

Université Abdelhamid Ben Badis  
Mostaganem  
Faculté des sciences  
De la Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية العلوم الطبيعية و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES AGRONOMIQUE**

Spécialité : CONTROLE DE LA QUALITE DES ALIMENTS

THEME

**Aptitudes de l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis L* à la conservation de la viande ovine à 4°C**

Soutenu publiquement le : 15/07/2019

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> BENZAHRA Fatima Zohra et M<sup>elle</sup> FOUNDOU Rekia**

**Devant le Jury**

<b>Président</b>	M	BOUZOUINA.M	MCA	Université de Mostaganem
<b>Encadreur</b>	M	AIT SAADA.D	MCA	Université de Mostaganem
<b>Examinatrice</b>	M <sup>me</sup>	AIT CHABANE.O	MCB	Université de Mostaganem
<b>Examinatrice</b>	M <sup>me</sup>	BENMAHDIF	MCB	Université de Mostaganem
<b>Invité</b>	M <sup>elle</sup>	BABADJI.K	Doctorante	Université de Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition  
Université de Mostaganem

**Année universitaire : 2018 – 2019.**

# Remerciements



Avant toute chose, nous remercions Allah, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

Tout d'abord, nous remercions très chaleureusement notre encadreur Monsieur **AIT SAADA Djamel** maître de conférence (classe A) à la faculté SNV exerçant à l'université Abd Elhamid Ibn Badis Mostaganem d'avoir accepté de nous encadrer et pour avoir proposé ce sujet si intéressant ; ses conseils, orientations et corrections précieuses ont été très profitables pour nous ; pour la confiance qu'il nous a accordé et son accueil chaleureux au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition dont au long de ce modeste travail on vous dit merci .

On adresse éventuellement nos sincères remerciements à Monsieur **BOUZOUINA.M** d'avoir accepté de présider le jury, Qu'il trouve ici mes sincères impressions de gratitude et de respect

On exprime également notre gratitude à Madame **AIT CHABANE.O** et Madame **BENMAHDI.F** d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail ; qu'il trouve ici nos sincères remerciements.

Nous remercions vivement M<sup>elle</sup> **BABADJI.K**, pour sa gentillesse et les l'aides qu'elle a porté à ce travail.

Nous tenons également à remercier tous les enseignants du département d'agronomie l'université de Mostaganem pour l'aide pendant notre formation .

Enfin, nos remerciements s'adressent aussi à tous mes amis surtout **BOUHLIL.R** et toutes les personnes qui ont participé étroitement à l'avancée de notre étude expérimentale.



## Résumé

Cette étude consiste à suivre l'effet antimicrobienne de l'extrait à l'hexane aqueux des feuilles de *Rosmarinus officinalis* cultivé dans la région de « Naama » vis-à-vis des germes pathogènes de contamination (*Staphylococcus.aureus*, Flore aerobie mésophile totale, Coliformes fécaux, *Pseudomonas aerogénosa* et flore Psychrotrophes) de la viande ovine provenant de la région de Bogtob à EL Bayadh au cours de la conservation au froid à 4°C pendant 9 jours. L'extraction des composés bioactifs a été effectuée en utilisant un solvant aqueux (hexane). L'extrait obtenu après évaporation sous vide a été dilué à 20, 40, 60, 80 et 100%. Les mesures et contrôles ont été réalisés dans les échantillons de viande expérimentale en triples essais et ont concerné le dénombrement des germes (*Staphylococcus.aureus*, Flore aerobie mésophile totale, Coliformes fécaux, *Pseudomonas aerogénosa* et flore Psychrotrophes).

D'après les résultats obtenus dans ce travail, il apparait que l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* est réellement doté d'un puissant pouvoir antimicrobien et qu'il peut se substituer efficacement aux conservateurs de synthèse. L'extrait incorporé à l'état pur a réduit remarquablement le niveau de contamination de la viande aux germes étudiés et à préserver son état intact jusqu'au terme de la période expérimentale de 9 jours.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, composés bioactifs viande ovine, activité antimicrobienne, l'extraits à l'hexane, germes, contamination.

## Liste des figures

Figure 01. <i>Rosmarinus officinalis.L</i> .....	4
Figure02. Différentes étapes de la transformation du muscle en viande.....	12
Figure 03. Qualité de la viande.....	14
Figure 04. Aspect de <i>staphylococcus aureus</i> en microscope électronique (X20000).....	21
Figure 05.Aspect de <i>E.coli</i> en microscope électronique (X15000).....	22
Figure06. <i>Rosmarinus officinalis.L</i> .....	23
Figure 07.Feuilles de <i>Rosmarinus officinallis</i> après séchage.....	24
Figure 08. Diagramme d'extraction des composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	25
Figure 09. Extraction des polyphénoles, par macération.....	26
Figure 10. Rotavapor (évaporation du solvant sous vide).....	26
Figure 11. Traitement de la viande avec l'extrait de romarin.....	28
Figure12. Schéma représente la préparation des dilutions décimales.....	29
Figure 13. Méthode d'ensemencement des FTAM.....	31
Figure 14. Méthode d'ensemencement des <i>Coliformes fécaux</i> .....	32
Figure 15. Technique d'ensemencement de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
Figure 16. Technique d'ensemencement de <i>Flore psychrotrophes</i> .....	34
Figure 17. Méthode d'ensemencement de <i>Pseudomonas aerogénosa</i> .....	35
Figure 18. Méthode de recherche la présence ou l'absence d' <i>E. Coli</i> .....	36
Figure 19. Tests de confirmation de présence ou absence des <i>staphylococcus aureus</i> .....	37
Figure 20. Photo représente le test de coagulation.....	37

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification botanique de <i>R.officinalis</i>	<b>5</b>
<b>Tableau 2.</b> Composition biochimique moyenne la viande rouge	<b>11</b>
<b>Tableau 3.</b> Durée de maturation en fonction de la température de conservation	<b>13</b>
<b>Tableau 4.</b> Variations du niveau de contamination à la <i>flore aérobie mésophile totale</i> de la viande l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> au cours de la conservation au froid a 4°C	<b>39</b>
<b>Tableau 5.</b> Variations du niveau de contamination aux <i>coliformes fécaux</i> de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> au cours de la conservation au froid à 4°C	<b>40</b>
<b>Tableau 6.</b> Variations du niveau de contamination aux <i>psychrotrophes</i> de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> au cours de la conservation au froid a 4°C	<b>41</b>
<b>Tableau 7.</b> Variations du niveau de contamination aux <i>Pseudomonas aerogénosa</i> de la viande ovine t à l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> au cours de la conservation au froid à 4°C	<b>42</b>
<b>Tableau 8.</b> Variations du niveau de contamination aux <i>Staphylococcus aureus</i> de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> au cours de la conservation au froid à 4°C	<b>43</b>

# Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction .....	1
<b>Partie 1:Etude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I: <i>Rosmarinus officinalis.L</i></b>	
1-Introduction .....	3
-Plantes médicinales .....	3
3-Description botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	4
4-Classification botanique .....	4
5- Nomenclature de la plante :.....	5
6-Principes actifs de romarin : .....	5
7-Composition chimique .....	6
8-Domaine d'utilisation de <i>Rosamarinus officinalis</i> .....	6
8.1-Industrie agro-alimentaire .....	6
8.2-Industrie cosmétique et parfumerie .....	7
8.3- En thérapie.....	7
9- Métabolites secondaires .....	7
9-1.Définition .....	7
9-2.Classification et fonctions des métabolites secondaires.....	8
9.2.1- Composés phénoliques .....	8
9.2.1.1- Définition .....	8
9.2.1.2-Activités biologiques des polyphénols.....	8
<b>Chapitre II : Généralité sur la viande</b>	
Généralité sur la viande .....	9
1. Définitions de la viande .....	11
2. Caractéristiques biochimiques du muscle.....	11
3. Évolution de la viande après l'abattage .....	11
3-1.Etat vivant : .....	12

3-2. Etat pantelant : .....	12
3-3. Etat de rigor mortis (rigidité cadavérique) .....	12
3-4. Phase de la maturation.....	12
4. Notion de qualité de la viande .....	12
4-1. Qualité nutritionnelle.....	13
4-2. Qualité hygiénique .....	13
4-3. Qualités organoleptiques .....	14
4-3-1. Couleur.....	14
4-3-2. Flaveur .....	15
4-3-3. Jutosité .....	15
4-3-4. Tendreté : .....	15
4-4. Qualité technologique .....	15
5. Conservation de la viande.....	15
5-1. Introduction .....	16
5-2. Définition .....	16
5-3. Principales techniques de conservation.....	16
5-3-1. Réfrigération .....	16
5-3-2. fumage.....	16
5-3-3. Fermentation .....	16
5-3-4. La conservation par acidification lactique .....	17
5-3-5. La congélation.....	17

### **Chapitre III : Microbiologie de la viande**

1. Introduction .....	17
2. Facteurs de détérioration et d'intoxication .....	17
2-1. Activité de l'eau .....	18
2-2. Degré d'acidité .....	18
2-3. Température .....	19
2-4. potentiel d'oxydoréduction .....	19
3. Flore bactérienne de la viande .....	19
3-1. Flore aérobie mésophile aérobie total (FTAM).....	19
3-2. Coliformes thermo tolérants.....	19
3-3. Les bactéries psychrotrophes .....	20
3-4. Staphylococcus aureus : .....	20
3-5. Pseudomonas aerogénosa:.....	20
3-6. Escherichia coli.....	20

## partie 2: Méthodologie expérimentale

1-Objectif :.....	21
2-.Matériel végétal.....	21
2-1.Récolte de la plante : .....	22
2-2.Séchage de la plante : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2-3.Broyage de la plante séchée .....	23
3. Procédé d'extraction .....	23
4. Matériel biologique.....	23
4-1.Conservation et traitement de la viande .....	24
5. Analyse microbiologiques .....	27
5-1.Préparation de la suspension mère .....	27
5-2.Préparation des dilutions décimales .....	29
5-3.Méthodes de dénombrement des germes .....	29
5-3-1. <i>Flore mésophile aérobie totale</i> (FTAM) .....	29
5-3-2. <i>Coliformes fécaux</i> .....	30
5-3-3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5-3-4. <i>Flores psychrotrophes</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5-3-5.Dénombrement des <i>Pseudomonas</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5-4..Tests de confirmation .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5-4-1.Test de recherche d' <i>E. coli</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5-4-2.Test de la catalase .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5-4-3.Test de la coagulase .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
6-Traitement statistique .....	39

## Résultats et discussion

<b>1-Résultats</b> .....	40
1-1. <i>Flore totale aérobie mésophile</i> : .....	41
1-2. <i>Coliformes fécaux</i> .....	42
1.3 . <i>Germes psychrotrophes</i> .....	43
1-4. <i>Pseudomonas aerogénosa</i> .....	44
1-5. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45
<b>2-Discussion</b> .....	46
<b>Conclusion</b> .....	47
<b>Références bibliographiques</b> .....	48

## Annexes







### Introduction

La viande est par excellence, la première source de protéines animales, grâce à sa richesse en acides aminés indispensables. Sa richesse en protéines de haute valeur biologique fait d'elle un aliment indispensable pour une alimentation équilibrée. Cependant, ces mêmes raisons la rendent un terrain favorable à la prolifération des bactéries pathogènes qui sont susceptibles d'engendrer de néfastes conséquences sur sa qualité au cours de la conservation (Cottin et al., 1985).

L'utilisation de diverses méthodes de conservation de la viande et des produits carnés remonte à la préhistoire, ou salaison, dessiccation, suppression d'oxygène et addition d'additifs, étaient appliquées pour augmenter la durée de vie de ces aliments (Collin, 1972).

La conservation par l'emploi de la technique de réfrigération connaît un important essor. La réfrigération, qui est une conservation au froid des aliments périssables dont notamment la viande, a pour effet de diminution de l'activité des bactéries en retardant leur prolifération.

La préservation de la qualité des viandes contre la contamination microbienne est une opération nécessaire. Parmi les diverses solutions technologiques possibles pouvant améliorer la qualité de la viande, il convient de citer l'addition d'agents antimicrobiens naturels des plantes (Cheftelet et al., 1980). Parmi ces agents, sont cités souvent les extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) riches en antioxydants naturels. Il s'agit d'une plante largement utilisée dans les régimes alimentaires des populations méditerranéennes. Elle protège les qualités nutritionnelles des produits alimentaires et leur durée de conservation en retardant et/ou empêchant la prolifération des micro-organismes (Bensebia et al., 2009).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de l'extrait brut de l'extrait à l'hexane aqueux de romarin (*Rosmarinus officinalis*) incorporé dans la viande ovine au cours de la conservation au froid positif de 4°C sur la croissance des germes de contamination pour

d'éventuelles utilisations comme agent naturel de conservation en substitution aux additifs chimiques tels les nitrites et les nitrates à effets nefastes sur la santé.

Le manuscrit comporte trois parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui renferme trois chapitres. Le premier chapitre décrit les caractéristiques botaniques et chimiques de *Rosmarinus officinalis L* ; le second chapitre est consacré à des informations générales sur la viande ovine ; le dernier chapitre porte sur la microbiologie de la viande.
- La deuxième partie expérimentale rapporte la méthodologie d'étude et présente le matériel, ainsi que les méthodes appliquées à l'étude expérimental.
- La troisième partie comporte la discussion des résultats, achevée par une conclusion et des perspectives.

## Chapitre I : *Rosmarinus officinalis L*

### 1-Introduction

Les plantes médicinales ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir et se soigner (Mebarki, 2010.). Elles sont capables de produire des substances naturelles différentes. Ces plantes accumulent ces métabolites dits secondaires très recherchés et utilisés dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. (Haddouchi et Benmansour, 2008.)

Le genre *Rosmarinus* (famille des Lamiaceae) comprend trois espèces différentes (*Rosmarinus officinalis*, *Rosmarinus eryocalix* et *Rosmarinus tomentosus*) qui poussent à l'état sauvage, principalement dans la région ouest de la Méditerranée. Le romarin est utilisé depuis l'Antiquité à des fins médicinales, culinaires et ornementales. Une variabilité chimique importante a été décrite pour le profil volatil de l'huile essentielle de romarin, en fonction de l'origine de la plante, entre autres facteurs. En science alimentaire, le romarin est l'une des plantes les plus importantes en termes d'utilisation d'huiles essentielles en raison de ses propriétés antimicrobiennes, antimycosiques et anti oxydantes.

De nombreuses applications de romarin ont été décrites, telles que son utilisation en tant que conservateur alimentaire pour différentes matrices de viande (porc, bœuf, agneau et volaille), du poisson et des aliments transformés.

La famille des Lamiaceae, est l'une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels. Les espèces de cette famille sont réputées actives grâce aux composés bioactifs qu'elles contiennent (Kechar et al., 2016).

### 2-Plantes médicinales

Ces dernières années, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont suscité beaucoup d'intérêt dans le domaine thérapeutique. En effet, les substances naturelles extraites de ces plantes ont permis de grandes avancées en raison de leur valeur ajoutée dans la préparation de nombreux produits (Amarti et al., 2011). Par ailleurs le continent africain est doté de la plus riche biodiversité dans le monde, avec beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et à des fins thérapeutiques (Khia et al., 2014). Les Lamiaceae (Labiatae) comprennent environ 260 genres et 7000 espèces largement distribuées dans la région méditerranéenne (Mechergui et al., 2010). Le genre *Rosmarinus* est l'une des plantes

économiquement importantes de cette famille ; qu'est caractérisé par une vaste diversité morphologique et chimique (Bellumori et al., 2016).

### 3-Description botanique de *Rosmarinus officinalis*

Le *Rosmarinus* en latin signifie la rosée de la marine, *Officinalis* rappelle les propriétés médicinales de la plante, communément appelé romarin appartient à la famille des lamiacées ; c'est une plante très cultivé dans les régions méditerranéenne (Wollinger et al., 2016) et l'une des plantes les plus populaire en Algérie. Elle possède plus de 3300 espèce et environ 200 genres. qui possède les caractéristiques suivantes (Bellakhdar, 2006) :

- ❖ Le Romarin est un arbrisseau aromatique dont la tige pouvant atteindre 2 mètre, est couverte d'une écorce grisâtre. Elle se divise en nombreux rameaux opposés.
- ❖ Feuilles pouvant atteindre 3cm de long et 4mm de large, sont étroitement lancéolées, acaules et friables ; le bord est involuté vers le bas (rangée supérieure). Les jeunes feuilles sont pubescentes sur la face supérieure, alors que les plus âgées sont glabres. Elles sont ridées et striées.
- ❖ Fleurs sont bleues pâtes à bleues violacées, visibles de janvier en mai ; groupées en grappes axillaires et terminales dans la partie supérieure des rameaux.
- ❖ Le fruit ovoïde, est constitué par un calice persistant, sec, est constitué de quatre akènes de couleur brun.



Figure 01. *Rosmarinus officinalis*(Wikipidea,2016)

### 4-Classification botanique

La classification de l'espèce *Rosmarinus officinalis* selon (Gaussen et al., 1982), est comme suit (Tableau 1) .

**Tableau 1.** Classification botanique de *Rosmarinus officinalis*

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae, labiées
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>

(Gaussen et al ., 1982)

## 5- Nomenclature de la plante :

Le Romarin est connu sous plusieurs appellations

\***Noms français** : Romarin, Encensier, Herbe aux couronnes, Herbe de troubadours

\***Noms locaux(ou vernaculaires arabes)** : Iklil aljabal, Hasta louban, Hassalban et klil

\***Noms targui(ou berbères)** : Lazir, Azir, Ouzbir et Touzala

\***Nom anglais** : Rosemary

\***Nom scientifique** : *Rosmarinus officinalis* L

## 6-Principes actifs de romarin :

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont en particulier :

• **Les acides phénoliques dont** : l'acide rosmarinique, l'acide sulfrique, l'acide vanillique , l'acide caféique et l'acide p-coumarique(Ibañez et al., 2003).

• **Les flavonoïdes dont** : la genkwanine, la cirsimaritine , l'ériocitrine, l'hespéridine, la diosmine, la lutéoline(Okamura,1994) et l'apigénine.(Wang et al .,2008).

## 7-Composition chimique

*Rosmarinus officinalis*, très utilisé depuis plusieurs siècles, a suscité la curiosité de nombreux chimistes. Ainsi, nous en connaissons actuellement assez précisément sa composition chimique

La littérature est particulièrement riche sur les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, elle en posséderait un rendement de 1 à 2.5%.

En plus de l'huile essentielle, il est retrouvé 2 à 4% de dérivés tritérpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol, des lactones diterpéniques : picroslavine, dérivés de l'acide carnosolique, rosmanol, rosmadial, des acides phénoliques, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organique : l'acide citrique, glycolique et glycérique, des stérols, de choline, du mucilage et de résine (Bellakhdar,1997).

**Gonzalez trujano et ses collaborateurs en 2007** ont démontré d'après un criblage phytochimique la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponines et l'absence des alcaloïdes.

Concernant les éléments minéraux, la spectrométrie d'émission atomique a pu identifier 18 éléments : Al :146.48mg /kg ; Ca :7791.80mg /kg ; Fe :330.16mg/kg ; K :14916.23mg/kg ; Mg :1634.55mg/kg ;Na :2711.87mg/kg ;P :1474.60mg/kg ;Cr :97.36mg/kg et Sr :74.65mg/kg (Arslan et al.,2007).

## 8-Domaine d'utilisation de *Rosmarinus officinalis*

### 8.1-Industrie agro-alimentaire

Les extraits végétaux de Romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques ;cette propriété est due aux acides polyphénoliques ( rosmarinique et caféïque) (Zoubeidi ,2004).

#### ✓ Alimentation

L'épice et l'huile de romarin sont largement utilisés en alimentation . L'épice est utilisée dans les boissons alcoolisées, les aliments cuits, viandes et produits de viande, les aliments industriels....L'huile est utilisée dans les boissons alcoolisées et non, les desserts glacés et la confiserie (Berry et al ., 2004).

Il existe du miel spécialement produit à partir du nectar des fleurs de romarin. Ce miel très parfumé est appelé "Miel de Narbonne" ou miel de romarin (Bonnf,1934).

## 8.2-Industrie cosmétique et parfumerie

Le romarin entre dans la composition de nombreux parfums (savonnerie, détergents, crèmes et la plupart des eau de Cologne (**Reetz et Helbig , 1994**).

## 8.3- En thérapie

La tisane de romarin était employée en médecine pour stimuler le cœur, soulager les maux de tête, faculté le sommeil et traiter toute une gamme de maux dont l'asthme, la bronchite, la fièvre (**Small et Deutsch, 2001**)

Les feuilles de *R.officinalis* sont utilisées contre le diabète et contre les douleurs d'estomac (**Ghourri et al., 2013**)

Les diterpènes phénoliques présentant dans le Romarin tel que l'acide carnosique et le carnosol ont des effets d'inhibition contre certains cancers ( **Kanel et al.,2006**).

Les feuilles, en infusion ou en décoction, sont utilisées contre les douleurs d'estomac. En usage externe, les feuilles fraîches et les compresses de la décoction concentrée sont appliquées comme vulnéraire et résolutif des contusions, des plaies et des abcès (**Lahsissene et al., 2009**).

## 9- Métabolites secondaires

### 9-1.Définition

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme étant des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (protéines, lipides et glucides). Ces métabolites secondaires interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins); mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (**Mansour, 2009**). Ils participent ainsi, d'une manière très efficace, dans la tolérance des végétaux à des stress variés : action anti-herbivore (menthe par exemple), inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et la lumière UV (**Sandrin, 2004**). D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales (**Mansour, 2009**).

## 9-2. Classification et fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures. Ces métabolites secondaires sont répartis en trois grandes familles chimiques, chacune renferme une très grande diversité biologique (Bruneton, 2009):

- les composés phénoliques
- les alcaloïdes (les composés azotés)
- les terpénoïdes et les huiles essentielles.

### 9.2.1- Composés phénoliques

#### 9.2.1.1- Définition

Les polyphénols constituent un groupe largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante (Urquiaga et Leighton, 2000), ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales, la voie de shikimate et d'acétate (Hopkins, 2003). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 2009). La structure de ces composés varie, des molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules hautement polymérisées (tanins condensés). Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...), certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence. Selon (Hopkins, 2003) : les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

• **Acides phénoliques** : les acides phénoliques sont composés de deux sous-groupes : les acides hydrobenzoïques et hydrocinnamiques. Les acides hydrobenzoïques présentent une structure C6-C1. A titre d'exemple, l'acide gallique, p-hydrobenzoïque et salicylique peuvent être cités. Les acides hydroxycinnamiques portent une chaîne latérale plus longue (C6-C3).

Les acides caféïque, férulique, p-coumarique et sinapique sont des acides hydroxycinnamiques (**Balasundram et al ., 2006**).

• **Flavonoïdes** : Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (**Lhuillier, 2007**).

• **Tanins** : Les tanins sont des composés de poids moléculaires plus élevés (**Balasundram et al., 2006**) .Ils sont séparés en deux grands groupes selon leur composition et leur réactivité chimique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Macheix et al., 2005**). Ils sont responsables de l'astringence de nombreux fruits (**Balasundram et al., 2006**).

• **Stilbènes**: Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Crozier et al ., 2006**).

• **Lignanes**: Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante dix familles.

• **Coumarines** : Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des -pyrone (**O'Kennedy et Thornes, 1997**) et toutes sont des composés connus par des benzo-substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**Cowan, 1999**).

### 9.2.1.2-Activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques et interviennent dans la qualité alimentaire, des aliments lors de la maturation. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la

teneur en composés phénoliques(**Bahorun, 1997**).Ces composés ont aussi des activités anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux(**Babar et al, 2007**), anti-allergènes, vasodilatateurs (**Falleh et al., 2008**) et antioxydants (**Gomez et al., 2006**).

## Chapitre II : Généralité sur la viande

### Généralité sur la viande

#### 1. Définitions de la viande

Selon l'organisation mondiale de la santé animale, la viande désigne l'ensemble des parties comestibles d'un animal et considère le mot « animal », dans ce contexte sont incluses la chair de tout les mammifères (Ovin, bovin, caprin, camelin ...) et des oiseaux (poulet, dinde, pintade ...). (Fosse, 2003 et El Rammouz, 2008).

La viande est la chair des animaux utilisée pour l'alimentation humaine. Elle est essentiellement constituée par les muscles striés après leur évolution post mortem, qui se mangent après cuisson (Benaissa et al., 2011).

#### 2. Caractéristiques biochimiques du muscle

La composition du muscle est variée entre les animaux et chez un même animal d'un muscle à l'autre. Mais il y a une composition moyenne qui est retenue indiquée dans le tableau suivant (Coibion, 2008). (Tableau 02)

**Tableau 2.** Composition biochimique moyenne la viande rouge (Coibion, 2008)

Composants	Moyenne(%)
Eau	75
Protéines	15.5
Lipides	03
Substances azotiques	1.5
Non azotiques	01
Glucides	01

Les apports nutritionnels de la viande peuvent varier selon l'espèce, l'alimentation de l'animal et la pièce considérée. (Bauchartetal., 2008)

### 3. Évolution de la viande après l'abattage

Après l'abattage, le muscle est souple et est immédiatement le siège de plusieurs réactions biochimiques. On considère généralement que la transformation de ces muscles en viandes se fait en 3 phases successives, l'état pantelant, la rigidité cadavérique et la maturation (figure 01).

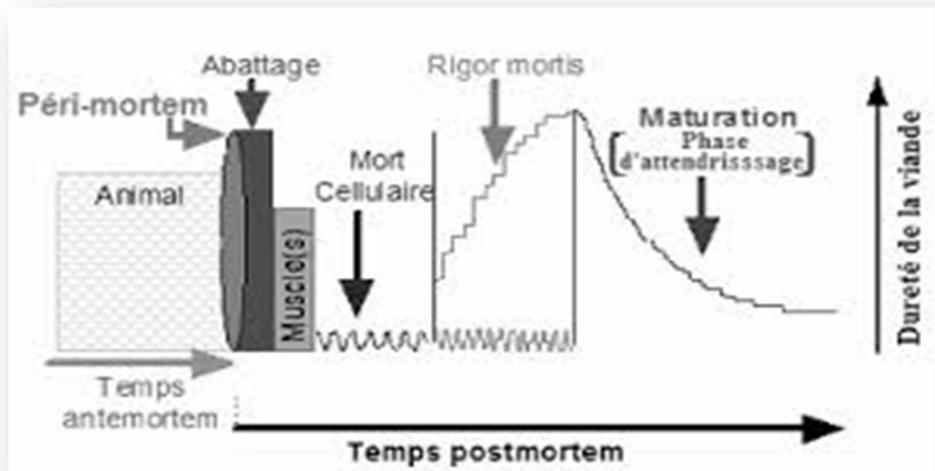


Figure02. Différentes étapes de la transformation du muscle en viande (Ouali et al., 2006).

#### 3-1. Etat vivant :

A l'état vivant le muscle correspond à un terme anatomique définissant une partie précise d'un organisme. Il est composé de cellules très différenciées, son pH est voisin de 7 et plus la fibre musculaire contient de l'eau liée aux protéines plus elle est gonflée (Coibion, 2008)

#### 3-2. Etat pantelant :

Après l'abattage, la musculature demeure excitable pendant une courte durée correspondant à la durée de survie du système nerveux après la mort. Cette phase d'excitabilité est désignée sous le terme d'état pantelant. Pendant cette phase, le muscle réagit à toute agression extérieure par des réactions dues à des excitations nerveuses. La durée de cette phase n'excède pas 20 à 30 minutes (Harkati, (2007).

#### 3-3. Etat de rigor mortis (rigidité cadavérique) :

La phase de la rigidité cadavérique est comprise entre les 10 et 48 heures qui suivent la saignée. Le muscle devient progressivement raide et inextensible. La rigidité cadavérique est le résultat de la liaison irréversible entre la myosine et l'actine, avec la diminution de la

teneur en ATP car la vitesse de sa production devient inférieure à celle de son hydrolyse due au manque d'oxygène au niveau du muscle provoqué par l'arrêt de la circulation sanguine (Coibion , 2008).

### 3-4.Phase de la maturation

La phase de maturation est de loin la plus importante puisqu'elle conduit à une augmentation de la tendreté de la viande. En effet, cette phase commence dès la mort de l'animal mais elle n'est décelable qu'après la rigor. Elle affecte principalement les protéines (Ouali, 1991)

Après la phase de rigor mortis, la viande commence à s'attendrir sous l'effet de la maturation. Il s'agit d'un phénomène naturel qui résulte du relâchement des liens entre les fibres musculaires, établis lors de la rigor mortis. Ce relâchement se fait grâce à l'action de diverses protéases. Au cours de la maturation, seuls les protéines et les lipides de la viande sont transformés. Le collagène n'est pas modifié Harkati., (2007). La durée de maturation dépend de la température de conservation. (Tableau 3).

**Tableau 3.** Durée de maturation en fonction de la température de conservation (Staron, 1982; et al., 1997).

Température de conservation	Durée de maturation
à +2°C	après 3 semaines
à 6 °C	1 semaine
à 15 °C	2 jours
à la chambre froide	3 Semaines

### 4. Notion de qualité de la viande

La qualité peut être également définie comme l'ensemble des propriétés et des caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire les besoins exprimés ou implicites (ISO, 1994). En autre terme, la qualité de la viande est l'ensemble des caractéristiques que lui confèrent ses propriétés organoleptiques technologiques et nutritionnelles. Elle a une notion complexe, très variable selon les consommateurs et évolue dans le temps. (Verbeke et al., 2010).

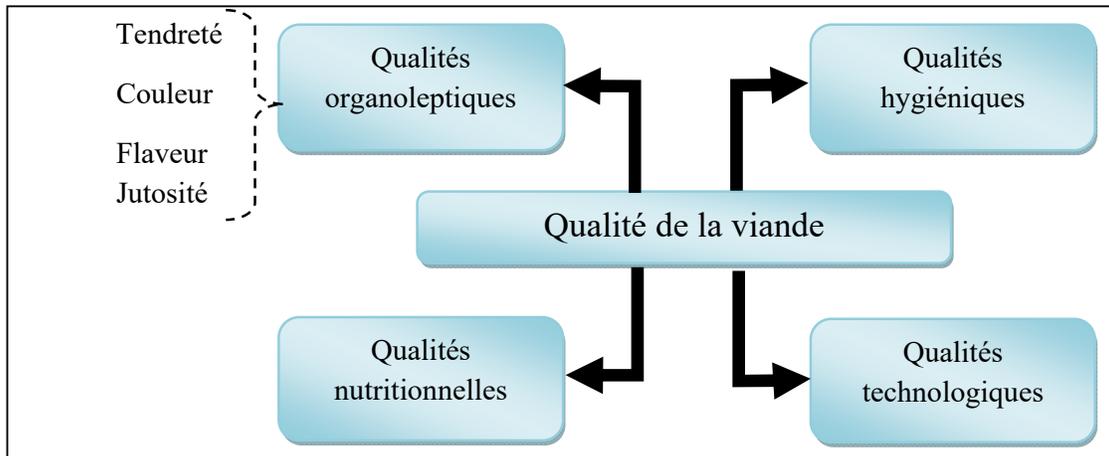


Figure 03. Qualité de la viande

#### 4-1. Qualité nutritionnelle

La première fonction d'un aliment est de nourrir le consommateur. La viande est une source alimentaire de protéines de grande qualité bien adaptée à leurs besoins, Les valeurs extrêmes de teneurs protéiques des viandes de boucherie, quelle que soit l'espèce et l'âge, se situe entre 16 et 21%, le pourcentage de protéique varie avec l'âge et l'engraissement de l'animal, mais aussi très fortement avec la position anatomique du morceau sur l'animal. (Virling, 2003).

Autre grand intérêt nutritionnel, tels les minéraux de type fer héminique, zinc et sélénium et des vitamines hydrosolubles surtout le groupe B (Thiamine B1, Riboflavine B2, et surtout B12).les viandes sont pauvre en vitamine C ; celles qui ont une teneur élevée en gras sont riches en vitamines liposolubles (Mansour, 1996).

Les dépôts de fer héminique et de vitamines B varient avec le type métabolique de fibres musculaires, alors que celui des lipides (notamment de triglycérides) varie avec la localisation anatomique des muscles. et fonction de l'espèce, de l'alimentation et l'animal et du parage du morceau. (Gandemer et al.,2008).

#### 4-2. Qualité hygiénique

L'aliment doit préserver la santé du consommateur, donc il ne doit présenter aucun résidu toxique, ni être le siège d'un développement bactérien susceptible de produire des éléments nocifs. Cette exigence est bien évidemment reconnue par la législation, et ne peuvent être mis sur le marché que des aliments ne présentant aucun risque pour la santé (Touraille1994).

Une contamination initiale aussi faible que possible, un respect rigoureux des règles d'hygiène et une application continue du froid assure une bonne consommation du point de vue sanitaire (**Vierling, 2003**).

La contamination post mortem résulte généralement du contact avec des mains, des vêtements, des matériels ou des installations sales (**FAO, 1994**).

### **4-3. Qualités organoleptiques**

Les qualités organoleptiques des viandes rassemblent les propriétés sensorielles à l'origine des sensations de plaisir associées à leur consommation (**Clinquart et al., 2000; Cartier & Moëvi, 2007**). Les principales caractéristiques sensorielles de la viande sont: la couleur, la tendreté, la jutosité et la saveur (**Grunert et al., 2004**).

#### **4-3-1. Couleur :**

La couleur est la première caractéristique perçue par le consommateur. C'est souvent la seule dont il dispose pour choisir la viande au moment de l'achat. Car la couleur de la viande influence les décisions d'achat plus que tout autre facteur de qualité. De plus, les consommateurs utilisent à tort ou à raison la décoloration comme un indicateur de la nature et de la détérioration éventuelle de la qualité du produit (**Smith et al., 2000**). Cette couleur est aussi dépendante de la proportion de fibres musculaires de type oxydatif qui est supérieure à celle des viandes blanches (**Istrat et al., 2015**).

#### **4-3-2. Saveur :**

La saveur de la viande est le résultat complexe des sensations olfactives et gustatives. Elle représente ce qui est perçu par le nez interne (arômes), la langue et les muqueuses buccales qui elles mêmes détectent les saveurs. La perception de l'odeur, est produite par des composés chimiques volatils de faible poids moléculaire. Le goût est généralement sollicité par des substances solubles dans l'eau et d'un poids moléculaire plus élevé. La viande crue a une saveur peu prononcée (**Micol et al., 2010**).

#### **4-3-3. Jutosité :**

La jutosité, appelée aussi succulence se présente sous deux aspects : la jutosité initiale, perçue au premier coup de dent, elle est surtout liée à la quantité d'eau présente et libérée lors de la mastication, la seconde est en relation avec la teneur en lipides de la viande, qui induit une plus ou moins grande salivation. Elle représente le caractère plus ou moins sec de la viande au cours de la consommation (**Micolet et al., 2010**).

#### **4-3-4.Tendreté :**

La tendreté est la qualité sensorielle la plus déterminante pour le consommateur de viande (**Grunert et al., 2004 ; Normande et al., 2014**). Elle est d'origine multifactorielle, et donc très difficile à maîtriser ou à prédire. (**Micol et al., 2010**). Par rapport aux autres espèces, la durée de maturation qui est plus longue en raison de la composition en fibres musculaires, joue un rôle important dans la tendreté. De nombreuses recherches ont déjà été conduites afin d'expliquer cette variabilité, toutefois pour un muscle donne les caractéristiques biologique étudiées jusqu'à présent expliquent au maximum 30% de la variabilité de la tendreté de la viande ovine (**Renande et al., 2001**).

#### **4-4.Qualité technologique**

La qualité technologique de la viande correspond à ses aptitudes à subir une transformation. La qualité de la matière première doit être définie par rapport à l'utilisation envisagée. Le pouvoir de rétention en eau de la viande fraîche est la capacité des 20 % de protéines musculaires à retenir les 75 % d'eau présents ; c'est une caractéristique essentielle pour la fabrication de viande cuite. Il est fortement influencé par la vitesse de chute du pH post mortem ; une chute trop rapide du pH combinée à une température élevée provoque la dénaturation des protéines, conduisant à une réduction du pouvoir de rétention. Cela, entraîne une diminution du rendement de fabrication de viande cuite (**Chougui , 2015**).

### **5. Conservation de la viande**

#### **5-1.Introduction**

Les méthodes utilisées dans la conservation des aliments ont pour objectif d'allonger la durée de vie de ces produits. Il y a plusieurs méthodes de conservation: le séchage, la salaison, la réfrigération, la congélation, la pasteurisation, la stérilisation. Tous ces traitements ont pour objectif d'arrêter ou d'inhiber la croissance des microorganismes (**Bourgeois ; et Leveau ,1991**).

#### **5-2.Définition**

La conservation de la viande consiste à maintenir sa qualité microbiologique en ralentissant la vitesse de prolifération des microorganismes et garder ses propriétés organoleptiques et nutritionnelles en éliminant les mécanismes d'altération intrinsèques et extrinsèques. La bonne conservation d'un aliment résulte d'une optimisation réussit entre différents

paramètres tel que l'allongement de DLC des viandes fraîches selon des conditions de stockage et la qualité de l'aliment (**Durand D et al., 2006**).

### **5-3.Principales techniques de conservation**

#### **5-3-1. Réfrigération**

La réfrigération consiste à entreposer les aliments à des températures basses proches du point de congélation de l'eau mais toujours positives. En général, cette température se situe aux alentours de 0°C à 4°C. Elle tend à conserver les aliments dans un état très voisin de leur état initial en ralentissant les réactions chimiques et enzymatiques et en retardant la multiplication des microorganismes. Elle retarde la prolifération microbienne ; mais ne détruit qu'un nombre limité de germes. L'abaissement de la température de la viande est nécessaire pour éviter la putréfaction qui se développe très rapidement (en moins d'un jour) sur des carcasses fraîchement abattues et conservées à température ambiante. Cet abaissement assure aussi une sécurité vis-vis des germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires. (**Boumendjel, 2005**)

#### **5-3-2. fumage**

Le fumage ou fumaison consiste à soumettre la viande à l'action directe ou indirecte de la fumée issue de la combustion de certains végétaux ou bois. Ce procédé est donner un effet sec à la viande, un goût désirable, une odeur agréable et permettait de conserver la viande (**Kalilou et Zakhia, 1999**). Le fumage de la viande est un procédé utilisé comme méthode de conservation. Il permet en effet de prolonger sa durée de vie, grâce à la présence de certains composants antimicrobiens dans la fumée qui inhibent la croissance de nombreux microorganismes (**EssiaNgang et al., 2010**). Le fumage améliore la couleur (dû à la présence des carbonyles et amines), la flaveur (phénols) et procure des propriétés anti-oxydantes et anti-microbiennes au produit (dû à la présence des phénols et acides) (**Ismail et Swan, 2000**)

#### **5-3-3.Fermentation**

La fermentation est l'une des technologies les plus anciennes utilisées pour la conservation des aliments. Les viandes fermentées peuvent être classées en deux catégories selon leur degré de séchage et leur pH final : les viandes fermentées demi- séchées (fermentation rapide, températures relativement élevées, une HR d'environ 90 %, et un pH final de 4,7) ou séchées (une fermentation lente de plusieurs jours à des températures relativement élevée. L'activité de l'eau ( $A_w$ ) du produit passe initialement de 0,96 à 0,51 en fin du séchage. (**Vignolo et al., 2010**). Quels que soient les produits, il se déroule une fermentation naturelle due au

développement d'une flore microbienne qui est fonction de la contamination initiale et des conditions de préparation (Öksüztepe et al., 2006).

#### **5-3-4. La conservation par acidification lactique**

Le pH est un paramètre très important dans la conservation de la viande, car à des valeurs données, certaines bactéries peuvent voir leur croissance très ralentie voir même inhibée. La diminution du pH ralentit la multiplication d'une grande partie de la flore de contamination de la viande (Beaubois, 2001; Cuq, 2007). Les levures et moisissures sont beaucoup plus tolérantes que les bactéries à des pH bas. Leur croissance optimale se situe entre 5 et 6. Cependant, certaines d'entre elles peuvent se multiplier à pH 3 et d'autre à pH 8 (Fournier, 2003).

#### **5-3-5. La congélation**

Une grande quantité d'eau contenue dans la viande fraîche est transformée en glace par le processus rapide de congélation (Dave et Ghaly, 2011). Le taux de congélation augmente avec la diminution de la température (Rosmini et al., 2004). La vitesse de congélation (lente et rapide) affecte la qualité de la viande de manière significative. Pendant la congélation lente, la formation de gros cristaux de glace endommage les cellules et entraîne une dénaturation des protéines, c'est pourquoi la qualité de la viande congelée rapidement est meilleure (Rahman, 1999). Les caractéristiques de la viande fraîche sont conservées par cette méthode (Dave et Ghaly, 2011), la durée de conservation est prolongée, la croissance microbienne et les phénomènes chimiques sont inhibés (Lawrie et Ledward, 2006). En effet, le développement microbien s'arrête à -12°C, et l'inhibition totale du métabolisme cellulaire a lieu en dessous de -18°C (Perez et Mateo, 2004).

## Chapitre III : Microbiologie de la viande

### 1. Introduction

La viande est considérée comme un aliment de choix en raison de sa valeur nutritive. Sa richesse en protéines et la nature de celles-ci en font un aliment indispensable pour une ration alimentaire équilibrée. Toutefois, la viande est aussi un substrat favorable au développement des micro-organismes, essentiellement des bactéries protéolytiques qui entraînent des modifications néfastes sur l'odeur, la couleur, la texture et éventuellement des germes pathogènes qui produisent des substances toxiques (Guiraud et al., 2003).

### 2. Facteurs de détérioration et d'intoxication

Les bactéries ne peuvent provoquer la détérioration des produits que si elles se développent après la contamination. Les facteurs ci-dessous jouent un rôle dans le développement des bactéries et la rapidité de la détérioration (Bigitte, 2005).

#### 2-1. Activité de l'eau

L'activité de l'eau mesure la disponibilité en eau du milieu dans lequel se trouve la microflore. D'une manière générale, plus l' $a_w$  du milieu est élevée, c'est-à-dire proche de 1, plus le développement de la microflore est intense. L' $a_w$  de la viande fraîche est de l'ordre de 0.993; elle est donc favorable à la multiplication de toutes les espèces microbiennes (James et James, 2000).

#### 2-2. Degré d'acidité

Le degré d'acidité d'un produit est exprimé par le pH. Les bactéries se développent seulement dans un pH situé entre 4,5 et 8-9. Elles se développent le mieux dans un pH de 6,5-7,5. La viande a un pH neutre (7) et par conséquent, elle constitue une denrée très périssable (Bigitte, 2005).

#### 2-3. Température

Le facteur le plus important qui régit la croissance microbienne est la température. De façon générale, plus la température est grande, plus le taux de croissance est élevé. Beaucoup de micro-organismes de la viande se développent dans une certaine mesure à toutes les températures, de

moins de 0 à 65 °C. Les Psychrophiles (psychrotrophes) ont une température optimale entre -2 et 7 °C, les mésophiles entre 10 et 40 °C et les thermophiles de 43 à 66 °C (Lawire et al., 2006).

## **2-4. potentiel d'oxydoréduction**

Après la mort, le muscle ayant des réserves en oxygène, présente un potentiel d'oxydoréduction profond, élevé et positif ; ce qui est favorable à la multiplication des germes aérobies. Ensuite, les réserves en oxygène n'étant plus renouvelées par le sang, le rH profond diminue très rapidement, devient négatif. Les conditions réductrices ainsi créées dans la profondeur de la viande sont propices au développement des germes anaérobies de la putréfaction (James et James, 2000).

## **3. Flore bactérienne de la viande**

La microflore de contamination des viandes et des produits à base de viande comprend essentiellement les germes saprophytes et les flores pathogènes responsable des maladies et des intoxications alimentaires (Fournaud, 1982).

### ***3-1. Flore aérobie mésophile aérobie total (FTAM)***

La *flore aérobie mésophile* regroupe des microorganismes formant des colonies dénombrables après leur multiplication dans des conditions de laboratoire définies (Bonney et al., 2002)

Il s'agit des germes aérobies pouvant se multiplier dans des conditions ambiantes à 30 °C et ne constituant pas une famille bactérienne particulière. Cette flore regroupe des enterobacteriaceae, de Bacillus, de *staphylocoques*, de *Pseudomonas*, des bactéries lactiques ou d'autres agents éventuellement pathogènes. Leur présence au delà des limites définies peut signifier un défaut d'hygiène des procédés de fabrication. Leur forte charge dans l'aliment peut également être due à une conservation à des températures trop élevées, sauf lorsqu'il s'agit de bactéries *psychrotrophes* (par exemple les bactéries lactiques, *Pseudomonas*, *Listeria*, *Yersinia*) (Ghafir et Daube, 2007)

### ***3-2. Coliformes thermo tolérants***

Les *coliformes thermo tolérants* (fécaux) renferme toutes les espèces bactériennes faisant partie de la famille des Enterobacteriaceae qui sont aérobies ou anaérobies facultatives, à Gram négatif, a sporulées, en forme de bâtonnet et produisant des colonies bleues en moins de 24 heures à 44,5°C sur une gélose m-FC contenant du lactose. Les *coliformes thermo tolérants* doivent également produire une réaction positive à l'épreuve de l'enzyme  $\beta$ -galactosidase et une réaction négative à

l'épreuve de la cytochrome-oxydase. Les *coliformes thermo tolérants* sont des micro-organismes indicateurs d'une pollution d'origine fécale humaine ou animale. Ils sont généralement en nombre inférieur aux *coliformes totaux* et indiquent qu'il y a contamination récente ou constante (Bourgeois 1991).

### 3-3. Bactéries psychrotrophes

Les bactéries *psychrotrophes* sont définies par leur aptitude à se développer à des températures inférieures à +7°C et caractérisées par une croissance permettant la production de colonies sur gélose à 7°C en 10 jours. ( Branger, et al,2007).ce sont des agents de toxi-infections alimentaires ou d'altération de la qualité marchande des denrées, elles constituent un facteur limitant de la conservation des produits réfrigérés. La maîtrise de ce type de flore passe principalement par une amélioration des performances des moyens frigorifiques, permettant de garantir une réfrigération des denrées entre 0°C et +2°C, ainsi que par une validation de la durée de vie des produits alimentaires sur la base d'études scientifiques adaptées. (G. Bornert, 2000).

### 3-4. *Staphylococcus aureus* :

*Staphylococcus aureus* est un germe de la famille des *Micrococcaceae*. Il s'agit de cocci à coloration de Gram positive, mesurant 0,5 à 1 µm de diamètre souvent disposés en grappe, non sporulés, coagulase positive. Cette espèce fait partie des bactéries aéro-anaérobies facultatives, mais préférant le métabolisme aérobie. C'est un germe mésophile, capable de se multiplier entre 4 °C et 46 °C, de manière optimale à 37 °C, pour un pH allant de 5 à 9, avec un optimum de 7,2 à 7,6 et un aw de 0,86 en aérobiose et 0,90 en anaérobiose. C'est un germe halophile et xérophile car il se développe même en présence de sel et du sucre et survit dans les aliments déshydratés : sa croissance est possible jusqu'à une concentration de 18 % en sel en aérobiose ( Bailly et al., 2012 ).

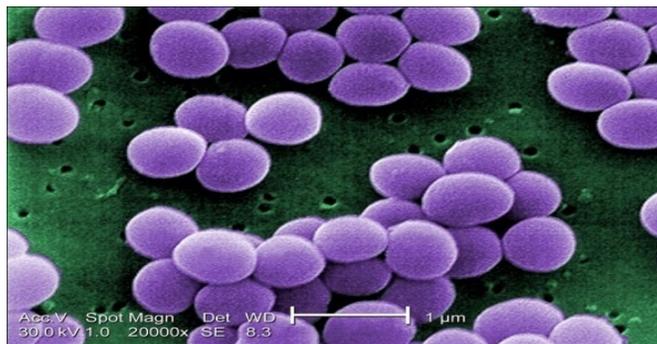


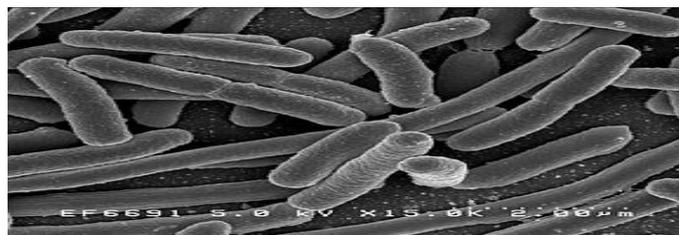
Figure 04. Aspect de *Staphylococcus aureus* en microscope électronique (X20000)

### 3-5. *Pseudomonas aerogénosa*:

Le genre *Pseudomonas* est constitué de bacilles Gram négatifs, droits ou légèrement incurvés, ayant une taille de 0,5 à 1,0  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1,5 à 5,0  $\mu\text{m}$  de longueur, aérobies stricts, oxydase positifs, non sporulés et généralement mobiles grâce à une ciliature polaire. La plupart des espèces sont *psychrotrophes*. Leur croissance est possible entre 4 °C et 43 °C (Euzéby, 2007). Les *Pseudomonas* sont ubiquistes et peuvent vivre dans des niches écologiques très diverses. Peu virulentes, plusieurs souches sont des pathogènes opportunistes pour l'homme et des agents d'altération des viandes, poissons et produits laitiers. Les espèces les plus fréquemment rencontrées chez l'homme sont *Pseudomonas aerogénosa*, *P. fluorescens*. (Euzéby, 2007). Leur présence au niveau des chaînes d'abattage et en particulier dans les chambres froides constitue une source permanente de contamination des viandes. *Pseudomonas* est principalement utilisé comme indicateur d'altération des viandes fraîches et du lait (Bailly et al., 2012).

### 3-6. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* fait partie de la famille des Enterobacteriaceae. Il s'agit de courts bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches, Gram négatifs, anaérobies facultatifs, non sporulés, oxydase négative, mesurant de 2 à 4  $\mu\text{m}$  de long et d'un diamètre d'environ 0,6  $\mu\text{m}$ . Ils sont capables de fermenter plusieurs sucres, mais leur fermentation du lactose avec production de gaz est caractéristique. La présence de *E.coli* dans les aliments et l'eau est considérée comme une indication de contamination fécale et, dès lors, l'indication d'une possible présence de microorganismes pathogènes d'origine fécale. La contamination a lieu le plus souvent lors de la production et de la transformation d'aliments crus d'origine animale, ou indirectement, via la contamination par de l'eau contaminée (Eslava et al., 2003).



<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:EscherichiaColi=fr>

**Figure 05.** Aspect de *E.coli* en microscope électronique (X15000)



### 1-Objectif :

L'objectif principal de ce présent travail consiste donc à étudier l'effet de l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* sur la qualité microbiologique de la viande ovine au cours de la conservation au froid à 4°C.

### 2-1.Matériel végétal

#### 2-1.Récolte de la plante :

La présente étude est portée sur l'espèce végétale appartenant à la famille des labiées qui est le Romarin (*R.officinalis*). La plante a été récoltée au cours du mois du mars 2019 au niveau du Djebel Morghad situé à Ain Sefra au sud- Ouest Algérie (**Figure06**)



**Figure06.** *Rosmarinus officinalis.L*

#### 2-2.Séchage de la plante :

Les feuilles de la plante fraîchement récoltées sont lavées à l'eau courante afin de les débarrasser de la poussière et d'autres particules, ensuite séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière(**Figure07**)



**Figure 07.** Feuilles de *Rosmarinus officinalis* après séchage

### **2-3. Broyage de la plante séchée :**

Le matériel végétal séché a été ensuite broyé à l'aide d'un broyeur électrique en une poudre fine pour obtenir une structure granulaire, puis il est conservé dans des flacons en verre en vue d'analyse et d'usages ultérieurs.

### **3. Procédé d'extraction :**

Le protocole d'obtention de l'extrait brut de romarin est présenté dans le diagramme illustré dans la (Figure 8)

Dans la présente étude, la méthode d'extraction utilisée est celle dite par macération, en utilisant l'hexane comme solvant. Elle a été effectuée séparément sur des prises d'échantillons de matière végétale broyée de 10 g. L'échantillon de broyat de matière végétale a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, hexane / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de mélange a été laissée agiter pendant 6 heures à température ambiante. La durée de l'extraction à froid a favorisé ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et a permis une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

L'extrait à l'hexane, a été filtré ensuite en utilisant un verre filtre et débarrassés des solvants par évaporation sous vide à 45 °C.

L'extrait pur récupéré sera enfin dilué à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0%, 20%, 40%, 60%, 80% et 100%, respectivement.

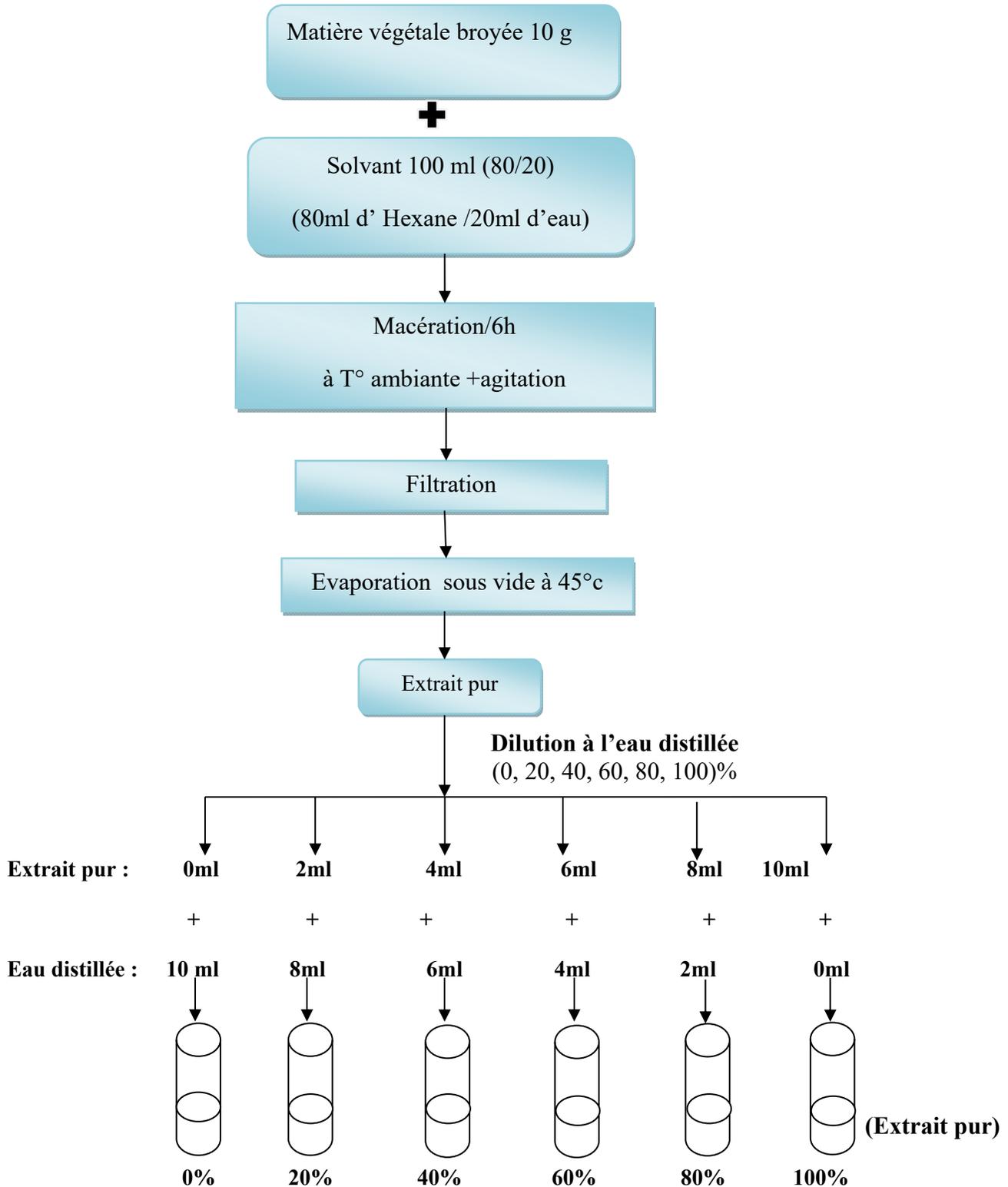


Figure 8. Diagramme d'extraction des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* (Sultana et al., 2009)



**Figure 09.** Extraction des polyphénols Par macération



**Figure 10.** Rotavapor (évaporation du solvant sous vide)

### 4. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est représenté par la viande ovine de race ouled djellal issue de la région de Bogtob à El Bayadh-Algérie. Les échantillons ont été prélevés du même compartiment de la carcasse à savoir le gigot après un ressuyage de 18 heures à 4°C.

#### 4-1. Conservation et traitement de la viande

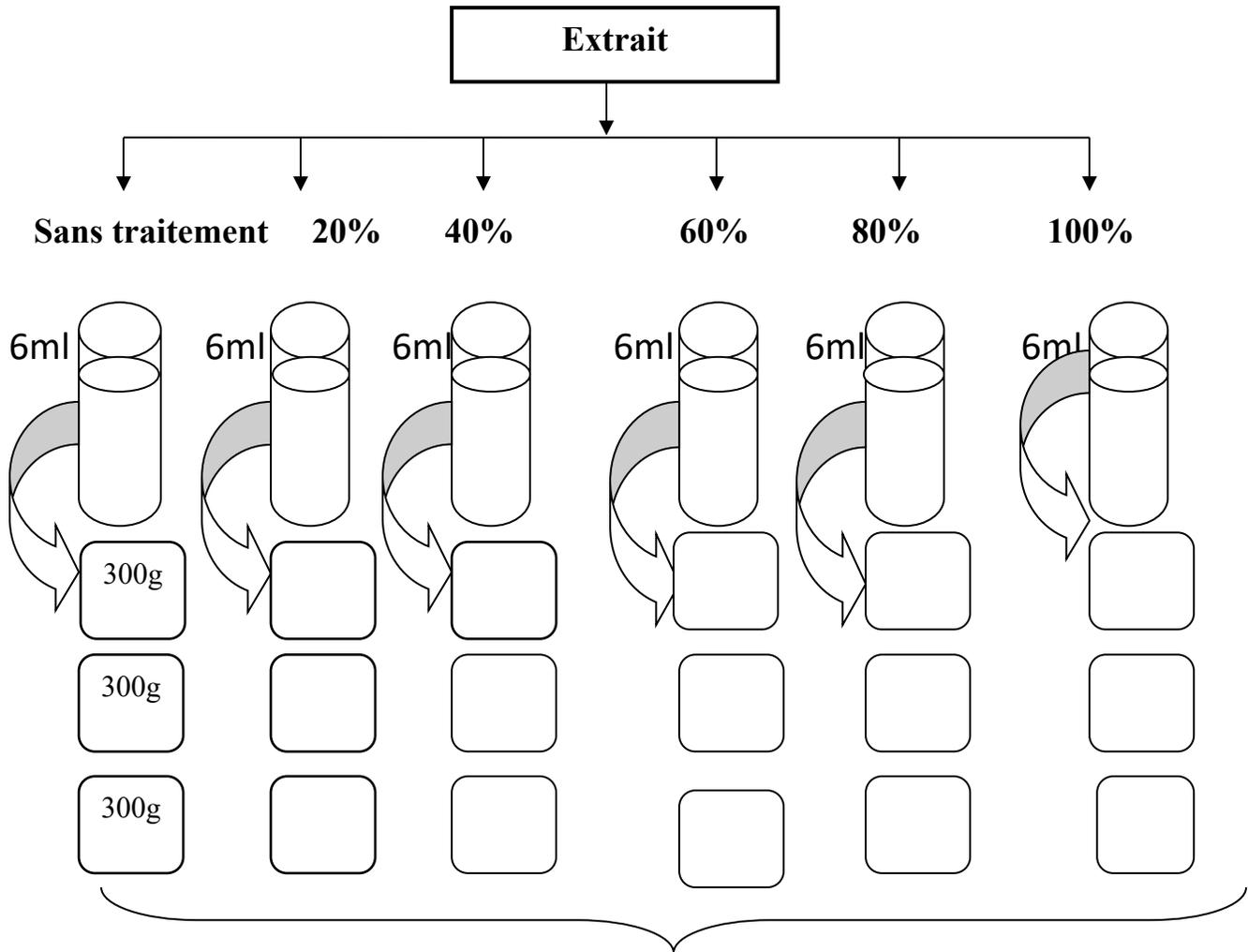
La conservation des échantillons est accomplie par la combinaison de deux procédés. L'un physique, la réfrigération, par l'utilisation d'un réfrigérateur dont la température a été réglée à 4°C. L'autre chimique, par l'utilisation de l'extrait de romarin; ce dernier est obtenu comme précédemment par l'utilisation d'un solvant polaire qui est l'hexane.

Arrivées au laboratoire, les viandes ovines ont été découpées aseptiquement en morceaux de 300g. La pesée a été réalisée à l'aide d'une balance analytique. Des lots ont été constitués ensuite comme suit :

- Une série de 3 morceau de viande de 300g chacune considérée comme témoin (ils n'ont subit aucun traitement).
- Une deuxième série a été traitée par une solution de 20% d'extrait ; à raison de 6ml par morceau de 300g de viande.
- Une troisième série a été traitée par une solution de 40% d'extrait ; à raison de 6ml par morceau de 300g de viande.
- Une quatrième série a été traitée par une solution de 60% d'extrait ; à raison de 6ml par morceau de 300g de viande.
- Une cinquième série a été traitée par une solution de 80% d'extrait ; à raison de 6ml par morceau de 300g de viande.
- Et une sixième série ayant été traitée par une solution de 100% d'extrait ; à raison de 6ml par morceau de 300g de viande.

Chaque échantillon de 300 g a été enfin placé individuellement dans une barquette stérile et déposé ensuite dans un réfrigérateur réglée à 4°C. **(Figure 11)**

L'évolution de la charge microbienne des échantillons de viandes traités ou non aux extrait de romarin à été suivie au 1<sup>er</sup>, 3<sup>eme</sup>, 5<sup>eme</sup>, 7<sup>eme</sup> et le 9<sup>eme</sup> jour de conservation au froid.



6ml de l'extrait + 300 g de viande ovine dans des barquettes



Figure 11. Traitement de la viande avec l'extrait de romarin

### 5. Analyse microbiologiques

L'objectif des analyses microbiologiques est de rechercher ou de quantifier un certain nombre de micro-organismes, indicateurs d'un ou de plusieurs problèmes rencontrés lors du procédé de conservation ou susceptibles de présenter un risque pour la santé humaine lors de la mise sur le marché.

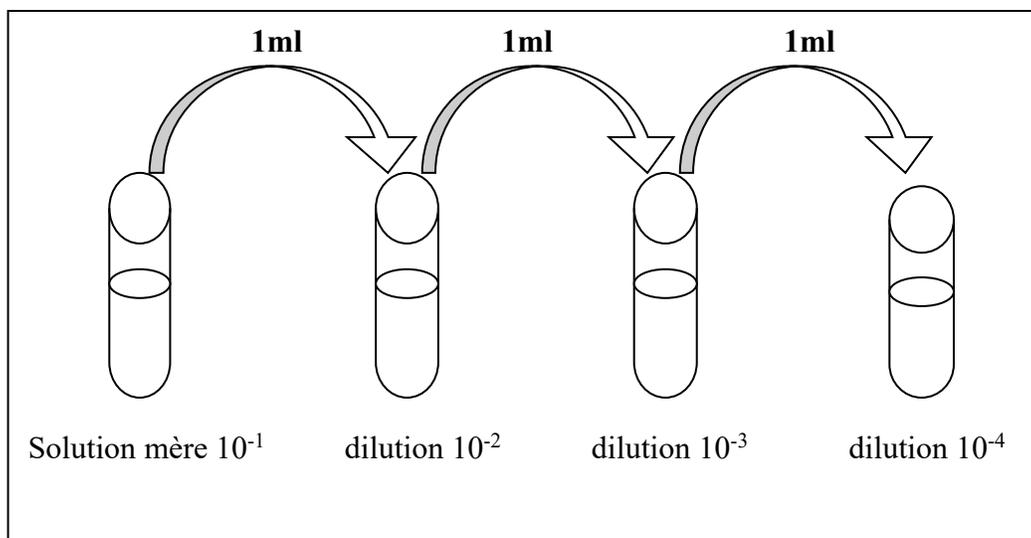
Les manipulations ont été réalisées avec un maximum d'asepsie (Bec Bunsen allumé depuis 15mn et paillasse lavée à l'eau de javel).

#### 5-1.Préparation de la suspension mère

La suspension mère est la première dilution préparée à partir d'un produit solide (la viande). Pour ce faire 25g de viande est aseptiquement mélangée à 225ml d'eau physiologique stérile dans un sachet stomacher stérile, en ajoutant 225ml d'eau physiologie stérile. A défaut de stomacher le mélange a été ensuite écrasé plusieurs fois mécaniquement pendant une minute dans un mortier traditionnel grâce à un pilon .

#### 5-2.Préparation des dilutions décimales

À l'aide d'une pipette stérile 1ml de la solution mère est prélevé puis introduit dans un tube contenant 9ml d'eau physiologie ; c'est la dilution ( $10^{-2}$ ). La dilution ( $10^{-3}$ ) sera préparée de la même façon à partir des dilutions précédentes (**figure12**).



**Figure12.** Schéma représente la préparation des dilutions décimales.

### 5-3.Méthodes de dénombrement des germes

L'analyse microbiologique a été basée sur le dénombrement des germes le plus souvent recherchés dans les produits carnés (viande ovine) dont:

- ✓ *Flore mésophile aérobie Totale(FTAM).*
- ✓ *Coliformes thermophiles tolérants(CTT).*
- ✓ *Staphylococcus aureus.*
- ✓ *Pseudomonas aerogénosa.*
- ✓ *Flore psychrotrophes.*
- ✓ et *E. coli.*

#### 5-3-1.Flore mésophile aérobie totale(FTAM)

##### Objet

Cette méthode consiste en la recherche et l'identification de la flore mésophile aérobie totale présente dans la viande.

##### Mode opératoire

Le dénombrement de cette flore est réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur la gélose (PCA).

On porte aseptiquement 1 ml des dilutions décimales allant jusqu'à  $10^{-4}$  dans des boîtes de Petri, on complète ensuite avec environ 15 ml de gélose PCA fondue et refroidie préalablement. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires et de «va-et-vient» en formes de « 8 » sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose. Les boîtes sont incubées couvercles en bas à 30 °C pendant 72 heures. La flore aérobie mésophile totale se présente après 72 heures d'incubation sous forme des colonies différentes : blanche et jaune, de différentes tailles et formes cocci ainsi que de bacille(**Figure13**).

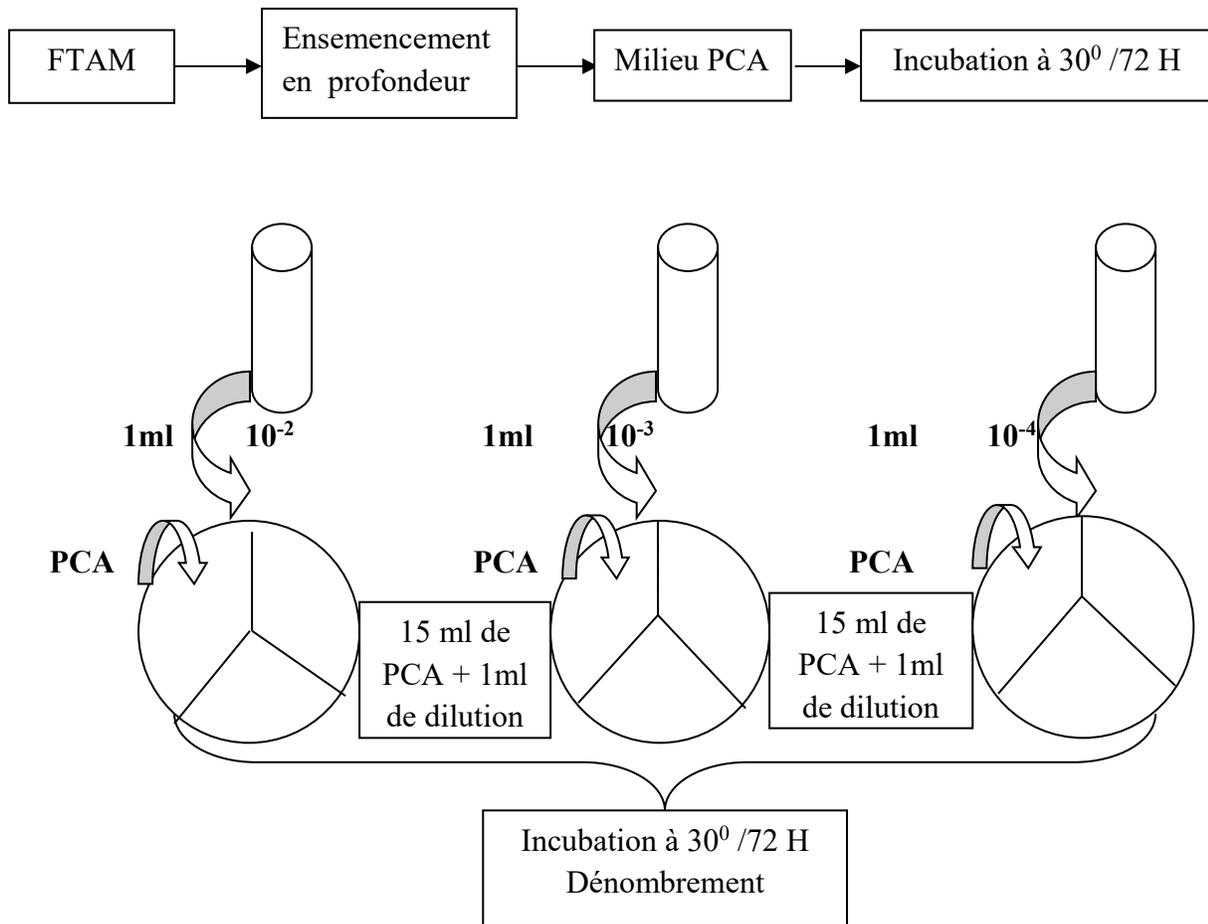


Figure 13. Méthode d'ensemencement des FTAM

### 5-3-2. Coliformes fécaux

#### Objet :

Cette méthode est une méthode de routine, qui consiste en la recherche et le dénombrement des coliformes fécaux dans le produit carné après incubation à 44°C.

#### Mode opératoire

Porter aseptiquement 1 ml des dilutions décimales (10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>) dans des boîtes de Pétri. Compléter par environ 15 ml de gélose VRBL fondue puis refroidie préalablement. Mélanger soigneusement le milieu et laisser le mélange se solidifier sur une paille. Lorsque le milieu est solidifié, couler environ 4ml de la même gélose. Après solidification du milieu, les boîtes sont

incubées pendant 24h à 44°C. Les de Coliformes fécaux se présentent sous forme des colonies violacées de diamètre égal ou supérieur à 0.5 mm(Figure14).

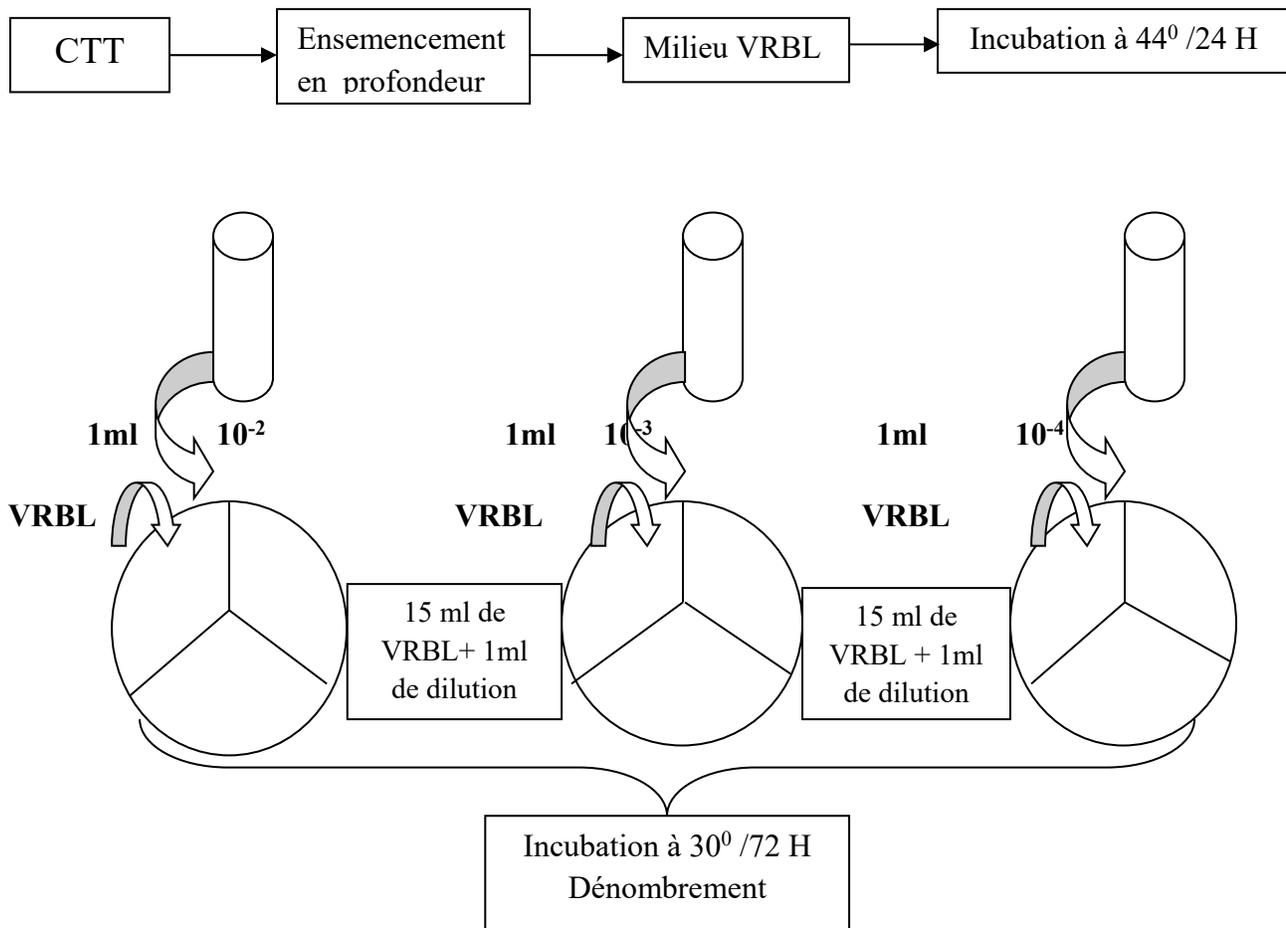


Figure 14. Méthode d'ensemencement des *Coliformes fécaux*

### 5-3-3. *Staphylococcus aureus*

Par cette méthode, les *Staphylococcus aureus* ont fait l'objet d'un dénombrement sur le milieu Chapman.

A l'aide d'une pipette pasteur, distribuer dans la boîte de pétrie 0.1 ml du mélange préparé (dilution décimales) sur la surface de 15ml du milieu mis en boîte, étaler soigneusement l'inoculum à la surface du même milieu. La boîte sera incubée à 37°C pendant 48h. Les *Staphylococcus aureus* se présente souvent sous forme des colonies volumineuses (bombées), crémeuses et pigmentées (typiquement jaune d'orée). (Guiraud et Riosec, 2004) (Figure15).

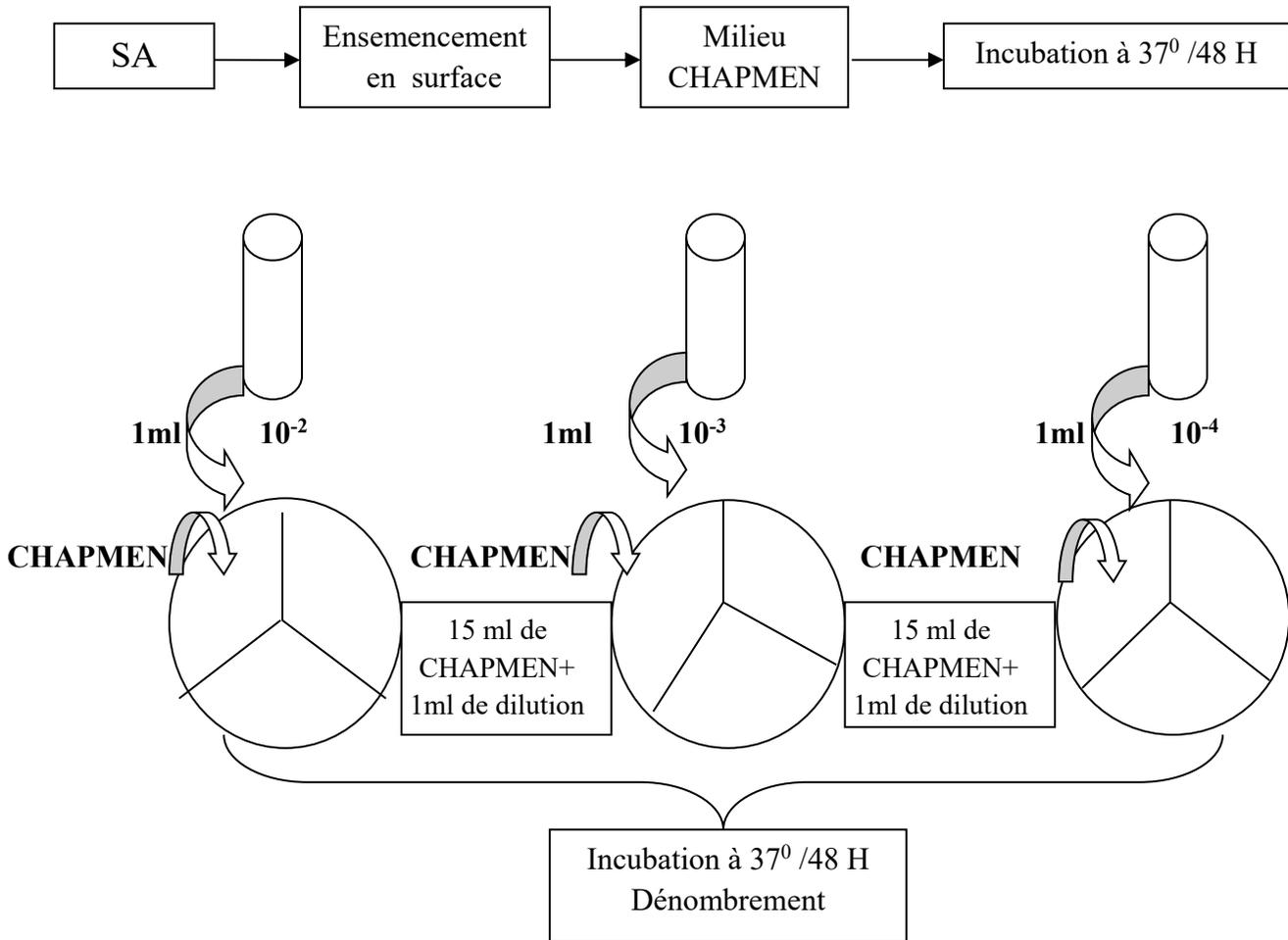


Figure 15. Technique d'ensemencement de *Staphylococcus aureus*

#### 5-3-4. Flores psychrotrophes

##### Mode opératoire

A l'aide d'une pipete pasteur, porter aseptiquement 1 ml des dilutions préparées ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) dans des boites de Petri. Ajouter ensuite environ 15 ml de milieu PCA fondue. Mélanger soigneusement et laisser le mélange se solidifier sur une paillasse. Les boites sont incubées enfin couvercles en bas à 3°C Pendant 10j. Les Psychrotrophes se présentent sous forme des colonies blanchâtre et volumineux. (Figure 16)

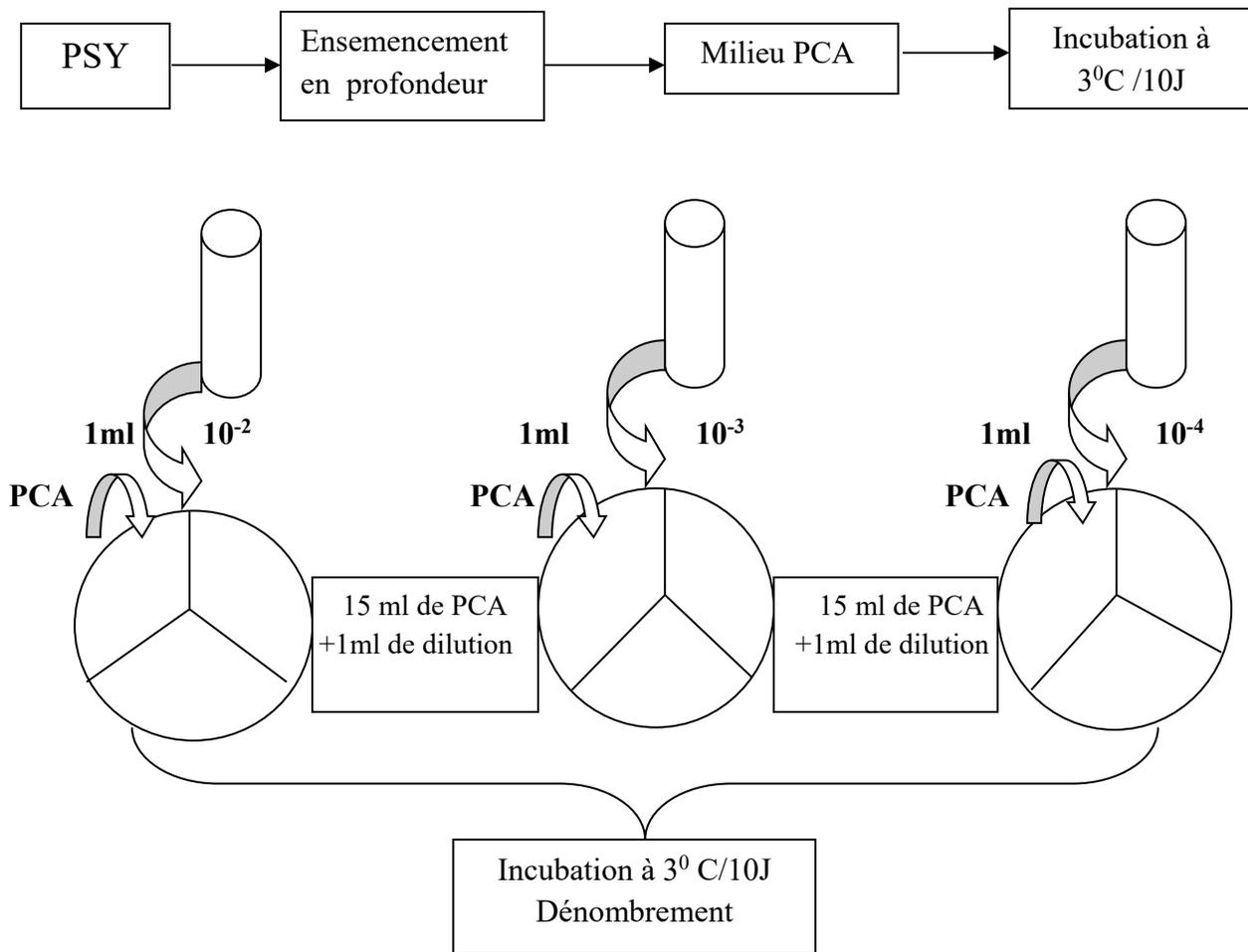


Figure 16. Technique d'ensemencement de *Flore psychrotrophes*

### 5-3-5. Dénombrement des *Pseudomonas*

#### Mode opératoire

On porte aseptiquement 1 ml des dilutions décimales allant jusqu'au  $10^{-4}$  dans les boîtes de Petri préparé précédemment. On complète, ensuite, le contenu des boîtes avec environ 15 ml de gélose King A fondue et refroidie préalablement. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires et de «va-et-vient» sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose. Les boîtes sont incubées enfin couvercles en bas à 37 °C pendant 72 heures. Les *Pseudomonas* apparaissent sous forme de colonies jaunes-verts (Figure 17).

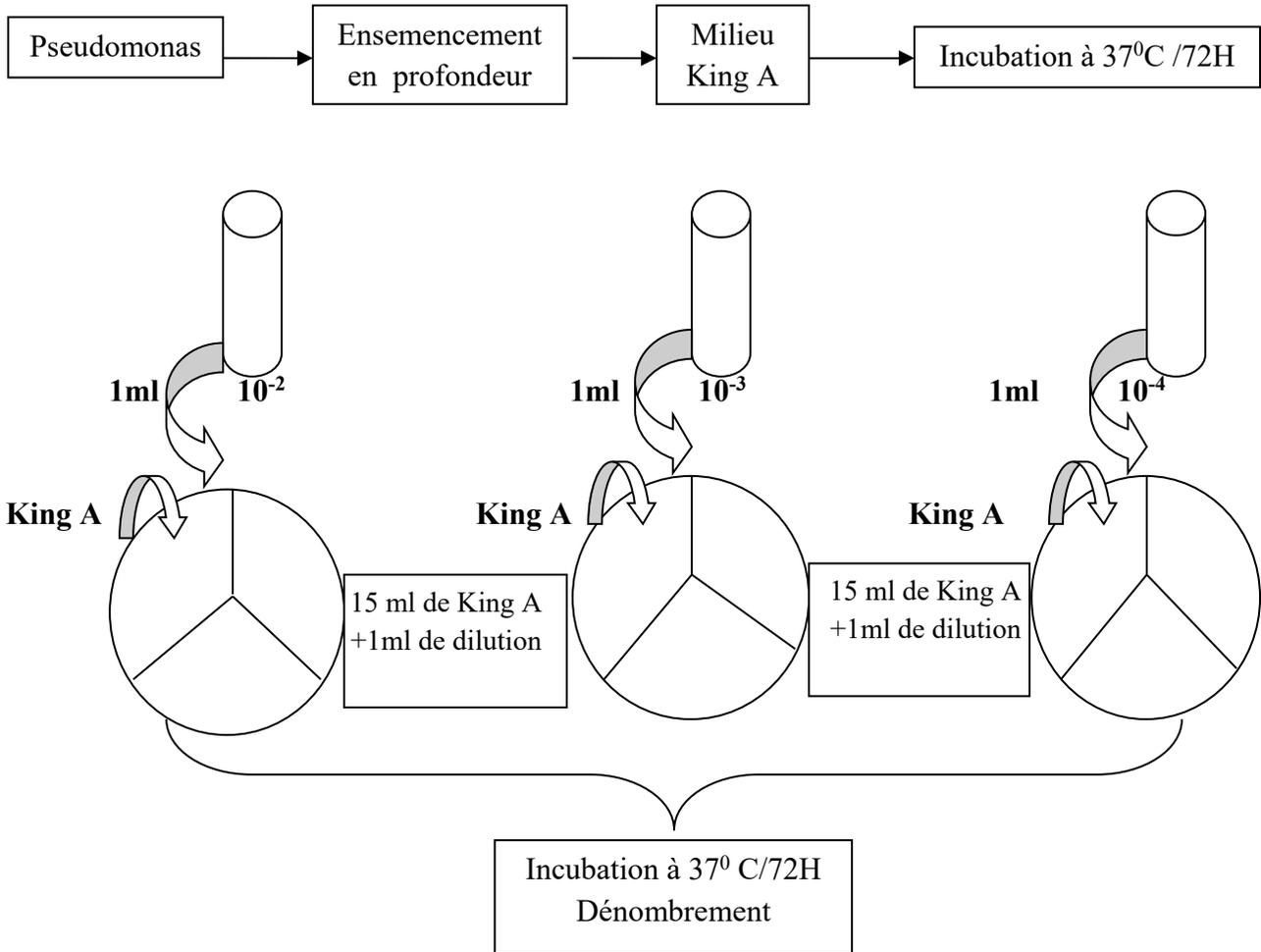


Figure 17. Méthode d'ensemencement de *Pseudomonas aeruginosa*

## 5-4..Tests de confirmation

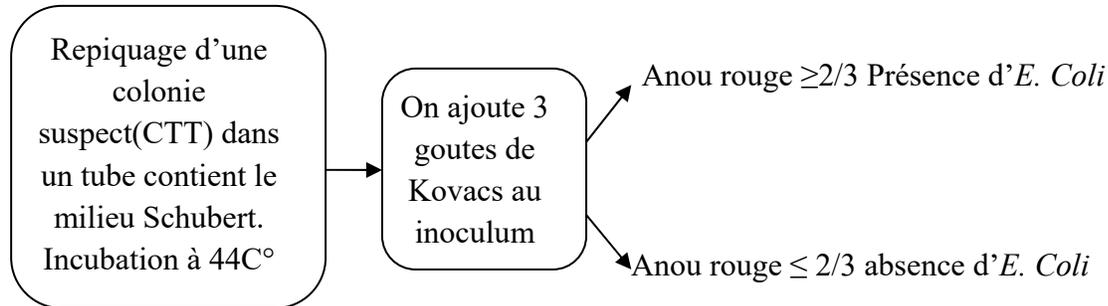
### 5-4-1.Test de recherche d'*E. coli*

*E.coli* est utilisée comme indicateurs de pollution d'origine fécale. Elle est repiquée pour un test confirmatif sur milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

On repique chaque boîte de coliformes fécaux une colonie par une anse de platine ou une pipette pasteur stérile dans un tube de bouillon Schubert. Ensuite, on incube les tubes à 44°C pendant 24 heures.

Après incubation, on ajoute 2 à 3 gouttes de réactifs de Kovacs aux tubes contenant le bouillon Schubert avec la cloche de Durham.

On considère comme positif les tubes où il ya un anneau rouge à la surface qui indique la production d'indole confirmant la présence d'E.coli. **(Figure 18)**



**Figure 18.** Méthode de recherche la présence ou l'absence d'*E. Coli*

### 5-4-2. Test de la catalase

Le catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase. :

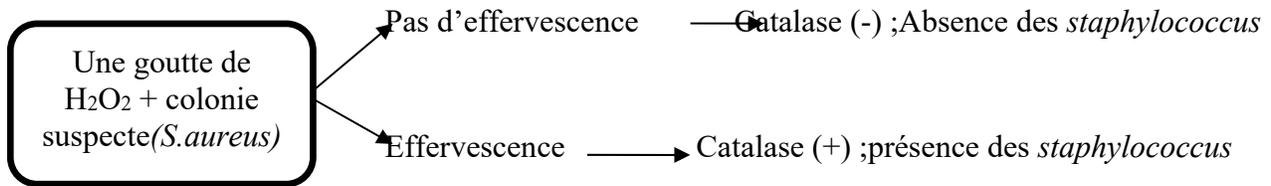
Sur une lame propre et sèche, on dépose une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on ajoute l'inoculum bactérien (quelque colonie de *staphylococcus aureus*). L'observation a été immédiate. **(Figure 19)**

### 5-4-3. Test de la coagulase

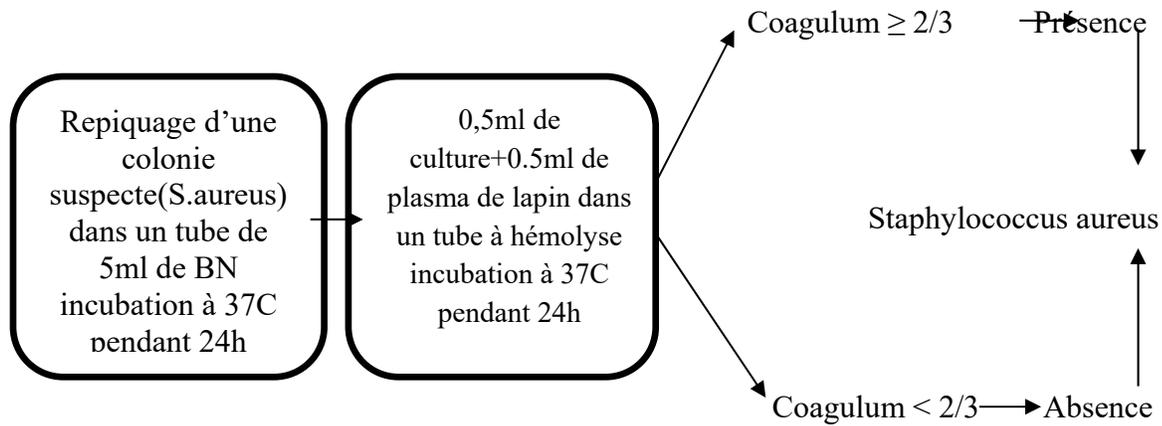
Ce test a pour but de déterminer la pathogénicité d'un staphylocoque, les espèces de ce type secrètent une enzyme qui est la staphylocoagulase qui a la propriété de coaguler le plasma.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on repique chaque boîte de *S.aureus* une colonie dans un tube de 5ml de BN. Ensuite, on incube les tubes à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, dans un tube d'hémolyse stérile, on introduit 0,5ml de culture+0.5ml de plasma de lapin. Enfin, on place le mélange à 37°C dans l'étuve pendant 24heures. **(Figure 19 et 20)**



**a-Test de la catalase**



**b-Test de la coagulase**

Figure 19. Tests de confirmation de présence ou absence des *Staphylococcus aureus*



Figure 20. Test de coagulatio

### 2. Traitement statistique

Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes et écarts types correspondants. Les données ont été traitées statistiquement par une analyse de la variance monofactorielle organisée en randomisation et complétées par un test de comparaison des moyennes deux à deux dit de Newman et Keuls. L'effet du facteur expérimental étudié a été démontré aux deux seuils de probabilité de  $P=0.05$  et  $P=0.01$ . Le logiciel statistique utilisé dans le traitement des données est logiciel statistique Stat Box 6.4.

1. Résultats

1.1 .Flore totale aérobie mésophile :

Les niveaux de contamination à la flore totale aerobie mésophile des viandes traitées ou non à l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* sont représentés dans le (Tableau 4).

En fonction, des variations des concentrations de la plante ajoutées de 0, à 20, à 40, à 60, à 80, et à 100% ; le nombre de germes totaux enregistré périodiquement durant les 09 jours de conservation à 4°C a connu de nette diminutions ( p<0.01) : de(33.10<sup>4</sup>, à 230.10<sup>3</sup>, à 126.10<sup>3</sup>, à 56.10<sup>3</sup>, à166.10<sup>2</sup>, à 83.10<sup>3</sup>UFC/g) au 1<sup>er</sup> jour ; de ( 35.10<sup>4</sup>, à 206.10<sup>3</sup>, à 123.10<sup>3</sup>, à 53.10<sup>3</sup>, à 43.10<sup>3</sup> et à 66.10<sup>3</sup>UFC/g, au 3<sup>eme</sup> jour ; de 37.10<sup>4</sup>, à 176.10<sup>3</sup>, à 106.10<sup>3</sup>, à 40.10<sup>3</sup>, à 146.10<sup>2</sup> et à 58.10<sup>2</sup>UFC/g au 5<sup>eme</sup> jour ; de 36.10<sup>4</sup>, à 90.10<sup>3</sup>, à 72.10<sup>3</sup>, à 32.10<sup>3</sup>, à 120.10<sup>2</sup> et à 51.10<sup>2</sup>UFC/g au 7<sup>eme</sup> jour et de 36.10<sup>4</sup>, à 81.10<sup>3</sup>, à 60.10<sup>3</sup>, à 273.10<sup>2</sup>, à 93.10<sup>2</sup> et à 32.10<sup>2</sup>UFC/g en moyenne, au 9<sup>eme</sup> jour ,successivement.

Les échantillons de viandes traités à 60, 80 et 100% d'extrait à l'hexane aqueux de romarin ont enregistré des résultats comparables(p>0.05); mais meilleurs que ceux du témoin n'ayant subi l'ajout d'aucun additif au cours de la conservation : (56.10<sup>3</sup> à 83.10<sup>3</sup>) vs 33.104UFC/g au 1<sup>er</sup> jour ; (53.10<sup>3</sup>à 66.10<sup>3</sup>) vs 37.10<sup>4</sup>UFC/g au 5<sup>eme</sup> jour ; (32.10<sup>3</sup>à 120.10<sup>2</sup>)vs 36.10<sup>4</sup>UFC/g au 7<sup>eme</sup> jour et (32.10<sup>2</sup> à 273.10<sup>2</sup>) vs 36.104UFC/g au 9<sup>eme</sup> jour, respectivement(Tableau 4).

**Tableau 4.** Variations du niveau de contamination à la flore aérobie mésophile totale de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* au cours de la conservation au froid a 4°C.

Périodes (jours)	Concentrations de l'extrait de romarin incorporé (%)						Effet des concentrations d'extrait de romarin	Normes (JORA, 2017)	
	0	20	40	60	80	100		m UFC/g	M UFC/g
1 <sup>er</sup> J (UFC/g)	33.10 <sup>4a</sup>	230.10 <sup>3b</sup>	126.10 <sup>3c</sup>	56.10 <sup>3cd</sup>	166.10 <sup>2d</sup>	83.10 <sup>3cd</sup>	P < 0.01	5.10 <sup>5</sup>	5.10 <sup>6</sup>
3 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	35.10 <sup>4a</sup>	206.10 <sup>3b</sup>	123.10 <sup>3c</sup>	53.10 <sup>3c</sup>	43.10 <sup>3c</sup>	66.10 <sup>3c</sup>	P < 0.01		
5 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	37.10 <sup>4a</sup>	176.10 <sup>3b</sup>	106.10 <sup>3c</sup>	40.10 <sup>3d</sup>	146.10 <sup>2d</sup>	58.10 <sup>2d</sup>	P < 0.01		
7 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	36.10 <sup>4a</sup>	90.10 <sup>3b</sup>	72.10 <sup>3b</sup>	32.10 <sup>3b</sup>	120.10 <sup>2b</sup>	51.10 <sup>2b</sup>	P < 0.01		
9 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	36.10 <sup>4a</sup>	81.10 <sup>3b</sup>	60.10 <sup>3b</sup>	273.10 <sup>2b</sup>	93.10 <sup>2b</sup>	32.10 <sup>2b</sup>	P < 0.01		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=03 ; p>0.05 :effet non significatif du facteur étudiée F1 (concentrations en extrait à l'hexane aqueux de romarin ajoutées a la viande ) ;p<0.05 : effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : effet hautement significatif du facteur étudié; J : jours ;UFC : Unité Formant Colonie ; m :valeur minimale en germes microbiennes acceptée dans la viande ; M : valeur maximale en nombre de germes acceptée dans la viande ; a, b, c...etc. : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

## 1.2 . Coliformes fécaux

Aucune contamination aux *coliformes fécaux* n'a été enregistrée au niveau des échantillons de viande traités à l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis*.

Cependant, la viande témoin sans extrait de romarin s'est démarquée par de très fortes proliférations de coliformes fécaux ( $p < 0.01$ ) notamment au 1<sup>er</sup> (243.103UFC/g), 3<sup>ème</sup> (216.103UFC/g) et 5<sup>ème</sup> jour (152.10<sup>3</sup>UFC/g) de conservation.

Par ailleurs, les échantillons du lot témoin ont accusé une nette diminution du nombre de ces germes en fonction du temps de conservation variable du 1<sup>er</sup>, au 3<sup>ème</sup>, au 5<sup>ème</sup>, au 7<sup>ème</sup> et au 9<sup>ème</sup> jour ; soit des baisses de 243.10<sup>3</sup>, à 216.10<sup>3</sup>, à 152.10<sup>3</sup>, à 100.10<sup>3</sup> et à 63.10<sup>3</sup>UFC/g, en moyenne respectivement (**Tableau 5**).

**Tableau 5.** Variations du niveau de contamination aux *coliformes fécaux* de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* au cours de la conservation au froid à 4°C.

Périodes (jours)	Concentrations de l'extrait de romarin incorporées (%)						Effet des concentrations d'extrait de romarin	Normes	
	0	20	40	60	80	100		m UFC/g	M UFC/g
1 <sup>er</sup> J (UFC/g)	243.10 <sup>3a</sup>	0 <sup>b</sup>	P < 0.01						
3 <sup>ème</sup> J (UFC/g)	216.10 <sup>3a</sup>	0 <sup>b</sup>							
5 <sup>ème</sup> J (UFC/g)	152.10 <sup>3a</sup>	0 <sup>b</sup>							
7 <sup>ème</sup> J (UFC/g)	100.10 <sup>3a</sup>	0 <sup>b</sup>							
9 <sup>ème</sup> J (UFC/g)	63.10 <sup>3 a</sup>	0 <sup>b</sup>							

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=03 ;  $p > 0.05$  : effet non significatif du facteur étudiée F1 (concentrations en extrait à l'hexane aqueux de romarin ajoutées a la viande ) ;  $p < 0.05$  : effet significatif du facteur étudié ;  $p < 0.01$  : effet hautement significatif du facteur étudié ; J : jours ; UFC : Unité Formant Colonie ; m :valeur minimale en germes microbiennes acceptée dans la viande ; M : valeur maximale en nombre de germes acceptée dans la viande ; a, b, c...etc. : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

### 1.3 .Germes psychrotrophes

Pratiquement, aucune contamination aux germes *psychrotrophes* n'a été constatée dans les viandes de gigot traitées à 40, 60, 80 et 100% d'extrait de romarin.

Toutefois, durant la conservation, de légères proliférations( $p < 0.01$ ) des germes psychrotrophes ont été observées dans les viandes traitées avec l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* préparé à 20% par comparaison à son équivalent le témoin sans conservateur ayant accusé au contraire de forts niveaux de contamination ;  $63.10^3$  vs  $250.10^3$ UFC/g au 1<sup>er</sup> jour ;  $51.10^3$  vs  $130.10^3$ UFC/g au 3<sup>eme</sup> jour ;  $43.10^3$  vs  $86.10^3$ UFC/g au 5<sup>eme</sup> jour ;  $33.10^3$  vs  $71.10^3$ UFC/g au 7<sup>eme</sup> jour et  $66.10^2$  vs  $50.10^3$ UFC/g au 9<sup>eme</sup> jour (**Tableau6**).

**Tableau 6** .Variations du niveau de contamination aux *psychrotrophes* de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* au cours de la conservation au froid a 4°C.

Périodes (jours)	Concentrations de l'extrait de romarin incorporées (%)						Effet des concentrations d'extrait de romarin	Normes	
	0	20	40	60	80	100		m UFC/g	M UFC/g
1 <sup>er</sup> J (UFC/g)	250.10 <sup>3</sup> a	63.10 <sup>3</sup> b	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	<b>P &lt; 0.01</b>		
3 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	130.10 <sup>3</sup> a	51.10 <sup>3</sup> b	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	<b>P &lt; 0.01</b>		
5 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	86.10 <sup>3</sup> a	43.10 <sup>3</sup> b	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	<b>P &lt; 0.01</b>		
7 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	71.10 <sup>3</sup> a	33.10 <sup>3</sup> b	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	<b>P &lt; 0.01</b>		
9 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	50.10 <sup>3</sup> a	66.10 <sup>2</sup> b	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	<b>P &lt; 0.01</b>		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=03 ;  $p > 0.05$  :effet non significatif du facteur étudiée F1 (concentrations en extrait à l'hexane aqueux de romarin ajoutées a la viande ) ;  $p < 0.05$  : effet significatif du facteur étudié ;  $p < 0.01$  : effet hautement significatif du facteur étudié ; J : jours ;UFC : Unité Formant Colonie ; m :valeur minimale en germes microbiennes acceptée dans la viande ; M : valeur maximale en nombre de germes acceptée dans la viande ; a, b, c...etc. : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

### 1.4. *Pseudomonas aerogénosa*

L'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* s'avère empêcher la prolifération de *Pseudomonas aerogénosa* au cours de la conservation de la viande à 4°C ; aucun germe n'a été constaté.

Au contraire, au cours de l'entreposage de faibles charges de ces bactéries ( $33.10^3$  à  $66.10^3$ UFC/g, en moyenne) ont été décelées dans la viande témoin sans extrait phénolique de romarin (Tableau 7).

**Tableau 7.** Variations du niveau de contamination aux *Pseudomonas aerogénosa* de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* au cours de la conservation au froid à 4°C.

Périodes (jours)	Concentrations de l'extrait de romarin incorporées (%)						Effet des concentrations d'extrait de romarin	Normes (JORA, 2017)	
	0	20	40	60	80	100		m UFC/g	M UFC/g
1 <sup>er</sup> J (UFC/g)	66.10 <sup>3</sup> a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	P < 0.01	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
3 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	33.10 <sup>3</sup>	0	0	0	0	0	P < 0.01		
5 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	266.10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	P < 0.01		
7 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	233.10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	P < 0.01		
9 <sup>eme</sup> J (UFC/g)	66.10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	P < 0.01		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=03 ; p>0.05 : effet non significatif du facteur étudiée F1 (concentrations en extrait à l'hexane aqueux de romarin ajoutées a la viande ) ; p<0.05 : effet significatif du facteur étudié ; p<0.01 : effet hautement significatif du facteur étudié ; J : jours ; UFC : Unité Formant Colonie ; m : valeur minimale en germes microbiennes acceptée dans la viande ; M : valeur maximale en nombre de germes acceptée dans la viande ; a, b, c...etc. : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.5 *Staphylococcus aureus*

L'ensemble des échantillons expérimentaux de la viande ovine traités ou non à l'extrait de romarin ont été exemptes de germes *Staphylococcus aureus* jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour de conservation au froid positif de 4°C.

Au 9<sup>ème</sup> jour de stockage, les échantillons traités à l'extrait de la plante préparé à différentes concentrations, ont été ,également, préservés de toute contamination au *Staphylococcus aureus* ; alors que la viande témoin a accusé une charge microbienne ( $p < 0.01$ ) très appréciable ( $33.10^3$ UFC/g) (Tableau 8).

**Tableau 8.** Variations du niveau de contamination aux *Staphylococcus aureus* de la viande ovine traitée à l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* au cours de la conservation au froid a 4°C.

Périodes (jours)	Concentrations de l'extrait de romarin incorporées (%)						Effet des concentrations d'extrait de romarin	Normes (JORA, 2017)	
	0	20	40	60	80	100		M UFC/g	M UFC/g
1 <sup>er</sup> j (UFC/g)	0	0	0	0	0	0	P > 0.05	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
3 <sup>ème</sup> j (UFC/g)	0	0	0	0	0	0	P > 0.05		
5 <sup>ème</sup> j (UFC/g)	0	0	0	0	0	0	P > 0.05		
7 <sup>ème</sup> J (UFC/g)	0	0	0	0	0	0	P > 0.05		
9 <sup>ème</sup> J (UFC/g)	33.10 <sup>3a</sup>	0 <sup>b</sup>	P < 0.01						

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions n=03 ;  $p > 0.05$  : effet non significatif du facteur étudiée F1 (concentrations en extrait à l'hexane aqueux de romarin ajoutées a la viande ) ;  $p < 0.05$  : effet significatif du facteur étudiée ;  $p < 0.01$  : effet hautement significatif du facteur étudiée ; J : jours ; UFC : Unité Formant Colonie ; m : valeur minimale en germes microbiennes acceptée dans la viande ; M : valeur maximale en nombre de germes acceptée dans la viande ; a, b, c...etc. : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de Newman et Keuls.

### 2-Discussion

Les résultats indiquent bien que l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* possède une bonne activité antimicrobienne contre les souches étudiées *Staphylococcus aureus*, *Flore aerobie mésophile total*, *Coliformes fécaux*, *Flore psychrotrophes* et *Pseudomonas aerogénosa*. Les niveaux de croissance obtenus par l'application de l'extrait de la plante à la viande ovine a montre que le nombre de germes diminuent efficacement ( $p < 0.01$ ) avec l'augmentation de la concentration d'extrait appliquée ; ce qui s'est traduit par de meilleurs durées de conservation de la viande. L'ajout comme additif de l'extrait à l'hexane aqueux concentré à 40, 60, 80 et 100% a maintenu la qualité microbiologique de la viande plus ou moins stable pendant le de stockage au froid à 4°C. Le traitement à l'extrait de romarin a prolongé la durée de conservation de la viande d'au moins 5 jours. L'extrait de *Rosmarinus officinalis L* ( romarin) comme l'a signale plusieurs auteurs(**Fernández et al., 2005 ; Balentine et al.,2006 ; Miladi et al.,2013 ; Tahri et al.,2015 et Hendel et al., 2016**), peut aussi être préconisé comme agent naturel de conservation des denrées alimentaires.

Les composés phénoliques forment au faite une grande classe de produits chimiques retrouvés dans les plantes au niveau des tissus superficielles. C'est des composés polyhydroxylés comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils se subdivisent en sous classe principales ; les acides phénoliques, les flavonoides, les lignines et les tanins... (**Sarni et Cheynier, 2006**).

Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, elles jouent un rôle vitale de défense contre les pathogènes nuisibles, principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et protègent la plante contre les UV (**Sarni et Cheynier, 2006**).

Plusieurs études menées à ce jour ont révélées la grande richesse de *Rosmarinus officinalis* en de nombreux composés phénoliques dont essentiellement les acides phénoliques (**Lamaisons ,1991**) dont l'acide rosmarinique ;l'acide caféique ;l'acide néo-chlorogénique ; l'acide vanillique(**Culvier et al., 1996**) ;les flavonoïdes (**Lallement et Benzager.,1970 ; Briescon et al., 1973**) dont l'apégénine, le genkwanine, le 6-méthoxygenkwanine (**Culvier et al, 1996**),la quercétine et le kaempférol (**Gonzalez al.,2007**) ;des tannins et des saponines; les diterpènes (**Culvier et al.,1996**) comme l'acide carnosique, le carnosol, le 12-Acide méthoxycarnosique, rosmanol, et l'épirosmanol(**Paris et al.,1993 ; Q Chen et al., 1992 ; Richheimer et al., 1996**).

De nombreux études antérieures sur les extraits bruts aqueux et alcooliques de *Rosmarinus officinalis* ont révèlent aussi des activités antimicrobiennes contre plusieurs microorganismes dont(*Staphylococcus aureus*, *Flore aerobie mésophile totale*, *Coliformes fécaux*, *Pseudomonas aerogénosa* et *Flore psychrotrophes...*etc) et indiquent une similitude d'action antimicrobienne avec les résultats obtenus dans le présent travail(**Moreira et al.,2005 ; Santoyo et al.,2005 ; Billerbeck,2007 ; Ouibrahim et al.,2013 ; Lograda et al .,2014 et Belkhiri, 2015**).

Le mécanisme d'action de l'extrait phénolique est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries. L'extrait d'une plante riche en composés bioactifs exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne : une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ; une acidification de l'intérieure de la bactérie en bloquant la production de l'énergie cellulaire ainsi que la synthèse des composants de structure et une destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie(**Caillet et Lacroix, 2007**).

En raison de sa forte activité antimicrobienne, l'extrait de romarin peut être appliqué dans plusieurs domaines d'intérêt dont une part l'industrie pharmaceutique pour la production de

nouveaux médicaments naturels pour traiter par exemple les maladies infectieuses causées par les nombreuses bactéries et d'autre part en industrie agroalimentaire pour assurer une meilleure conservation et production de nouveaux aliments fonctionnels alicament a effet bénéfique sur la santé humaine.

## Conclusion

Au terme de cette étude et a travers les résultats obtenus, il s'avère que l'extrait à l'hexane aqueux de *Rosmarinus officinalis* présente un fort pouvoir antimicrobien.

Ajouté comme additif naturel, l'extrait a amélioré la durée de conservation de la viande de gigot entreposée au froid à 3°C. La viande traitée à l'extrait de romarin à des concentrations de 40, 60, 80 et 100% est maintenue stable au plan microbiologique durant 9 jours de stockage contrairement à la viande témoin sans additif qui semble altérée.

Ainsi, la flore totale aerobie mésophile est restée stable et inférieure à la norme de  $5.10^5$ UFC/g dans l'ensemble des échantillons de viande expérimentaux.

Aucune prolifération aux germes (*Coliformes fécaux*, *Pseudomonas aerogénosa* et *Staphylococcus aureus*) n'a été enregistrée au cours de la conservation dans les échantillons de viande traités à l'extrait de romarin ; alors que la viande témoin non traitée a présentée une relative contamination à ces germes.

De légères proliférations des germes psychrotrophes ont été, également, remarquées dans la viande témoin et les échantillons de viande traités à des faibles concentrations d'extrait de la plante ; à 0 et 20%. Néanmoins, à des concentrations supérieures à 20%, la viande a été préservée d'une éventuelle contamination par ces germes durant les 9 jours de stockage au froid.

En perspective, il est important de procéder à l'identification par HPLC des principaux composés phénoliques constitutifs de la plante objet de l'étude et de l'extrait au solvant utilisé.

D'autres extraits aux solvants à différentes polarités peuvent être réalisés chez *Rosmarinus officinalis* et appliqués comme additifs à la viande en vue de suivre sa qualité et sa durée de stabilité au froid positif de 4°C.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

#### A

**Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., Khia, A., Guedira, A., Rahouti, M., et Chaouch, A. (2011).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9: 149–157

**Arslan D. and Musa Ozcan M. (2007).** Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. *Energy Conversion and Management*.

#### B

**Bensebia, O., Barth, D., Bensebia, B., Dahmani, A. (2009).** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of rosemary: Effect of extraction parameters and modelling. *The Journal of Supercritical Fluids*, 49, pp 161-166

**BABAR ALI M., HAHN E.J., PAEK K.Y., 2007-** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molécules*. 12: 607-621.

**BAHORUN T., 1997-** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council, Réduit, Mauritius. 83- 94.

**Balasundram N., Sundram K. & Samman S., 2006.** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99, 191–203.

**Bellakhdar J., (1997).** Pharmacopée marocaine traditionnelle, Paris, Edition Ibis Pres, 764p.

**Bellakhdar, J. (2006).** Précis de phytothérapie moderne ; plantes médicinales au Maghreb et soin de base .Edition le Fennec. P : 294-295.

**Bellumori, M., Innocenti, M., Binello, A., Boffa, L., Mulinacci, N., and Cravotto, G. (2016).** Selective recovery of rosmarinic and carnosic acids from rosemary leaves under ultrasound- and microwave-assisted extraction procedures. *Comptes Rendus Chim*, 19: 699–706.

**.Benaissa A. 2011.** Etude de la qualité microbiologique des viandes camelines et ovines conservées selon différents modes. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie, Option Microbiologie Appliquée, Université Kasdi Merbah Ouargla, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, 61p.

**Bailly JD, Brugere H, Chadron H. 2012.** Microorganismes et Parasites des Viandes: les Connaître pour les Maîtriser de l'Éleveur au Consommateur. CIV, 150p. [www.civViande.org](http://www.civViande.org)

**Bensebia, O., Barth, D., Bensebia, B., Dahmania, A. (2009).** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of rosemary: Effect of extraction parameters and modelling. *J. of Supercritical Fluids*, 49, 161–166.

**Berry .C.C, S. Charles , S. Wells, M.J. Dalby and AS.G. Curtis,** International Journal of Pharmaceutics. 269 (2004) 225

**Bigitte Mass-van Berkel, Brigiet Van Den Boogaard, Corlien Heijnen(2005),** La conservation du poisson et de la viande : les facteurs d'altération des viandes. Marja de goffau – markusse. ISBNB : 90-8573-033-3.p835.

**Bonnefoy C, Guillet F, Leyral G, VernesBourdais E. 2002.** Population contaminant altérant la qualité sanitaire et marchande. In Microbiologie et Qualité dans les Industries Agroalimentaires. Collection Biosciences et Techniques, Série Sciences des Aliments; 248p.

**Bonnf Er, G., 1934,** Flore complète de France, Sursse et Belgique, PARIS : Arlhac, 8, p.1 19, 9, p.39.

**Bornert.G,** Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires, Service Central d'Études et de Réalisations du Commissariat de l'Armée de Terre, B.P. 309, 00447 Armées, Revue Méd. Vét., 2000, 151, 11, 1003-1010.

**Boumendjel Mahieddine,** Conservation des denrées alimentaires, centre universitaire d'el Harf.P 10

**Bourgeois C.M., et Leveau JV., (1991),** Techniques d'analyses et contrôle dans les industries agro-alimentaires. 2 eme Edition Lavoisier .p45

**Bruneton J. 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Edition, lavoisier. Paris.

### C

**Caillet S. & Lacroix M., 2007-** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA, 1-8.

**Cheftel J.C et Cheftel H, 1980.** Introduction a la biochimie des aliments.Ed TEC et DOC. lavoisier-Paris. p 63,303

**Chougui N., (2015),** technologie et qualité des viandes. Thèse de magister. Université Abderrahmane Mira de BEJAIA

**Coibion L., (2008),** Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine adaptation à la demande du consommateur. p 7-25.

**Collin D., (1972),** La viande de bovins .Livre I. Tome III Doin. p121

**Cottin, J.H., Bizon, C., Carbonelle, B. (1985),** Study of Listeria monocytogenes in meat from 415 cattle.Sci.Aliment, 5: Series IV, p145-149.

**Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.

**Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol Re, 12 (4): 564- 582.

### D

**Dave, D. et Ghaly, A. E. (2011)** Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. Am. J. Agric. Biol. Sci., 6 (4), p. 486-510

**Dumont R L., Et Valin C., (1982),** Bases biochimiques de l'hétérogénéité du tissu musculaire et des viandes. Ed INRA .Paris .p77.

**Durand D., Savary-Auzeloux I., Ortigues-Marty I., Thomas E., Scislowski V., Peyron A., Bauchart D., (2006),** Effet de la conservation de la viande bovine sur les processus de peroxydation lipidique et protéique. 11èmes JSMTV - Clermont Fd. p77.

**Deciga- Campos, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007);** Evaluation of the antinociceptive effect of Rosmarinus officinalis L. using three different experimental models in rodents. J Ethnopharmacol. 111: 476-482. oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. Meat Science. 76: 172-181

### E

**Eramouz R., (2008),** Etude des changements biochimiques post mortem dans le muscle des volailles .Contribution au déterminisme de l'amplitude de la diminution du pH. P3-4

**Eslava C, Villaseca J, Hernandez U, Cravioto A. 2003.** Escherichia coli (123-135). In International Handbook of Foodborne Pathogens, Miliotis MD, Bier JW (eds). Marcel Dekker: New York; 688p.

**Essia-Ngang J. J., Sado K. S. L., Kouete K.V., Patrignani F. & Guerzoni E., 2010.** Microbial and chemical qualities assessment of smoked-cured meat of different species in Cameroon. 22th International ICFMH Symposium, Food Micro. Microbial behaviour in the food chain. Copenhagen 30 August -3 September.

**Euzeby JP. 2007.** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Adresse URL, <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/>, consulté le 15/08/2012.

### F

**FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M., ABDELLEY C., 2008-** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies. 331: 372-379.

**FAO, 1994.** Technique et règles d'hygiène en matière d'abattage et de la manipulation de la viande dans l'abatage. ISBN. Rome. pp23-24 Filière lait et viande rouge : 2 Filières et marché des viandes rouges en Algérie (Synthèse du Gredaal).2002

**Feng P. 2001.** Escherichia coli (143-162). In Guide to Foodborne Pathogens, Labbé RG, García S (Eds). John Wiley and Son: New York; 400p.

**Fernández-López J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Pérez-Alvarez J.A. & Kuri V., 2005-** Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. Meat Science, 69: 371-380.

**FOSSE. J.A.S., (2003).** Les dangers pour l'homme liés à la consommation des viandes. Evaluation de l'utilisation des moyens de maîtrise en abattoir. Thèse de l'Ecole nationale vétérinaire de NANTES. p24-46

**Fosse J, Margas C. 2004.** Dangers Biologiques et Consommation des Viandes. Ed Lavoisier: Paris; 220p.

**FOURNAUD J., (1982):** contamination aux différents stades, Hygiène et technologie de la viande du CNRS, Paris, 352p

### G

**Gandemer G., Chantelot F. Duchène C., Durand D., Bauchart D., 2008.**The nutritional quality of meats and offals differed deeply in cereal (indoor) and grass (outdoor) fed fattening lambs. Proc. Int. Congr. MeatSci. Technol.

**Gausсен, H., Leroy, J.F., et Ozenda, P. (1982).** Précis de botanique, végétaux supérieurs.vol.2. Paris: 2<sup>ème</sup> ed.Masson.

**Getty K.K., 2005.** Dry and Semi-Dry Fermented and Direct Acidified Sausage Validation. Pork Information Gateway, p7.

**Giani, F. Santoro., Maria, das Graças Cardoso., Luiz Gustavo L, Guimarães., Ana Paula, S. P. Salgado., Rubem, F. S. Menna-Barreto., and Maurilio, J. Soares. (2007).** Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. Parasitol Res, 100:783–790.

**Ghafir Y, Daube G. 2007.** Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Ann. Méd. Vét., 151: 79-100

**Ghourri,M; Zidane,L ;et Douira ,A. (2013).** Usage des plantes médicinales dans le traitement de Diabète Au Sahara marocain (Tan Tan) .Journal of Animal and Plant Sciences,17 ,2388- 2411.

**GOMEZ-CARAVACA A.M., GOMEZ-ROMERO M., ARRAEZ-ROMAN D., SEGURA-CARRETERO A., FERNANDEZ-GUTIERREZ A., 2006-** Advances in the analysis of phenolic compounds in Products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234.

**Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefer, p., Deciga-Camps, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*. 111:476-482.

**Grunert K.G., Bredahl L., Brunso K., (2004):** Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector a review. *Meat Sci*. 66:259-272

### H

**Haddouchi.F et Benmansour.A ;** « Huiles essentielles, applications et activités biologiques, application à deux plantes aromatiques », Laboratoire des Produits Naturels ; thèse de magister, Tlemcen ; 2008.)

**Harkati., (2007),** Étude des paramètres biologiques intervenant dans l'attendrissage naturel de la viande ovine et leurs relations au facteur type de muscle p 5-12.

**Hopkins. William . G., 2003 -** Physiologie végétale de bock université 2<sup>ème</sup> édition. p276.268.

### I

**Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F. J., Cavero S., Reglero G. et Hawthorne S. B. (2003).** : Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosmariny Plants. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, 51 (2): 375-382.

**Ismail A. & Swan J.E., 2000.** Muqumad - a Traditional Somali Meat Product. Abstract of a paper presented at NZIFST/MIRINZ Joint Conference 2000, Auckland.

### J

**James SJ, James C. 2000.** Microbiology of refrigerated meat (3-19). In *Meat Refrigeration*. Wood head publishing limited and CRC press LLC: Cambridge England; 347p

### K

**Kalilou S. & Zakhia N, 1999.** Traditional methods of processing meat in Niger. *Tropical Science* 39, 18–22.

**Kanel.S.R, J.M. Greneche and H. Choi, Environ. Sci. Technol. 40(2006)2050**

**Kechar, K., et Hellal, B. (2016).** Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 13: 225–279.

**Khia, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Aberchane, M., Quaboul, B., Chaouch, A., Amusant, N., et Charrouf, Z. (2014).** Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, 12: 341–347.

### L

**Lahsissene ,H ; Kahouadji ,A ; Tijane, M ; et Hseini ,S. (2009)**catalogue des plantes medicinales utilisées dans la région de ZAËR (Maroc occidental) .revue de botanique. *Lejeunia* ,186 : 4157-4184.

**Lawrie RA, Ledward DA. 2006.** The spoilage of meat by infecting organism (157- 188). In *Lawrie's Meat Science* (7th edition). Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Cambridge CB1 6AH: England, Abington; 442p.

**Lawrie, R. A., et Ledward, D. A. (2006)** *Lawrie's Meat Science*, 7ème ed. Cambridge, Woodhead Publishing England

**Lecourt, D. (1999)** encyclopédie des science .La pochothèque .France .1526 p :1325.

**Lhuillier, A. (2007)** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.

### M

**Macheix J.-J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, PPUR Presses polytechniques.

**MANSOUR A., 2009-** Investigation photochimique de l'extrait n- butanol de l'espèce *centaurea AFricanai*

**Mebarki.N ;** « Extraction des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne »; thèse da magistère ; Boumerdes ; **2010.**)

**Miladi H., Ben Slama R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A. & Ammar E., 2013-** Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science*, 5(6): 729- 739

**Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E. & Roura S.I., 2005-** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *LebensmittelWissenschaft und -Technologie-LWT*, 38: 565-570.

**Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Ben Lamine, S., Boukhchina, S., and Khouja, M.L. (2010).** Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric*, 90: 1745–1749.

**M. T. Reetz, W. Helbig , J. Am . Chem. Soc. 116 (1994) 7401.**

### O

**Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K. ET Y a g h i A. (1994),.** Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, 37 (5): 1463-1466

**O’Kennedy, R., and Thornes, R.D. (ed) (1997).** Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley & Sons Inc. New York. N.Y.

**Öksüztepe K.G., Ilhak O.I. & Patir B., 2006.** Chemical and microbiological quality of fermented sausages made from camel meat. *Medycyna Weterynaryjna* 62, 893–896.

**Ouali A., (1991),** Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande .INRA prod. Anim. p 196-197

### P

**Paris et al. (1993);** effect of carnosolic acid products, vol 56, N°8 , p1426

**Perez-Chabela, M.L. et Mateo-Oyague, J. (2004)** Frozen Meat: Quality and Shelf Life. In: Hui, Y. H., Cornillon, P., Guerrero-Legarretta, I., Lim, M.H., Murrell, K.D. et WaiKit, N. (Eds) (2004). *Handbook of frozen foods*. NY, Marcel Dekker.pp. 204-217

### Q

**Q Chen et al. (1992);** Rosemary antioxydants. *JACOS*, vol 69, N° 10.

### R

**Rahman, S.F. (1999)** Food preservation by freezing. In: Rahman. S.F. (Ed). *Handbook of food preservation*. NY, Marcel Dekker.pp. 262- 268.

**Renerrd G. ; Picard B, Touraille C., Berge P., 2001**relationships between muscle charaeristies and meatquality traits of young charolais bulls . *Meat Sei.*, 59.49.60

**Rosmini, M.R., Perez-Alvarez, J.A. et Fernandez-Lopez, J. (2004)** Operational Processes for Frozen Red meat. In: Hui, Y.H, Cornillon, P., Legaretta, I.G., Lim, M.H., Murrell, K.D. et Nip, K.W. (Eds.) (2004) Handbook of frozen foods. NY, Marcel Dekker. pp. 177-179.

### S

**SANDRINE L., 2004-** Lyon ; Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de Légumineuses. Thèse de doctorat.

**Small, E ; Deutsch, G. (2001)** .herbes culinaire pour nos jardin de pays froid. Le conseil national, 3éd, Canada. 205p:157.

**STARON T, 1979.**La viande dans l'alimentation humaine. APRIA .Paris. pp01- 05.p110.

**Sarni-Manchado. P et Cheynier.V, (2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.

S.L.Richheimer et al, rosmay antioxidants, AJOCs, (1996), vol 73, N°04, P507.

### T

**TOURAILLE.C,** Incidence des caractéristiques musculaires sur les qualités organoleptiques des viandes. Renc. Rech. Ruminants, 1994,1, 169-176

### U

**Urquiaga I, Leighton F. 2000.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Biology Research. 33:55-64.

### V

**Verbeke W., Van wezemaal L., De barcellos M.D., Kugler J.O., Hocquette J.F., Ueland O., Gruner T K.G.** Europeanbeefconsumers' interest in a beefeatingqualityguarantee insights from a qualitative study in four eu countries. Appetite, 54, 2010, 289-296.

**Vignolo G., Fontana C. & Fadda S., 2010.** Semi-dry and dry fermented sausages. In: Toldra, F. (ed.) Handbook of Meat Processing. Wiley- Blackwell, Ames, Iowa, pp. 379- 398

**Viriling E, 2003.** Les viandes dans l'aliment et boissons. CRDP. France .pp58-78.p170

### W

**Winsor GL, Lam DK, Fleming L, Lo R, Whiteside MD, Yu NY, Hancock RE, Brinkman FS. 2011.** Pseudomonas Genome Database: improved comparative analysis and population genomics capability for Pseudomonas genomes. Nucleic Acids Res., 39: 596- 600.

**Urquiaga I, Leighton F. 2000.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biology Research*. 33:55-64.

**Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., and Kunz, W. (2016).** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim*, 19: 754–765.

### Z

**Zoubeidi.C ;** « Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis* .Labiata »; thèse de magistère ; université de Ouargla ; **2004**.

# ANNEX 1

## FTAM



1J (Ext 0% /  $10^{-2}$  UFC/g)



1J (Ext 60% /  $10^{-2}$  UFC/g)



7J (Ext 0% /  $10^{-4}$  UFC/g)



7J (Ext 100% /  $10^{-4}$  UFC/g)



9J (Ext 20% /  $10^{-3}$  UFC/g)



9J (Ext 100% /  $10^{-4}$  UFC/g)

## *Staphylococcus aureus*



1J (Ext 0% /  $10^{-2}$  UFC/g)



1J (Ext 100% /  $10^{-2}$  UFC/g)



3J (Ext 0% /  $10^{-3}$  UFC/g)



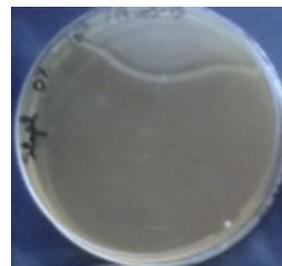
3J (Ext 40% /  $10^{-3}$  UFC/g)



5J (Ext 0% /  $10^{-4}$  UFC/g)



5J (Ext 20% /  $10^{-4}$  UFC/g)



9J (Ext 0% /  $10^{-3}$  UFC/g)



9J (Ext 60% /  $10^{-3}$  UFC/g)

# ANNEX 1

## CTT



1J (Ext 20% /  $10^{-2}$  UFC/g)



1J (Ext 40% /  $10^{-2}$  UFC/g)



3J (Ext 0% /  $10^{-2}$  UFC/g)



3J (Ext 100% /  $10^{-2}$  UFC/g)



5J (Ext 0% /  $10^{-4}$  UFC/g)



5J (Ext 20% /  $10^{-4}$  UFC/g)

## Pseudomonas



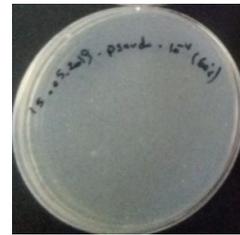
1J (Ext 0% /  $10^{-2}$  UFC/g)



1J (Ext 80% /  $10^{-2}$  UFC/g)



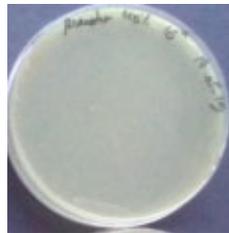
5J (Ext 0% /  $10^{-4}$  UFC/g)



5J (Ext 60% /  $10^{-4}$ )



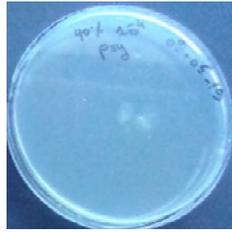
9J (Ext 0% /  $10^{-4}$  UFC/g)



9J (Ext 40% /  $10^{-4}$  UFC/g)

## ANNEX 1

### Psychrotrophes



1J (Ext 0% /  $10^{-3}$  UFC/g)

1J (Ext 40% /  $10^{-4}$  UFC/g)

3J (Ext 0% /  $10^{-2}$  UFC/g)

3J (Ext 100% /  $10^{-2}$  UFC/g)



9J (Ext 0% /  $10^{-4}$  UFC/g)

9J (Ext 80% /  $10^{-4}$  UFC/g)

### Résultat des tests de confirmation

#### 1-Test de catalase



9J (Ext 0% /  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  UFC/g)

#### 2-Test de coagulase



9J (Ext 0% /  $10^{-3}$  UFC/g)

### Test de recherche d'E coli

