en tant qu'alternatives aux antibiotiques traditionnels.

2.3.4 Résultats d'évaluation de l'effet antimicrobien du gel

L'évaluation de l'effet antimicrobien du gel préparé à partir d'extrait de grignon d'olive frais a été réalisée avec des gouttes pour tester son efficacité contre les deux bactéries test. Les résultats obtenus montrent la présence de zones d'inhibition autour des gouttes de gel, indiquant une activité antimicrobienne contre les deux bactéries.

La figure (39) présente les résultats de l'effet antimicrobien du gel, fabriqué à partir d'extrait de grignon d'olive frais, sur les deux bactéries (*E. coli* et *S. aureus*) à différentes concentrations (10%, 30% et 50%).

Les résultats obtenus dans cette étude démontrent clairement l'efficacité antimicrobienne des gels contenant des extraits de grignon d'olive à différentes concentrations contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les variations observées dans l'efficacité selon la concentration de l'extrait et le type de bactérie testée apportent des informations intéressantes sur les propriétés des composés phénoliques présents dans les grignons d'olive.

À une concentration de 10%, le gel a montré une activité antimicrobienne notable contre les deux bactéries, avec des zones d'inhibition plus prononcées pour **S. aureus** que pour **E. coli**. Cette observation peut s'expliquer par la différence dans la structure des parois cellulaires des bactéries Gram-positives (**S. aureus**) et Gram-négatives (**E. coli**). Les bactéries Gram-positives ont une paroi cellulaire plus épaisse mais sans membrane externe, ce qui permet aux composés phénoliques tels que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol de pénétrer plus facilement et de perturber les fonctions cellulaires essentielles (Bisignano et al., 1999). En revanche, **E. coli**, une bactérie Gram-négative, possède une membrane externe supplémentaire qui peut servir de barrière protectrice, limitant l'efficacité des composés antimicrobiens.

Lorsque la concentration de l'extrait de grignon d'olive a été augmentée à 30%, une amélioration de l'efficacité antimicrobienne a été observée, avec des zones d'inhibition significativement plus grandes pour **S. aureus** que pour **E. coli**. Cela corrobore les résultats d'études antérieures qui ont démontré que l'augmentation de la concentration des composés phénoliques peut renforcer l'activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positives, qui sont plus sensibles aux attaques chimiques en raison de leur structure de paroi cellulaire (Bisignano et al., 1999).

À une concentration de 50%, le gel a montré une activité antimicrobienne maximale contre les deux types de bactéries, avec des zones d'inhibition particulièrement larges pour **S. aureus**. Cela suggère que l'augmentation de la concentration d'extrait améliore l'efficacité antimicrobienne, même contre des bactéries possédant des mécanismes de défense robustes. Ces résultats sont en ligne avec les conclusions de Mathew et al. (2006), qui a également observé que des concentrations plus élevées d'extraits de grignon d'olive augmentent l'effet inhibiteur sur les bactéries, en particulier contre les Gram-positives. La membrane externe d'**E. coli**, bien qu'elle offre une certaine protection, ne peut pas complètement prévenir l'action des composés antimicrobiens à des concentrations élevées.

En comparant ces résultats avec d'autres études, il est clair que l'efficacité antimicrobienne des extraits de grignon d'olive est influencée non seulement par la concentration de l'extrait mais aussi par la nature des bactéries ciblées. Les études de Bisignano et *al.* (1999) et Mathew et *al.* (2006) soutiennent nos conclusions, affirmant que les composés phénoliques des grignons d'olive sont plus efficaces contre les bactéries Gram-positives que contre les Gram-négatives. Ces comparaisons mettent en évidence l'importance de prendre en compte les différences structurelles des bactéries lors de l'évaluation de l'efficacité des agents antimicrobiens naturels.

En résumé, les résultats de cette étude confirment le potentiel des extraits de grignon d'olive comme agents antimicrobiens naturels, avec une efficacité variable selon la concentration de l'extrait et le type de bactérie ciblée. Les travaux futurs devraient explorer l'utilisation de ces extraits dans des applications cliniques et industrielles, tout en tenant compte de la nécessité d'optimiser les formulations pour différents types de bactéries.

CONCLUSION

La valorisation des sous-produits oléicoles, en particulier le grignon d'olive, offre des perspectives prometteuses pour le développement de solutions durables dans le domaine de l'emballage actif. Dans ce travail, nous avons procédé à la récolte, au séchage, au broyage, et à l'extraction des polyphénols à partir de grignons d'olive. Nos analyses ont révélé que le grignon d'olive frais contenait la plus forte concentration de polyphénols, ce qui en fait un candidat de choix pour des applications à haute valeur ajoutée.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antibactérienne d'un gel élaboré à partir de l'extrait de grignons d'olive frais de la variété *Chamlal*, dans le but de valoriser ces sous-produits oléicoles

Les tests microbiologiques effectués, notamment les antibiogrammes par la méthode des puits et des disques, ont démontré que l'extrait de grignon d'olive frais possède des propriétés antimicrobiennes significatives contre les bactéries *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* nu50. La préparation d'un gel antimicrobien à base de cet extrait a confirmé son efficacité, les tests d'antibiogrammes par la technique de goutte ayant montré une inhibition notable de la croissance bactérienne.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel du grignon d'olive frais non seulement comme source riche en polyphénols, mais également comme agent actif dans des applications d'emballage antimicrobien. En intégrant ces extraits naturels dans des matériaux d'emballage, il est possible de développer des solutions écologiques qui prolongent la durée de conservation des produits alimentaires tout en réduisant l'utilisation de conservateurs chimiques. Cette approche contribue également à la réduction des déchets oléicoles, offrant ainsi une solution à la fois économique et respectueuse de l'environnement. Il est donc crucial de poursuivre les recherches dans ce domaine, en explorant notamment les possibilités d'industrialisation de ces procédés et l'évaluation de leur efficacité à plus grande échelle.

Les résultats obtenus dans ce travail ne constituent qu'une première étape dans la valorisation de sous-produits de l'olivier. Des essais complémentaires seront nécessaires. A l'issue de la présente étude les perspectives suivantes peuvent être dégagées :

- Il serait pertinent de réaliser une analyse détaillée de la composition chimique des extraits de grignons d'olive frais, en particulier en ce qui concerne les polyphénols, afin d'identifier les composés spécifiques responsables de l'activité antibactérienne observée.
- Des tests antibactériens plus poussés, incluant une gamme élargie de souches bactériennes pathogènes, sont nécessaires pour évaluer pleinement le potentiel des polyphénols extraits comme agents antibactériens,
- Il serait intéressant d'étudier l'activité antioxydant des extraits de grignons d'olive en utilisant différentes méthodes in vitro, ainsi que d'évaluer l'effet in vivo pour identifier de nouveaux agents thérapeutiques potentiels.
- "Réaliser des essais d'application du gel actif développé dans cette étude sur différentes matrices alimentaires périssables afin d'évaluer plus précisément son efficacité avant de l'utiliser comme revêtement pour les emballages alimentaires actifs."
- La présente étude souligne le potentiel antibactérien des extraits de grignons d'olive frais. Il serait utile de poursuivre la recherche pour découvrir des molécules à large spectre capables de réduire la résistance aux antibiotiques, et d'explorer leur incorporation dans des produits pharmaceutiques ou des matériaux d'emballage actif.

Références Bibliographiques

A

Ahvenainen R. 2003. Novel Food Packaging Techniques. Woodhead Publishing Limited, Cambridge: England. (eBook ISBN: 9781855737020).

Akarkar, D. (2018). *Activité antimittotique et antiproliférative des extraits aqueux des feuilles de l'oléastre (Olea europaea sylvestris) et de l'olivier de Laperrine (Olea europaea laperrinei)* Université Mouloud Mammeri].

Albuquerque j.a., gonzalvez j., garcía d. And cegarra j. (2004). Agrochemical characterization of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour. Technol.*, 91, 195-200.

Altıok E., Bayçın D., Bayraktar O et Ülkü S., 2008. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. separation and purification technology. 62(2): 342-348.

Amado s., bouenna n., haddadi f., hamidouche s. And sadoud s. (2005). Quel rôle pour les fermes pilotes dans la préservation des ressources génétiques en Algérie. Série de document de travail, 126, Algérie, 119.

Anglada, Á., Urtiaga, A., Ortiz, I., Mantzavinos, D., & Diamadopoulos, E. (2011). Treatment of municipal landfill leachate by catalytic wet air oxidation: Assessment of the role of operating parameters by factorial design. *Waste Management*, 31(8), 1833-1840.

Aouidi, F., 2012. Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molécules*, Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans L'industrie Agro-Al. Thèse de doctorat. Université du Carthage. 213 pages.

Aparicio r and harwood j. (2013). Handbook of Olive Oil. Analysis and Properties. 2nd ed. Springer.

Aparicio, R., & Luna, G. (2011). "Effect of drying methods on the antioxidant properties of olive pomace." *Food Chemistry*, 129(2), 500-507

- Aranaz, I., Harris, R., & Heras, A. (2010).** "Chitosan amphiphilic derivatives. Chemistry and applications". *Current Organic Chemistry*, 14(3), 308-330.
- Argenson, C., Regis, S., Jourdain, J., & Vaysse, P. (1999).** The olive tree. *The olive tree*.
- Atsuko T. N. et al.,** "Edible Films and Coatings: Characteristics and Properties," *Journal of Food Science*, vol. 83, no. 6, pp. 1331-1341, 2018, DOI: 10.1111/1750-3841.14014.
- Auras, R., Harte, B., & Selke, S.,** "Polylactic Acid: Synthesis, Properties, and Applications," *Macromolecular Bioscience*, vol. 4, no. 9, pp. 835-864, 2004, DOI: 10.1002/mabi.200400043.
- Azeredo, H. M. C., Kontou-Vrettou, C., Moates, G. K., Wellner, N., Cross, K., & Waldron, K. W. (2020).** Bio-based active packaging: The effects of cellulose fiber incorporation on film properties and food packaging applications. *Journal of Food Engineering*, 278, 109934. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2020.109934.



- Bajpai, P. K., & Hussain, A. (2023).** "Synthetic Polymers in Food Packaging: Performance, Applications, and Environmental Concerns." *Progress in Polymer Science*, vol. 136, 101485.
- Bekara, A., Ait Hamadouche, N., Kahloula, K., Sadi, N., & Aoues, A. (2016).** Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. *Algerian journal of natural products*, 4(3), 299-307
- Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuño A et Del Rio J., 2000.** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*. 68(4):457-462.
- Benbettaïeb, N., Karbowskiak, T., & Debeaufort, F. (2019).** Bioactive edible films for food applications: Influence of the presence of hydrosoluble and liposoluble active compounds. *Food Hydrocolloids*, 96, 487-499. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.05.041.
- Benhayoun, G., & Lazzeri, Y. (2007).** *L'olivier en Méditerranée, du symbole à l'économie*. Editions Le Harmattan.

- Bentayeb K., Rubio C., Batlle R., Nerín C. 2007.** Direct determination of carnosic acid in a new active packaging based on natural extract of rosemary. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389,1989–1996.
- Benzie I. F. F. 1996.** Lipid peroxidation: A review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *International Journal of Food Science and Nutrition* 47, 233–261.
- Beveridge, T. J. (1999).** Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. *Journal of Bacteriology*, 181(16), 4725-4733.
- Boudhrioua N., Bahloul N., Slimen I. B et Kechaou N., 2009.** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products* . 29(2-3) : 412-419.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante
- Bourbia, F. (2016).** *Evaluation de la maturité du compost des grignons d'olives* [Université Mouloud Mammeri].
- G
- Cagri A., Ustunol Z., Ryser E. 2001.** Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Science* 66, 865–870.
- Calatayud M., López-de-Dicastillo C., López-Carballo G., Vélez D., Muñoz P. H., Gavara R. 2013.** Active films based on cocoa extract with antioxidant, antimicrobial and biological applications. *Food Chemistry*, 139, 51–58.
- Camo J., Lorés A., Djenane D., Beltrán J. A., Roncalés P. 2011.** Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Science* 88, 174–178.
- Chollet E., Sebti I., Martial-Gros A., Degraeve P. 2008.** Nisin preliminary study as a potential preservative for ripened cheese: NaCl, fat and enzymes influence on nisin concentration and its antimicrobial activity. *Food Control* 19, 982–989.
- Cirillo G., Spizzirri U. G., Iemma F. 2015.** Functional polymers in food science from technology to biology. Volume 1: Food Packaging. Edition WILEY. ISBN

978-1-118- 59489-6.

Clark, G. (1981). Procédures de coloration utilisées par la Commission des colorations biologiques. 4e édition, Williams & Wilkins, Baltimore, Londres, 412.

D

Dangi, R. S., et al. (2023). "Edible Coatings and Films as Food Packaging: A Review of Recent Trends and Applications." *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 36, 102116.

Day B.P.F. 2008. Active packaging of food. In *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*, eds. J. Kerry, P. Butler, pp. 1–18. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.

Debit, Z. (2015). *Caractérisation chimique du bois de chene zéen *Quercus canariensis* Willd.) et du roseau commun (*Phragmites australis*) UMMTO]*

Del Carlo, M., Sacchetti, G., Di Mattia, C., Compagnone, D., Mastrocola, D., Liberatore, L., & Papa, R. (2004). "Effect of drying and particle size on polyphenol extraction yield from olive pomace." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(24), 7265-7271.

Dermeche s., nadour m., larroche c., moulti-mati f. And michaud p. (2013). Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochem.*, 48, 1532-1552.

Dermeche, S. (2020). *Valorisation des sous-produits oléicoles par bioconversion* Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou].

Deore, N. (2024, juin). *Rapport sur le marché de l'huile d'olive 2024 (édition mondiale)*. Global Market Insights, 120 pages.

Di giovacchino, l., sestili, s. And di vincenzo, d. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 587-601.

Di Giovacchino, L., Sestili, S., & Di Vincenzo, D. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 587-601.

Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M., & Stocker, P. (2010). RETRACTED: Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants.

Dupont, F., & Guignard, J.-L. (2012). *Botanique: Les familles des plantes*. Elsevier Health Sciences



Erbay Z. et Icier F., (2010). The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International*. (4): 319-334.

Erbay Z. et. Icier F., (2010). Thin-layer drying behaviors of olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Food Process Engineering*.33(2): 287-308.

Eriksson C. E. (1987). Oxidation of Lipids in Food Systems: Autoxidation of Unsaturated Lipids. Academic Press Inc.: London. Extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature*

Fadil, K., Chahlaoui, A., Ouahbi, A., Zaid, A., & Borja, R. (2003). Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51(1), 37-41.



Galotto M. J., Guarda A., de Dicastillo C. L. (2015). Antimicrobial active polymers in food packaging. In: *Functional polymers in food science from technology to biology*. Cirillo G., Spizzirri U. G., Iemma F (Eds.), ISBN: 978-1-118-59489-6.

Galotto M. J., Valenzuela X., Rodriguez F., Bruna J., Guarda A. (2012). Evaluation of the effectiveness of a new antimicrobial active packaging for fresh Atlantic Salmon (*Salmon Salar* L.) shelf life. *Packaging Technology and Science*

25, 363–372.

Garcia, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2000). Edible starch films and coatings characterization: Scanning electron microscopy, water vapor, and gas permeabilities. *Food Chemistry*, 70(3), 257-270. doi:10.1016/S0308-8146(00)00089-9

Gayathiri, E., Bharathi, B., & Priya, K. (2018). Study of the enumeration of twelve clinical important bacterial populations at 0.5 McFarland standard. *Int. J. Creat. Res. Thoughts (IJCRT)*, 6(2), 880-893.

Gómez-Estaca, J., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P., & López-Rubio, A. (2023). "Biopolymer-Based Coatings for Food Packaging Applications: Recent Advances and Future Trends." *Food Hydrocolloids*, vol. 142, 108776.

Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. E., & Montero, M. P. (2011). "Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review". *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1813-1827.

Gontard N. (2000). Les emballages actifs. Edition Tec et Doc. Paris. ISBN : 2-7430-0387- 1.

Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L. (1993). "Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology". *Journal of Food Science*, 58(1), 206-211.



Hadjou, L., Lamani, O., & Foued, C. (2013). Labellisation des huiles d'olive algériennes : contraintes et opportunités du processus ? *New Medit*, 12.

Hagenmaier, R. D., & Shaw, P. E. (1992). "Gas permeability of fruit coating waxes". *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(1), 194-198.

Hanani, M. K., Roos, N., & Kerry, G., "Edible Films and Coatings Containing Bioactive Compounds," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 50, no. 3, pp. 371-380, 2013, DOI: 10.1007/s13197-012-0914-3.

Hayes J., Allen P., Brunton N et O'grady M., (2011). Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food chemistry*.126(3): 948-955.

Henry, S. (2003). L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique UHP-Université Henri Poincaré

Henry, S. (2003). L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie *et en cosmétique* UHP-Université Henri Poincaré]

Hernández-Inquired, V. M., & Kroch, J. M. (2008). "Thermoplastic processing of proteins for film formation—A review". *Journal of Food Science*, 73(2), R30-R39.

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.facebook.com%2FBIOLOGY.LABIOLOGIE%2Fphotos%2>

Huang, A. C., Wilde, A., Ebmeyer, J., Skouroumounis, G. K., & Taylor, D. K. (2013). Examination of the phenolic profile and antioxidant activity of the leaves of the Australian native plant *Smilax glycyphylla*. *Journal of natural products*, 76(10), 1930-1936.



KAPELLAKIS I.E., TSAGARAKIS K.P. and CROWTHER J.C. (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Rev. Environ. Sci. Biotechnology.*, 7, 1-26.

Kapellakis i.e., tsagarakis k.p. And crowther j.c. (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 7, 1-26.

Konoz E., Abbasi A., Moazeni R. S., Parastar H et Jalali-Heravi M., (2013). Chemometrics- assisted gas chromatographic-mass spectrometric analysis of volatile components of olive leaf oil. *Journal of the Iranian Chemical Society*. (1): 169-179 .

Kostić, I., Bajat, J., & Gojgić-Cvijović, G. (2015). Beeswax as an alternative coating for fruits: An overview. *Acta Horticulturae*, 1079, 391-398. doi :10.17660/ActaHortic.2015.1079.57

L

L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques. Montpellier : CIHEAM, 149-159.

Lamani, O., & Ilbert, H. (2016). Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie): pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. *L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours: pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques.* Montpellier: CIHEAM, 149-159

Lamani, O., & Ilbert, H. (2016). Spécificités de l'oléiculture en montagne (région kabyle en Algérie): pratiques culturelles et enjeux de la politique oléicole publique. *L'oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours: pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques.* Montpellier: CIHEAM, 149-159.

Lesage-Meessen, L., Navarro, D., Maunier, S., Sigoillot, J., Lorquin, J., Delattre, M., Simon, J., Asther, M., & Labat, M. (2001). Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*, 75(4), 501-507.

Lesage-Meessen, L., Navarro, D., Maunier, S., Sigoillot, J., Lorquin, J., Delattre, M., Simon, J., Asther, M., & Labat, M. (2001). Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*, 75(4), 501-507.

Lopez O., Garcia M. A., Zaritzky N. (2015). Films based on starches. In: *Functional polymers in food science from technology to biology.* Cirillo G., Spizzirri U. G., Iemma F (Eds.), ISBN : 978-1-118-59489-6.

Loussert R et Brousse G., (1978). L'olivier : techniques agricoles et productions méditerranéennes. Edition :Bioresource Technology, Paris. 460 pages.



Mali, A., Grossmann, M.V.E., García, M.A., Martino, M.N., & Zaritzky, N.E., "Starch-Based Edible Films and Coatings: A Review," *Food Science and Technology International*, vol. 10, no. 5, pp. 289-296, 2004, DOI: 10.1177/1082013204045883.

Malik, N. S., & Bradford, J. M. (2006). "Effect of drying and storage on the phenolic content of olive leaves." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), 5006-5010

Maouche, H., & Hebib, A. (2021). Caractérisation morphologique de quelques variétés d'olivier (*olea europea*) dans la région de tissemsilt.

Maouche, H., & Hebib, A. (2021). Caractérisation morphologique de quelques variétés d'olivier (*olea europea*) dans la région de tissemsilt.

Markin D., Duek L et Berdicevsky S., (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern in vitro. *Mycoses*. 46(3-4): 132 -136

Mastromateo M., Danza A., Conte A., Muratore G., Del Nobile M. A. (2012). Shelf life of ready to use peeled shrimps as affected by thymol essential oil and modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Microbiology* 14, 4250–256.

Matić, S., Bešlić, I., & Švarc-Gajić, J. (2012). "Characterization and antioxidant activity of polyphenols from fresh and dry olive pomace." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(6), 1427-1434.

Maymone, B., Battaglini, A., & Tiberio, M. (1961). Ricerche sul valore nutritivo della sansa d'olive. *Alimentazione Animale*, 5(4), 219-250

Maymone, B., Battaglini, A., & Tiberio, M. (1961). Ricerche sul valore nutritivo della sansa d'olive. *Alimentazione Animale*, 5(4), 219-250.

MCDONALD S., PRENZLER P.D., ANTOLOVICH M., ROBARDS K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chem.*, 73, 73-84.

Medina, E., de Castro, A., Romero, C., Brenes, M. (2007). "Antimicrobial activity of olive oil, vinegar, and various beverages against foodborne pathogens." *Journal of Food Protection*, 70(5), 1196-1202

Micol, V., Caturla, N., Pérez-Fons, L., Mas, V., Pérez, L., Estepa, A., & Gómez-Cabrera, M. C. (2005). The olive leaf extract exhibits antiviral and antioxidant properties against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Research*, 66(2-3), 129-136.

MONTEDORO G.F., BEGLIOMINI A.L., SERVILI M., PETRUCCIOLI M. and FEDERICIF. (1993). Pectinase production from olive vegetation waters and its use in the mechanical olive oil extraction process to increase oil yield and improve quality. *Ital. J. Food Sci.*, 5, 355-362.

N

NADOUR M., LAROCHE C., PIERRE G., DELATTRE C., MOULTI-MATI F. and MICHAUD P., (2015). Structural characterization and biological activities of polysaccharides from olive mill wastewater. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 177, 2, 431-

Nefzaoui A., (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier, édition : Ciheam. 16 : 101-108 pages.

Nefzaoui a., (1993). Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits, Edition : Ciheam. Paris : (1) : 11-14 pages.

Nerín C., Tovar L., Djenane D., Camo J., Salafranca J., Beltrán J. (2006). Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 54, 7840–7846.



Ouadan, L., Mahjoubi, M., Zair, T., & Alistiqsa, F. (2018). Étude phytochimique et ethnobotanique, dosage des polyphenols totaux de l'huile essentielle et des extraits du *Thymus capitatus*. *J. Natl. Sur La Chim*, 57-62.

Ozdemir M., Floros J. D. (2004). Active food packaging technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44, 185–193.



Pagnol, J. (1984). *L'olivier*. FeniXX

Pavithra, C., & Sarika, P. R. (2023). "Recent Advances in Food Packaging Technologies: A Review on Sustainable Approaches." *Journal of Food Science and Technology*, vol. 60, no. 1, pp. 234-247.

PERES F., MARTINS L. L. and FERREIRA-DIAS S. (2014). Laboratory-scale optimization of olive oil extraction: Simultaneous addition of enzymes and microtalc improves the yield. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 116, 1054-1062.

PERES F., MARTINS L. L. and FERREIRA-DIAS S. (2017). Influence of enzymes and technology on virgin olive oil composition, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57, 14, 3104-3126.



Quattara B., Simard R., Piette G., Begin A., Holley R. 2000. Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. *Journal Food Science* 65, 768–773.



Rai, M., Deshmukh, S. D., Ingle, A. P., & Gade, A. K. (2012). "Silver nanoparticles: The powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria". *Journal of Applied Microbiology*, 112(5), 841-852.

Restuccia D., Puoci F., Parisi O. I., Picci N. 2015. Food Applications of Active and Intelligent Packaging: Legal Issues and Safety Concerns. Cirillo G., Spizzirri U. G., Iemma F (Eds.), ISBN 978-1-118-59489-6.

Rhim, E., Ng, L., & Lim, W. Y., "Nanocomposite Materials for Food Packaging Applications," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 53, no. 9, pp. 833-852, 2013, DOI: 10.1080/10408398.2011.623796.

ROIG A., CAYUELA M.L. and SANCHEZ-MONEDERO M.A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorization methods. *Waste Manage.*, 26, 960-969.

ROMERO-GARCIA J.M., NIÑO L., MARTINEZ-PATIÑO C., ÁLVAREZ C., CASTRO E., NEGRO M.J. (2014). Biorefinery based on olive biomass. State of the art and future trends, *Bioresour. Technol.* 159, 421–432.



Sanches, V. (2020). Valorisation des feuilles d'olivier : Extraction et applications des polyphénols. *Revue des Produits Naturels*, 12(3), 45-56.

Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414.

Singh, P. P. et Saldaña M. D., (2011). Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. *Food Research International* .44(8): 2452-2458.

Siripatrawan U., Noipha S. (2012). Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocolloids* 27, 102–108.

Sivakumaran S., Molan A. L., Meagher L. P., Kolb B., Foo L. Y., Lane G. A., Attwood G. A., Fraser K et Tavendale M., (2004). Variation in antimicrobial action of proanthocyanidins from *Dorycnium rectum* against rumen bacteria. *Phytochemistry* .65(17): 2485-2497.

Souilem s., el-abbassi a., kiai h., hafidi a., sayadi s. And galanakis c.m. Ed (2017). Olive Oil Production Sector: Environmental Effects and Sustainability Challenges. In Book: GALANAKIS C.M. Ed (2017). Olive Mill Waste: Recent Advances for Sustainable Management. 1-20.

Souilem s., el-abbassi a., kiai h., hafidi a., sayadi s. And galanakis c.m. Ed (2017). Olive Oil Production Sector: Environmental Effects and Sustainability Challenges. In Book: GALANAKIS C.M. Ed (2017). Olive Mill Waste: Recent Advances for Sustainable Management. 1-20.



Tuck, K. L., & Hayball, P. J. (2019). Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(11), 636–644

Ture H., Gallstedt M., Hedenqvist M. (2012). Antimicrobial compression-moulded wheat gluten films containing potassium sorbate. *Food Research International* 45, 109–115.

V

VICHI S., BOYNUEGRI P., CAIXACH J., ROMERO A. (2015). Quality losses in virgin olive oil due to washing and short term storage before olive milling. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 117, 12, 2015-2022.

VLYSSIDES A.G., LOIZIDES M. and KARLIS P.K. (2004). Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. *J. Clean. Prod.*, 12, 603-611.
Wagner J. 1989. The advent of smart packaging. *International Journal of Food Engineering*, December 11.

W

Waites, M. J., Morgan, N. L., Rockey, J. S., & Higton, G. (2009). *Industrial microbiology: an introduction*. John Wiley & Sons.

Y

Yam K. L., Takhistov P. T., Miltz J. (2005). Intelligent packaging: Concepts and applications. *Journal of Food Science* 70, R1–R10.

Annexe 1

Appareillage :

Les appareils utilisés sont :

- Balance de précision
- Spectrophotomètre
- Agitateur a barreau magnétique Plaque d'agitation
- Mortier
- Tamis



Bain marie



Etuve



Agitateur



Plaque chauffante



Balance



Microscope optique



Autoclave

Annexe 2

Préparation du standard de Mc Farland la suspension de sulfate de baryum :

Mélanger 0,05 ml d'une solution de sulfate de baryum à 1% ($BaCl_2$) avec 9,95 ml d'acide sulfurique 1% (H_2SO_4).

La suspension obtenue doit être homogène et stable.

Le standard McFarland 0,5 a une densité optique de 0,08 à 0,1 à 625 nm, équivalente à environ $1,5 \times 10^8$ cellules bactériennes par millilitre.

Annexe 3

Milieu de culture Mueller-Hinton :

Le milieu de culture Mueller-Hinton est couramment utilisé pour les tests de sensibilité aux antibiotiques, notamment avec la méthode de diffusion sur disque (méthode de Kirby-Bauer). Voici sa composition typique :

1. Extrait de viande bovine : 2,0 g/L
2. Caséine hydrolysée : 17,5 g/L
3. Amidon : 1,5 g/L

4. Agar : 17 g/L (pour les milieux solides)
5. PH : Ajusté à 7,2-7,4

Annexe 4

Méthodes colorimétrique de FOLIN-CIOCALTEU :

Matériaux Réactifs employés :

- 1) Échantillon contenant des polyphénols
- 2) Réactif de FOLIN-CIOCALTEU.
- 3) Solution de Na₂CO₃ à 7,5 %
- 4) Acide gallique (standard pour la courbe d'étalonnage)
- 5) Solvant d'extraction (éthanol)
- 6) Spectrophotomètre UV-Vis

Annexe 5

L'évaluation de la sensibilité des bactéries tests aux antibiotiques :

Après avoirensemencé la boîte de Pétri, nous procédons aux étapes suivantes :

- 1) Application des disques antibiotiques :

Utiliser une pince stérile ou un distributeur de disques pour placer les disques antibiotiques sur la surface de la gélose inoculée.

Espacer les disques suffisamment pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition.

- 2) Incubation

Incuber les boîtes de Petri à l'envers à 37°C pendant 24 heures.

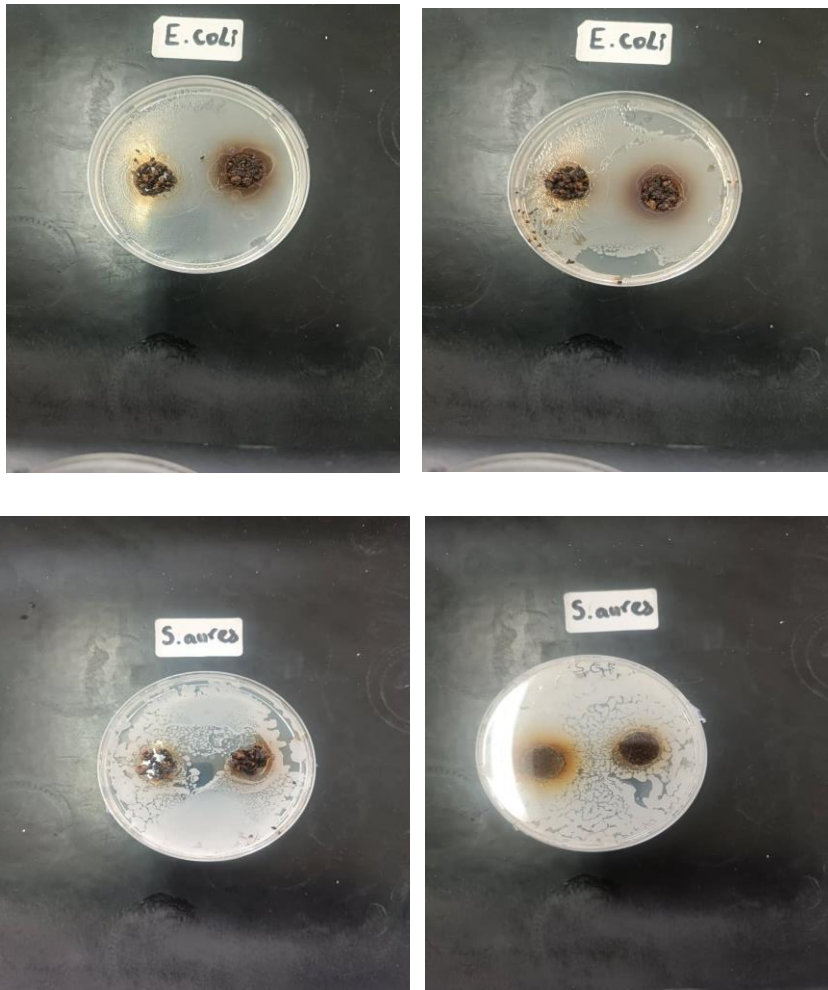
- 3) Lecture des résultats

Après l'incubation, mesurer le diamètre des zones d'inhibition autour des disques antibiotiques à l'aide d'une règle ou d'un dispositif de mesure adapté.

Comparer les diamètres des zones d'inhibition aux critères standards pour déterminer si la bactérie est sensible, intermédiaire ou résistante à chaque antibiotique.

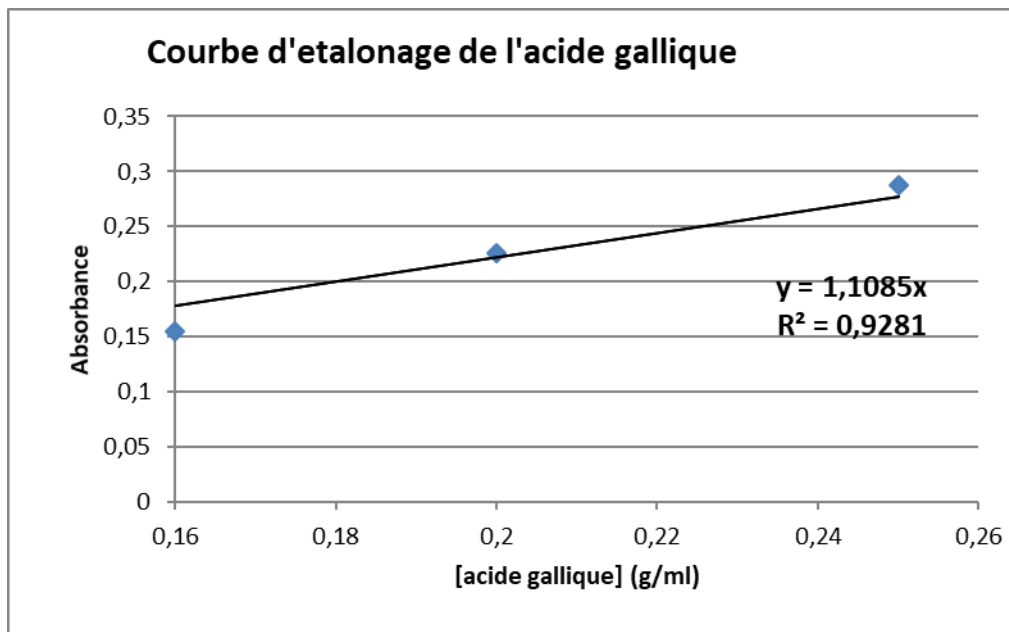
Annexe 6

L'évaluation de l'activité antibactérienne par antibiogramme technique des puits :



Annexe 7

Courbe d'étalonnage établie pour le dosage des polyphénols totaux En équivalent d'acide gallique



Résumé

L'objectif de ce projet consiste à concevoir un matériau d'emballage - fonctionnel et biodégradable en conditions naturelles - à partir de ressources renouvelables, comme alternative écologique aux matériaux conventionnels d'origine fossile et mieux adapté pour la conservation de divers produits alimentaires. Le Grignon d'olives est le sous-produit solide issu de l'extraction de l'huile d'olive, composé essentiellement de pulpe et de noyau. Ce résidu agroalimentaire cause de sérieux problèmes environnementaux et sa valorisation doit être encouragée.

Une première étude réalisée sur le fractionnement par voie sèche du grignon d'olive pour avoir une poudre de Grignon d'olive d'un diamètre ≤ 0.63 mm

La deuxième partie La présente étude vise à étudier l'effet antibactérien des composés phénoliques extraits à partir du Grignon d'olive macérées dans les solvants organiques l'éthanol 70% vis-à-vis de deux bactéries multi-résistantes (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) Les rendements en composés phénoliques obtenues par macération sont de 40% et 39.75% respectivement .

L'activité antibactérien a été évaluée en utilisant DMSO Les résultats de l'étude ont révélé que pouvoir l'extrait de grignon d'olive frais possède des propriétés antibactériennes efficaces contre *E. coli* et *S. aureus*, justifiant des recherches plus approfondies pour identifier les composés actifs et évaluer leur potentiel en tant qu'alternatives aux antibiotiques traditionnels.

Dans la troisième partie, l'évaluation de l'effet antimicrobien du gel préparé à partir d'extrait de Grignon d'olive frais a été réalisée avec des goutte pour tester son efficacité contre les deux bacteries test. Les résultats obtenus montrent la présence de zones d'inhibition autour des gouttes de gel, indiquant une activité antimicrobienne contre les deux bactéries.

Mots clés : Grignon d'olive, fractionnement par voie sèche, emballage alimentaire ,composés phénoliques, activité antibactérienne.