



DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présentées par

M<sup>lle</sup>. ABBASSA Sara et M<sup>lle</sup>. MOHAMED KARROUBI Soumia

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

**Spécialité: AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE**

THÈME

**L'effet antibactérien de la poudre de *Rosmarinus officinalis.l* sur la conservation de la viande bovine hachée à 4°C.**

Soutenue publiquement le 26/09/2023.

DEVANT LE JURY

Président :	M. AIT SAADA Djamel	MCA	U. Mostaganem
Encadreur :	Mme. BENMAHDI Faiza	MCA	U. Mostaganem
Examineur :	Mme. AIT CHABANE Ouiza	MCA	U. Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire de microbiologies N° 01 de la faculté SNV, et le laboratoire de recherche de Technologie Alimentaire et Nutrition et physiologies animal appliquée*

2022/2023



## Remerciement

*On veut exprimer par ces quelques lignes de remerciements, notre gratitude envers tous ceux, qui par leurs présences, leurs soutiens, et leurs disponibilités, nous ont permis de réaliser ce travail.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement du **Mme. BENMAHDI Faiza**, maitre de conférences classe A à l'université de Mostaganem, nous avons eu l'honneur d'être parmi vos étudiants et de bénéficier de votre riche connaissance. Votre gentillesse, et votre disponibilité permanente ont toujours suscité notre admiration. Veuillez bien madame recevoir nos remerciements pour le grand honneur que vous nous avez fait d'accepter l'encadrement de ce travail. Votre compétence, votre encadrement ont toujours suscité notre profond respect, nous vous remercions pour votre accueil et vos conseils.*

*Nous remercions particulièrement **Mr. AIT SAADA Djamel**, maitre de conférences classe A à l'université de Mostaganem, qui nous fait l'honneur de présider ce jury, ainsi que **Mme. AIT CHABANE Ouiza**, maitre de conférences classe A à l'université de Mostaganem, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement, tous nos proches et tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont apporté leurs sollicitudes pour accomplir ce travail, et sont s'oublier toute l'équipe de groupe de laboratoire de recherche Technologie Alimentaire et Nutrition de **Mr. AIT SAADA Djamel** et laboratoire de physiologies animal appliquée de **Mr .BENABDELMOUMENE Djilali**, maitre de conférences classe A à l'université de Mostaganem, pour toutes les informations qui nous a fourni.*

*Nous présentons notre profonde gratitude et reconnaissance à nous chers parents pour leurs chaleureux encouragements, leurs sacrifices inestimables et leur grande confiance Finalement, nos vifs remerciements vont à toute Personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

## Dédicace

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :*

*A mes parents : **Papa, Maman** qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel, je vous remercie pour toute la patience, l'encouragement, le soutien, l'amour et sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.*

*A mon frère **MOHANNED**, ma sœur **HADJER**, mes tantes **YAMINA, ZOUBIDA, SULTANA** et **HADJA**, mes oncles **MOHAMMED, BOUASRI** et **MAHIADDDINE** mon cousin et mes cousines et toute ma famille du plus grande au plus petit.*

*À toutes ma famille paternelle **ABBASSA** et maternelle **BENSAADA***

*A mes amies **ZOULIKHA, KHEIRA, IKRAME, ASMA** et **HOUDA**.*

*A mes professeurs qui m'aide dans mon parcours et mes chers collègues.*

*A tout qui m'aide pour compiler ce modeste travail.*

*En fin je remercie mon binôme **SOUMIA** qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.*

**SARRA**



## Dédicace

*Après 18 ans d'étude*

*Et avec une grande fierté que je dédie ce modeste travail :*

*À ceux qui m'ont fait voir le bon côté des choses quand je ne voyais seulement le pire, à ceux qui m'ont soutenu depuis l'enfance pour arriver à ce qu'ils n'ont pas pu réaliser à leur époque **mes précieux parents**, ma plus grande force dans la vie, pour qui aucune dédicace ne saurait leur rendre hommage.*

*À mes chers frères **AMINE** et **YACINE** pour leur amour, leur confiance et pour tout ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieu les bénisse.*

*À mes **grands-parents**, **mes oncles**, **mes tantes**, **mes cousines** et **cousins**.*

*À **mon binôme SARA** qui m'a aidé à la réalisation de ce modeste travail.*

*À Tous ceux qui me sont chers de près ou de loin.*

**SOUMIA**



## **Liste des abréviations**

**PPA** : la peste porcine africaine.

**FTAM** : Flore aérobie mésophile aérobie total.

**OCDE** : Organisation de coopération et de développement économiques.

**FAO** : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**ISO** : Organisation internationale de normalisation.

**P.M** : Post mortem.

## Liste des figures

<b>Figure. 01</b> Production de viande porcine, ovine dans le monde.....	04
<b>Figure. 02</b> Production de viande bovine, ovine dans le monde.....	04
<b>Figure. 03</b> Consommation de viande par habitant : hausse continue de la volaille et recul de la viande bovine.....	05
<b>Figure. 04</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
<b>Figure. 05</b> la plante <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	17
<b>Figure. 06</b> Feuille de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	18
<b>Figure. 07</b> Représentation morphologique des fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	18
<b>Figure. 08</b> Aspect morphologique du fruit de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	18
<b>Figure. 09</b> Carte de répartition géographique de la plante de romarin.....	26
<b>Figure. 10</b> la poudre de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	27
<b>Figure. 11</b> Dosage de polyphénols totaux.....	28
<b>Figure. 12</b> Préparation de la suspension mère.....	29
<b>Figure. 13</b> Préparation des dilutions décimales.....	30
<b>Figure. 14</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	33
<b>Figure. 15</b> Les coliformes fécaux.....	35
<b>Figure. 16</b> Les coliformes totaux.....	35
<b>Figure. 17</b> La FTAM.....	36
<b>Figure. 18</b> Les <i>Staphylococcus aureus</i> .....	36
<b>Figure. 19</b> Les psychotrophes.....	36
<b>Figure. 20</b> Test de catalase.....	36
<b>Figure. 21</b> Test de coagulase.....	36

<b>Figure. 22</b>	Aspect macroscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	37
<b>Figure. 23</b>	Aspect macroscopique de Flores FTAM. ....	37
<b>Figure. 24</b>	Aspect macroscopique de Flores psychotrophes.....	38
<b>Figure. 25</b>	Aspect macroscopique de coliformes fécaux.....	38
<b>Figure. 26</b>	Aspect macroscopique de coliformes totaux. ....	38
<b>Figure. 27</b>	Observation microscopiques (Objectif X100) coliformes fécaux. ....	39
<b>Figure. 28</b>	Observation microscopiques (Objectif X100) coliformes fécaux.....	39
<b>Figure. 29</b>	Observation microscopiques (Objectif X100) FTAM. ....	39
<b>Figure. 30</b>	Observation microscopiques (Objectif X100) <i>Staphylococcus aureus</i> .....	39
<b>Figure. 31</b>	Observation microscopiques (Objectif X100) Flores psychotrophes. ....	39

## Liste des tableaux

<b>Tableau. 01</b>	Composition biochimique moyenne de la viande rouge. ....	06
<b>Tableau. 02</b>	Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> ....	19
<b>Tableau. 03</b>	Les noms communs de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	19
<b>Tableau. 04</b>	la composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> . ....	20
<b>Tableau. 05</b>	Produits et appareils utilisés au laboratoire. ....	27
<b>Tableau. 06</b>	Effet d'ajout de la poudre de romarin sur la prolifération des germes recherchés (UFC/g) dans la viande hachée au cours de la conservation au froid à 4°C. ....	35
<b>Tableau. 07</b>	Aspect macroscopique des bactéries étudiées. ....	37
<b>Tableau. 08</b>	Caractéristiques microscopiques des bactéries.....	38

## Résumé

Cette étude consiste à suivre l'effet antibactérien de la poudre des feuilles de *Rosmarinus officinalis* récoltés à Ain Tedles sur cinq souches (*Staphylococcus aureus*, Flore aérobie mésophile totale (FTAM), Coliformes fécaux et totaux, et flore Psychotropes) de la viande hachée bovine de la race charolaise provenant de la boucherie de Mostaganem au cours de conservation au froid à 4°C pendant 24H / 72H. La poudre obtenue après broyage et stérilisation par UV a été pesée et divisée en 5 concentrations (20, 40, 60, 80 et 100%) et additionnée aux échantillons de 150g de viande hachée en double essais. D'après les résultats obtenus, le dosage quantitatif de polyphénol total par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé la richesse du romarin en polyphénols ( $380,70 \pm 2,77$  mg EAG/g d'EBr). La poudre de romarin présente une activité antibactérienne intéressante hautement significative ( $P < 0,01$ ) contre les Coliformes fécaux et la Flore Psychotropes par contre on n'a pas constaté un effet antibactérien ( $P > 0,05$ ) sur *Staphylococcus aureus*, Flore aérobie mésophile totale, Coliformes totaux. Finalement, nous constatant que les résultats obtenus durant cette étude montrent que la poudre de romarin a un effet antibactérien intéressant sur certaines germes par rapport aux d'autres, cette variance est liée à la qualité ou bien à la résistance des bactéries.

**Mots-clés** : *Rosmarinus officinalis*, boeuf haché, activité antibactérienne, poudre de romarin, germes, contamination.

## **Abstract**

This study consists in following the antibacterial effect of the *Rosmarinus officinalis* powder grown in Ain Tedles garden on five germs (*Staphylococcus aureus*, Total mesophilic aerobic flora (FTAM), Fecal and Total Coliforms, and Psychotropic flora) contamination of minced meat of bovine thigh of the Charolais breed from the butchery of the city center of Mostaganem during cold storage at 4°C during 72 hours. The powder obtained after grinding and UV sterilization was weighed and divided into 5 concentrations (20, 40, 60, 80 and 100%) and added to the 150g samples of minced meat in double tests. Based on the results obtained, the quantitative determination of total polyphenol by the Folin-Ciocalteu method revealed the richness of rosemary in polyphenols ( $380,70 \pm 2,77$ mg EAG/ g EBr). Rosemary powder has an anti bacterial activity interest Hautmont significant (P 0.01) against Fecal Coliforms and Psychotropic flora on the other hand there is no anti bacterial effect (P 0.05) on *Staphylococcus aureus* germs, Total mesophilic aerobic flora, Total Coliforms. Finally, noting that the results obtained during this study show that rosemary powder has a strong anti-bacterial effect on Fecal Coliforms and Psychotropic flora on the other hand, we did not notice a great effect on the germs of *Staphylococcus aureus*, Total mesophilic aerobic flora, Total Coliforms so this variance can be linked to the quality of the meat studied or on the resistance of bacteria.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis*, ground beef, antibacterial activity, rosemary powder, germs, contamination.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى مراقبة التأثير المضاد للجراثيم لمسحوق أوراق نبات *Rosmarinus officinalis* المجمعة في عين تدلس على خمس سلالات (المكورات العنقودية الذهبية، البكتيريا الهوائية المتوسطة (FTAM)، القولونيات البرازية والكلية، والبكتيريا ذات المؤثرات العقلية) في لحم البقر المفروم من سلالة شاروليه. جازرة مستغانم أثناء التخزين البارد عند درجة حرارة 4 درجات مئوية لمدة 24 ساعة / 72 ساعة. تم وزن المسحوق الناتج بعد الطحن والتعقيم بالأشعة فوق البنفسجية وتقسيمه إلى 5 تراكيز (20، 40، 60، 80 و100%) وإضافته إلى عينات 150 جرام من اللحم المفروم في اختبارات مزدوجة. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، كشف التحديد الكمي للبوليفينول الكلي بطريقة Folin-Ciocalteu عن ثراء إكليل الجبل في البوليفينول ( $2.77 \pm 380.70$  مجم EAG/g من EBR). يمتلك مسحوق إكليل الجبل نشاطاً مضاداً للجراثيم مثيراً للاهتمام وهاماً للغاية ( $P < 0.01$ ) ضد القولونيات البرازية والنباتات ذات المؤثرات العقلية، ومع ذلك لم نلاحظ تأثيراً مضاداً للبكتيريا ( $P > 0.05$ ) على المكورات العنقودية الذهبية، والنباتات الهوائية المتوسطة الكلية، والقولونيات الكلية. وأخيراً، نلاحظ أن النتائج التي تم الحصول عليها خلال هذه الدراسة تظهر أن مسحوق إكليل الجبل له تأثير مضاد للجراثيم مثير للاهتمام على بعض الجراثيم مقارنة بأخرى، ويرتبط هذا التباين بنوعية البكتيريا أو مقاومتها.

**الكلمات المفتاحية:** إكليل الجبل المخزني، لحم البقر المفروم، النشاط المضاد للبكتيريا، مسحوق إكليل الجبل، الجراثيم، التلوث.

## **Table des Matières**

Remerciements.	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction générale .....	01

### **Partie 01 : Etude bibliographiques.**

#### **Chapitre I: Généralités sur la viande.**

1. la viande .....	03
1.1. Production de la viande dans le monde .....	03
1.2. Consommations de la viande dans le monde .....	05
2. Définition de la viande .....	06
3. La composition de la viande.....	06
4. Transformation du muscle en viande .....	06
4.1. Etat vivant .....	07
4.2. Etat pantelante.....	07
4.3. Etat rigidité cadavérique .....	07
4.4. Etat maturation .....	07
5. Les différents types des viandes .....	08
6. Les qualités de la viande .....	08
6.1. La qualité nutritionnelle .....	08
6.2. La qualité hygiénique.....	08
6.3. La qualité technologique.....	09
6.4. La qualité organoleptique .....	09
6.4.1. La couleur .....	09
6.4.2. La tendreté .....	09
6.4.3. La flaveur .....	09
7. Les méthodes de conservation des viandes .....	10
7.1. La réfrigération .....	10
7.2. La congélation.....	10

7.3. Le salage.....	11
7.4. Les additifs alimentaires .....	11
8. La viande hachée .....	11
8.1. La définition de la viande hachée .....	11
8.2. L'opération d'hachage de la viande hachée .....	11
9. Incidence du hachage sur la contamination .....	12
10. Les facteurs D'altération de la viande .....	13
10.1. L'activité de l'eau .....	13
10.2. Le pH .....	13
10.3. La température .....	13
10.4. Le potentiel d'oxydoréduction (Rh) .....	14
11. Flore bactérienne de la viande .....	14
11.1. FTAM.....	14
11.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
11.3. Coliformes totaux et fécaux .....	15
11.4. psychotrophes .....	15

## **Chapitre II: la plante *Rosmarinus officinalis.L.***

1. Introduction .....	17
2. Définition de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	17
3. Description botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	17
4. Classification botanique .....	19
5. Nomenclature de la plante .....	19
6. Répartition géographique .....	20
7. Composition chimique .....	20
8. L'activité biologique de romarin .....	20
9. Utilisation de romarin .....	21
9.1. Usage agroalimentaire.....	21
9.2. Usage culinaire.....	22
9.3. Usage médicinale .....	22
9.4. Usage cosmétique .....	22
10. Métabolite secondaire .....	23
11. Les activités biologiques des polyphénols .....	25

## **Partie 02 : Etude expérimentale**

### **Chapitre II : Matériel & Méthodes**

1. Site et période d'étude .....	26
2. L'objectif .....	26
3. Matériel végétal .....	26
3.1. La récolte de la plante .....	26
3.2. Séchage de la plante .....	26
3.3. Broyage du plant sèche .....	26
4. Matériel et les produits .....	27
5. L'analyse biochimique .....	27
5.1. Macération à l'éthanol .....	27
5.2. Dosage des polyphénols .....	28
6. Matériel biologique .....	29
6.1. Conservation et traitement de la viande .....	29
7. Analyse microbiologique.....	29
7.1. Préparation de la suspension mère et les dilutions décimales .....	29
7.1.1. Préparation de la suspension mère .....	29
7.1.2. Préparation des dilutions décimales.....	30
7.1.3. Ensemencement et incubation .....	30
7.2. Méthodes de dénombrement et de la recherche des germes .....	30
7.2.1. Flore mésophile aérobie totale (FTAM).....	30
7.2.2. Coliformes totaux et fécaux .....	31
7.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
7.2.4. Flores psychrotrophes .....	31
7.2.5. Test de confirmation .....	31
5.1. Teste de catalase .....	31
5.2. Teste de coagulase .....	31
8. Observation des bactéries .....	32
8.1. L'aspect macroscopique.....	32
8.2. L'aspect microscopique .....	32

## **Chapitre IV : Résultats et discussion**

<b>Résultats</b> .....	33
1. Dosage des polyphénols .....	33
2. Dénombrement des bactéries .....	33
3. Test de confirmation .....	36
3.2. Test de coagulase .....	36
3.1. Test de catalase .....	36
4. Observation des bactéries .....	37
4.1. L'aspect macroscopique .....	37
4.1. L'aspect microscopique (Coloration de Gram) .....	38
<b>Discussion</b> .....	40
<b>Conclusion</b> .....	43
<b>Références bibliographiques</b> .....	44
<b>Annexes</b>	

# *Introduction*

## Introduction

## Introduction

La viande est un aliment de valeur, elle est parmi les aliments les plus consommés. Depuis des milliers d'années. C'est un aliment caractérisé par un goût et une valeur nutritionnelle importante et une source de protéines, de vitamines et de fer (**Dupin, 1992**). D'ailleurs, ce sont les composants essentiels pour la santé de l'homme.

La viande étant une denrée périssable, elle a été traditionnellement considérée comme le véhicule de nombreuses maladies d'origine alimentaire chez l'homme (**Fosse et al., 2006**). Sa composition en eau et en protéines de haute valeur biologique fait qu'elle est une niche très favorable au développement des microorganismes (**Benaissa, 2011**). De même, la transformation de l'animal vivant en carcasse puis en viande s'accompagne généralement d'une contamination de microbes au cours du procédé (**Cartier, 2004**).

La préservation de la qualité des viandes contre la contamination microbienne est une opération nécessaire (**Cheftel et al., 1980**). Cette préservation garantit que la qualité, la valeur nutritive et la comestibilité de la viande restent intactes. Il convient de noter que les procédés modernes de conservation de la viande ne font pas appel à une unique technique de conservation.

Les nitrites et les nitrates, utilisés comme agents de conservation et colorants dans la viande, ont été associés à la leucémie, au cancer du côlon, au cancer de la vessie et à d'autres (**Iarc working group, 2010 ; Lee et Paik, 2016 ; Crowe et al., 2019**). L'acide sorbique, l'acide benzoïque et leurs sels favorisent les composés mutagènes et cancérigènes (**Piper et Piper, 2017 ; Chaleshtori et al., 2018**).

Par conséquent, les fabricants de viande et les chercheurs ont commencé à envisager l'utilisation des agents et des conservateurs antimicrobiens naturels des plantes plutôt que synthétiques (**Cheftel et al., 1980 ; Asioli et al., 2017**).

Parmi ces agents naturels on cite le romarin qui a été utilisé depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle grâce à ses propriétés antiseptiques (**Juhas et al., 2009**), antirhumatismale (**Makino et al., 2000**), anti-inflammatoire (**Juhas et al., 2009 ; Beninca et al., 2011**), antimicrobienne et anti hépatotoxique (**Stefanovits-Banyai et al., 2003**). Et soutenue par son activité anti-oxydante très élevée (**Wang et al., 2008**).

## **Introduction**

Il 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 la présente étude est d'étudier l'effet de la poudre de romarin (*Rosmarinus officinalis*) incorporé dans la viande hachée bovine au cours d'une conservation au froid de 4°C sur la croissance de certains germes de prolifération et contamination microbiennes pour éviter l'utilisation des produit chimique comme le nitrite et nitrates qui sont néfastes pour la santé et les remplacés par un agent naturel de conservation (*Rosmarinus officinalis*).

# *Partie bibliographique*

# **Chapitre I**

## ***Généralité sur la viande***

## 1. la viande

### 1.1. Production de la viande

D'après les projections, la production mondiale de viande aura gonflé de près de 44 Mt en 2030 pour s'élever à 373 Mt dans un contexte de rentabilité accrue. La très grande partie de cette croissance interviendra dans les régions en développement. Cette croissance est essentiellement tirée par la viande de volaille, quoique plus lentement qu'au cours des dix dernières années écoulées. Comptant sur des rapports entre les prix de la viande et de l'alimentation animale plus favorables que les filières des ruminants ainsi que sur un cycle de production plus court. La production montera en flèche, du fait de la persistance des gains de productivité enregistrés en Chine, au Brésil et aux États-Unis, mais aussi des investissements réalisés dans les pays de l'Union européenne. Un boom est attendu en Asie, où la baisse de la consommation de viande porcine observée à court terme bénéficiera à la viande de volaille à moyen terme (**OCDE et FAO, 2021**).

En 2030, 75 Mt de tonnes de viande bovine seront produites, soit seulement 5.8 % de plus qu'au cours de la période de référence. Cette progression lente tient à la demande en baisse, du fait de l'intérêt grandissant des consommateurs pour la viande de volaille. C'est en Afrique subsaharienne, où la croissance démographique est forte, que la production de viande bovine se développera le plus. Sa progression sera plus modeste dans les grandes régions productrices et exportatrices. Il est prévu qu'elle gonfle de 6 % en Amérique du Nord, première région productrice, et qu'elle fonde de 5 % en Europe. En Australie, l'offre de viande bovine restera limitée. En Inde, un effondrement de la production de viande bovine de l'ordre de 33 % est attendu pour 2030. Autrement dit, durant les premières années de la période couverte par les présentes Perspectives, la production de viande bovine résultera moins d'une hausse du nombre des animaux abattus que d'une efficacité accrue, sauf cas de sécheresse grave (**OCDE et FAO, 2021**).

L'accroissement de la production de viande ovine concernera majoritairement l'Asie, en particulier la Chine, le Pakistan et l'Inde, mais des poussées non négligeables seront également observées en Afrique, et particulièrement dans les pays les moins avancés d'Afrique subsaharienne. En Océanie, la production devrait croître modérément du fait que les bovins à viande et laitiers ont eux aussi besoin d'accéder aux zones de pâturage en Nouvelle-Zélande – premier pays exportateur – et que la sécheresse extrême et prolongée a ramené le nombre total d'ovins de 72 à 63 millions entre 2017 et 2020 en Australie. Dans

## Chapitre I : Généralité sur la viande

l'Union européenne, la production de viande ovine devrait rester stable grâce au dispositif facultatif d'aide couplée dont les principaux États membre producteurs se sont dotés (OCDE/FAO, 2021).

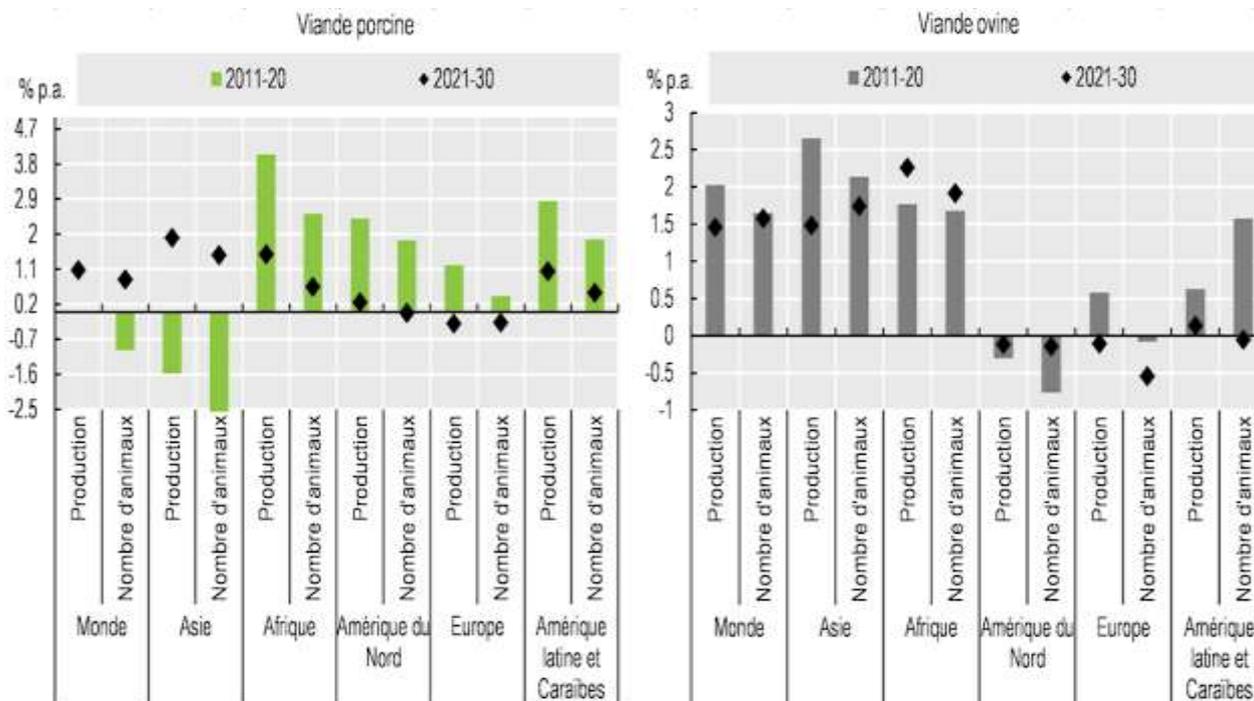


Figure. 01 Production de viande porcine, ovine dans le monde (OCDE et FAO, 2021).

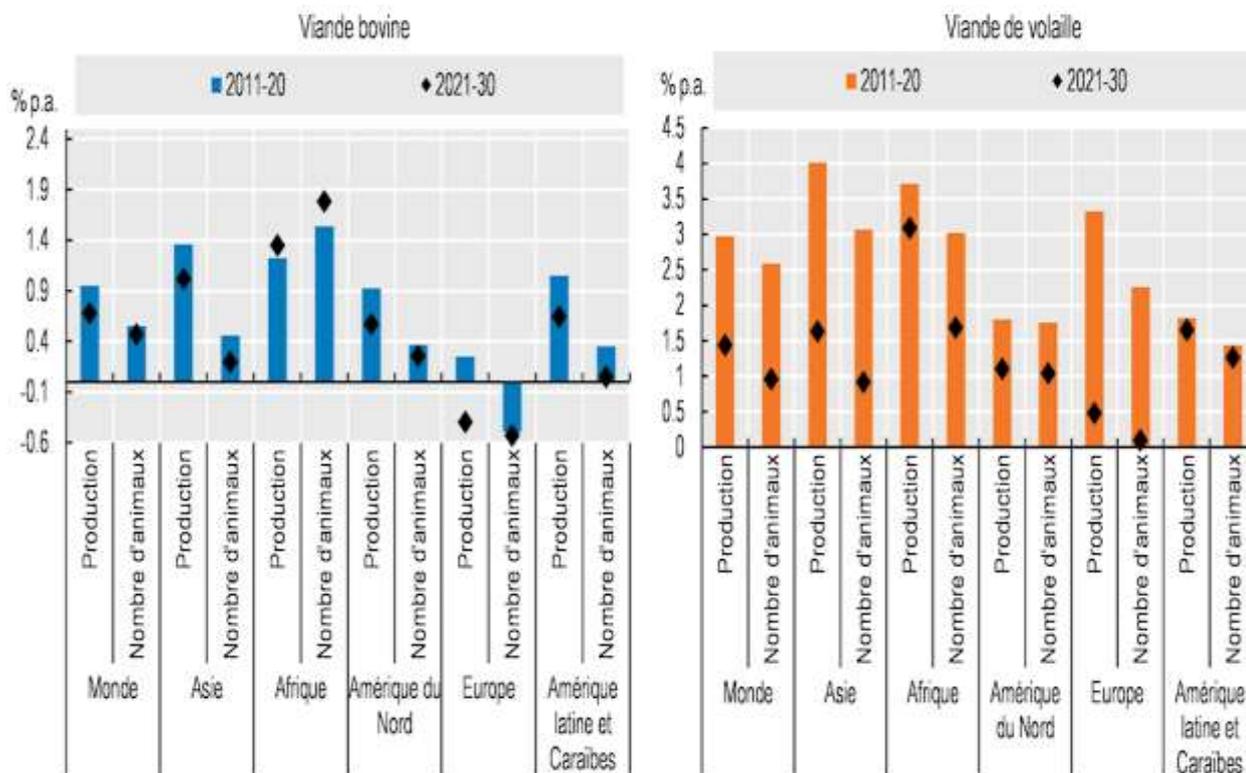


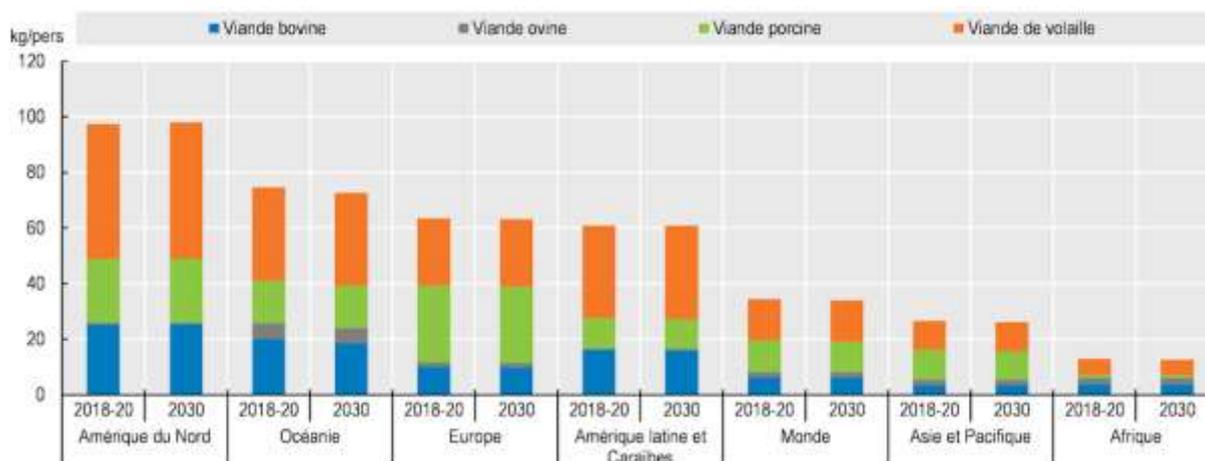
Figure. 02 Production de viande bovine, ovine dans le monde (OCDF et FAO, 2021).

## 1.2. Consommation de la viande

À l'échelle mondiale, la consommation de viande bovine par habitant, en baisse depuis 2007, devrait se tasser de 5 % supplémentaires d'ici à 2030. L'Asie-Pacifique est la seule région dans laquelle une hausse est attendue au cours de la période étudiée, quoiqu'elle parte d'un niveau bas (OCDE et FAO, 2021).

La Chine, deuxième plus grand consommateur mondial de viande bovine en valeur absolue, verra sa consommation par habitant s'amplifier de 8 % d'ici à 2030, contre 35 % au cours de la décennie précédente. En revanche, la viande bovine perdra du terrain au profit de la viande de volaille dans la plupart des pays où sa consommation par habitant est élevée. Ainsi, dans les Amériques, où elle est particulièrement prisée, ce sera le cas en Argentine (-7 %), au Brésil (-6 %), aux États-Unis (-1 %) et au Canada (-7 %). Un effondrement de la consommation de viande bovine est également attendu en Australie et en Nouvelle-Zélande. S'agissant de la viande ovine – peu présente dans certains pays et aliment de luxe dans beaucoup d'autres –, la consommation mondiale devrait, à la fin de la période étudiée, s'élever à 18 Mt et représenter 6 % du surcroît de consommation de viande (OCDE et FAO, 2021).

La quantité consommée par habitant est comparable dans les pays développés et en développement. Dans de nombreux pays du Proche-Orient et d'Afrique du Nord (région NENA), où ce produit est courant, la consommation par habitant devrait continuer à diminuer durablement au profit de la volaille. La hausse de la demande dans cette région est liée au marché du pétrole, qui a une influence considérable sur le revenu disponible de la classe moyenne et sur la structure des dépenses publiques (OCDE/FAO, 2021).



**Figure. 03 Consommation de viande par habitant : hausse continue de la volaille et recul de la viande bovine (OCDE et FAO 2021).**

## 2. La définition de la viande

Selon l'organisation mondiale de la santé animale, la viande désigne toutes les parties comestibles d'un animal et considère le mot « animal », dans ce contexte « tout mammifère ou oiseau ». Dans ce vocabulaire sont incluses la chair des mammifères (Ovin, bovin, caprin, camelin ...) et des oiseaux (poulet, dinde, pintade). La viande est le muscle strié : sous ce terme, on rassemble les muscles squelettiques et cardiaques, qui forment en moyenne 35% de poids d'un animal ( **Jeantet *et al.*, 2006**).

La viande, obtenue après la mise à mort des mammifères domestiques, est le produit de l'évolution post mortem du muscle strié (**Dumont et Valin, 1982**).

## 3. La composition de la viande

La composition globale des muscles est variable suivant les animaux. Elle est aussi variable selon les différents muscles d'un même animale. On peut toutefois retenir par ordre de grandeur la composition moyenne dans le tableau suivant :

**Tableau. 01** Composition biochimique moyenne la viande rouge (**Coibion, 2008**).

<b>Composants</b>	<b>Pourcentage %</b>
<b>Eau</b>	75 - 80 %
<b>Protéines</b>	15- 20%
<b>Substances azotées non protéiques</b>	10%
<b>Lipides</b>	3%
<b>Glycogène</b>	1%
<b>Sels minéraux</b>	1%

## 4. Transformation du muscle en viande

Après la mort le muscle est le siège de transformations qui conditionne largement les qualités finales de la viande dont l'évolution qui passe par trois phases :

La phase de pantelante, rigidité cadavérique et maturation (**Coibion, 2008**).

**4.1. État vivant**

Le muscle correspond à un terme anatomique définissant une partie précise d'un organisme (**Craplet, 1966**). Il est composé de cellules hautement 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**).

**4.2. État de pantelant**

La phase pantelante suit directement l'abattage. Le muscle continue de vivre. Il y a donc épuisement des réserves énergétiques (glycogène), puis une mise en place de la glycolyse anaérobie. L'accumulation d'acide lactique qui s'en suit provoque ainsi une baisse du pH qui passe de 7 à 5.5 (**Ouali, 1991 ; Coibion, 2008**).

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

Le temps d'apparition de la rigidité cadavérique dépend de facteurs extrinsèques, ils sont liés à l'animal, il s'agit de l'espèce, l'âge, la région de la carcasse et de l'état de l'animal. Et les facteurs extrinsèques qui sont liés à la température d'entreposage, plus la température est élevée plus vite la rigidité cadavérique s'installe, un abaissement rapide de la température du muscle vers 0°C provoque son durcissement (**Alias et Linden, 1997**).

**4.4. Etat rassis (Phase de la maturation)**

La phase maturation est la phase d'évolution "post mortem" survenant après l'installation de la rigidité cadavérique (**Shackelford et al., 1991; Coibion, 2008**).

La maturation est le résultat de l'action des protéases musculaires, et cela dès l'abattage, mais leurs effets sont masqués par la rigormortis. Le système protéolytique dégrade les protéines myofibrillaires et celles du cytosquelette (**Guillemin et al., 2009**). La

## Chapitre I : Généralité sur la viande

durée de maturation dépend de la température de conservation. A +2°C, la viande est mure après 3 semaines; à +6°C, en une semaine et en 2 jours à +15°C (Staron, 1982; Alias *et al.*, 1997)

### 5. Type de viande

1. Viandes rouges : bœuf, cheval, canard (magret) et mouton.
2. Viandes blanches : certaines volailles, lapin, veau et porc.
3. Viandes noires : gibier.
4. Viandes de brousse : La « viande de brousse » est le nom donné à la viande d'animaux sauvages (Benabdelmoumene, 2016).

### 6. Les qualités de la viande

La qualité selon la norme **ISO 8402** est définie comme l'ensemble des propriétés d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites.

En d'autres termes, la qualité est la satisfaction du client ou de l'utilisateur. Pour la viande, sa qualité peut être définie par un certain nombre de caractéristiques (Coibion, 2008).

#### 6.1. Qualité nutritionnelle

La qualité nutritionnelle de la viande correspond à sa capacité à satisfaire les besoins nutritionnels de l'Homme (Lebret et Picard, 2015). La viande est un élément qui apporte de nombreux nutriments indispensables à une alimentation équilibrée, sa qualité se rapporte à sa composition nutritionnelle qui inclut sa valeur énergétique et sa composition en macro et micronutriments (lipides, glucides, vitamines, oligoéléments, sels minéraux) (Bouvier *et al.*, 2006).

#### 6.2. La qualité hygiénique

Cette qualité est primordiale, elle correspond à l'absence de microorganismes pathogènes ou de toxines qu'ils peuvent produire ainsi que les résidus alimentaires ou médicamenteux dans les viandes (Frayse et Darre, 1990 ; Lebret, 2004). La qualité hygiénique de la viande fait donc appel à la maîtrise des dangers chimiques, biologiques et physiques depuis les étapes de l'élevage de l'animal jusqu'à la consommation en passant

## **Chapitre I : Généralité sur la viande**

par les processus d'abattage, de transformation et de distribution de l'aliment (**Dognon et al., 2018**).

### **6.3. La qualité technologique**

La qualité technologique de la viande correspond à son aptitude à être transformée en produits cuits ou crus, entiers ou divisés, Les indicateurs de qualité technologique (vitesse et amplitude de chute du pH post-mortem, perte en eau, couleur, déstructuration des viandes...) peuvent être affectés par les conditions d'élevage des animaux qui influencent les propriétés musculaires, en particulier le niveau des réserves énergétiques (glycogène notamment) et le métabolisme péri- et p.m. (**Lebret et al., 2015**).

### **6.4. La qualité organoleptique**

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 et Moëvi, 2007**).

#### **6.4.1. La couleur**

La couleur est la première caractéristique perçue par le consommateur. Elle dépend de la fraîcheur de l'aliment. Le principal pigment responsable de la couleur de la viande est la myoglobine qui est une chromoprotéine. Au contact de l'air, la myoglobine se combine avec l'oxygène formant ainsi l'oxymyoglobine de couleur rouge vif, (**Coibion, 2008**).

#### **6.4.2. La tendreté**

La tendreté est la facilité avec laquelle la viande est coupée et broyée au cours de la mastication (**Virling, 2003**). Elle joue un rôle important dans l'acceptabilité de la viande par le consommateur (**Rosset, 1982**). Souvent représente un critère de qualité, mais elle peut varier beaucoup d'un morceau à l'autre et dépend essentiellement : le collagène du tissu conjonctif et les protéines myofibrillaires des fibres musculaires (**Lamoise et al., 1984 ; Coibion, 2008**).

#### **6.4.3. La flaveur**

La flaveur 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

## Chapitre I : Généralité sur la viande

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**).

### 6.4.4. La 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. (**Micol et al., 2010**).

## 7. La conservation de la viande

### 7.1. La réfrigération

La réfrigération correspond à une conservation par le froid positif pendant une durée limitée puisque les produits réfrigérés bénéficient d'une date limite de consommation (**DLC**) (**Emilie, 2009**). Généralement, la température de réfrigération se situe dans les alentours de 0°C à 4°C.

Il existe trois règles fondamentales à respecter dans l'application de froid:

- ✓ La réfrigération doit s'appliquer à des aliments sains au départ.
- ✓ Le refroidissement doit être fait le plus tôt possible.
- ✓ La réfrigération doit être continue tout au long de la filière de distribution: la chaîne de froid ne doit pas être interrompue (**Jean, 2014**).

### 7.2. La congélation

La congélation est une méthode idéale pour conserver les caractéristiques originales de la viande fraîche. La viande contient environ 50 à 75 % d'eau en masse, selon l'espèce, et le processus de congélation transforme la majeure partie de l'eau en glace (**Heinz et Hautzinger, 2007**). L'avantage le plus important de la congélation est la rétention de la plupart de la valeur nutritive de la viande pendant le stockage, avec une très faible perte de nutriments qui se produit dans l'égouttement pendant le processus de décongélation (**Rosmini et al., 2004**).

### **7. 3. Le salage**

La conservation par le sel ou salage consiste à soumettre une denrée alimentaire à l'action du sel soit en le répandant directement à la surface de l'aliment (salage à sec) soit en immergeant le produit dans une solution d'eau salée (saumurage) (Murielle, 2009).

Le (NaCl) inhibe la croissance microbienne en augmentant la pression osmotique et en diminuant l'activité de l'eau dans le microenvironnement (Dave et Ghaly, 2011). Une concentration de 20 % est suffisante pour inhiber de nombreuses levures alimentaires (Praphailong et Fleet, 1997). Les nitrites utilisés dans l'industrie de la conservation de la viande sont toujours sous la forme de sels tels que le nitrite de sodium ou le nitrite de potassium (Jay *et al.* , 2005).

### **7.4. Additifs alimentaires**

Les additifs alimentaires sont des produits chimiques synthétiques ou naturels ajoutés aux aliments pour préserver leur saveur, améliorer leur texture ou leur apparence, ou pour d'autres fonctions technologiques (Tharwa et Bright, 2014).

Les additifs alimentaires sont parmi les produits les plus utilisés dans les aliments en raison de leur faible toxicité. L'utilisation d'additifs alimentaires est soumise à des contrôles stricts, étayés par des études scientifiques pour démontrer leur innocuité pour la santé humaine. Leur utilisation apporte de nombreux avantages, notamment une sécurité accrue et un plus grand choix de produits alimentaires (Tharwa et Bright, 2014).

## **8. La viande hachée**

### **8.1. Définition de la viande hachée**

Les viandes hachées sont définies par le **Reg CE 853/2004** comme « les viandes désossées qui ont été soumises à une opération de hachage en fragment et contenant moins de 1 % de sel ». Les dispositions de **l'annexe VII de l'arrêté du 21 décembre 2009** concernent donc les steaks hachés vendus par les boucheries et les GMS ainsi que les tartares en restaurations commerciale et collective.

### **8.2. Opération de hachage de viande hachée**

Les opérations effectuées, entre la découpe de la carcasse et l'obtention de la viande hachée, doivent se dérouler plus en aval pour écarter le délai entre la préparation et la consommation. Ainsi il y aura moins de risque de prolifération microbienne. C'est

## **Chapitre I : Généralité sur la viande**

pourquoi la boucherie doit toujours éviter de préparer les viandes à l'avance (**Mariam, 2006**).

### **8.2.1. Désossage**

C'est l'extraction des os et des cartilages, il est pratiqué à main nue ou avec un gant métallique de protection qui est en contact avec la viande (**Mariam, 2006**).

### **8.2.2. Séparation des morceaux**

La séparation convient de recommander aux exécutants de manipuler le moins possible les pièces de viande. L'entassement des morceaux sur les tables, dans les bacs et les crochets doit être évité (**Mariam, 2006**).

### **8.2.3. Parage**

Le terme parage désigne plusieurs opérations destinées à améliorer, à des fins commerciales, l'aspect des viandes (**Mariam, 2006**).

### **8.2.4. Dégraissage**

Il se fait L'élimination du gras est totale ou partielle selon les morceaux. Dans la plupart des cas, ce travail est pratiqué manuellement à l'aide d'un couteau à lame flexible. Cette opération réduit la protection naturelle de la viande. Elle doit donc être pratiquée le plus tard possible, juste avant la mise en vente (**Mariam, 2006**).

### **8.2.5. Epluchage**

Cette préparation de viande a pour objet de débarrasser certains muscles de leur aponévrose (**Mariam, 2006**).

### **8.2.6. Hachage**

C'est un prélude à l'élaboration de tous les produits divisés. Il concerne les tissus musculaires et adipeux ainsi que certains organes à l'état frais ou congelé. Cette opération utilise l'énergie mécanique pour désorganiser les structures des tissus par des opérations de tranchage, d'écrasement et de rupture (**Mariam, 2006**).

## **9. Incidence du hachage sur la contamination**

Le hachage entraîne une modification de structure du produit et favorise la contamination des masses musculaires par les germes de surface (**Mescle et Zucca, 1988**).

## Chapitre I : Généralité sur la viande

Ainsi les viandes hachées sont plus sensibles aux altérations microbiennes que les viandes entières. Le niveau de contamination de la viande hachée sont étroitement liées à la qualité de la matière première (**Cartier, 1993**). Par conséquent les contaminations en cours de fabrication ne jouent qu'un rôle secondaire (**Dumont, 1982 ; Bauchart et Aurousseau, 1993**).

Les contaminations par la matière première sont estimées à hauteur de 30 % à 40%, la contamination microbienne des viandes hachées est influencée par celle de la viande et celle des appareils de hachage.

### 10. Les facteurs de multiplication des bactéries de la viande

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**).

#### 10.1. L'activité de l'eau

La viande bovine, contient une teneur moyenne d'eau de 65%. Ces hautes teneurs en eau favorisent la croissance bactérienne. Si l'environnement est chaud, la viande se recouvre d'une fine couche de condensation qui constitue un milieu favorable pour les bactéries et les moisissures (**Brigitte et al., 2005**).

#### 10.2. Le pH

Après abattage, le pH du muscle passe d'un niveau proche de 7,0 dans le muscle vivant, à environ 5,5-5,7 (chez le bovin) dans le muscle de référence, le faux-filet (**Cartier, 2007**).

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 à un pH neutre (7) et par conséquent, elle constitue une denrée très périssable (**Bigitte, 2005**).

#### 10.3. La 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, moins de 0 à 65 °C. Les Psychrophiles (psychotopes) ont une

## **Chapitre I : Généralité sur la viande**

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).

### **10.4. Le 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).

## **11. La 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).

### **11.1. 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. 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 psychotropes (par exemple les bactéries lactiques, *Pseudomonas*, *Listeria*, *Yersinia*) (Ghafir et Daube, 2007).

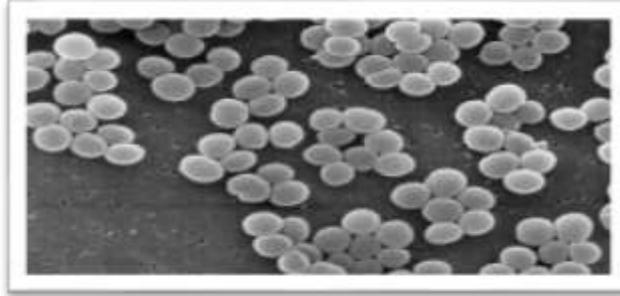
### **11.2. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* est une bactérie Gram-positif, appartenant à la famille des Staphylococaceae capable de produire une toxine. Ce germe est présent en faible nombre, sur l'animal vivant, mesurant 0,5 à 1 µm de diamètre souvent disposés en grappe, non sporulés, coagulase positive (Bailly *et al.*, 2012).

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

## Chapitre I : Généralité sur la viande

°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, il est 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 (**Fosse et al, 2006; Bailly et al, 2012**).



**Figure. 04 Staphylococcus aureus (Matthew et Carr, 2012).**

### 12.3. Coliformes totaux et fécaux

Les coliformes totaux sont des bactéries aérobies ou anaérobies facultatifs, à Gram négatif, non sporulées, en formes de bâtonnets, mobiles ou non (**Cardinal, 2003**). Ces germes possèdent l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 37°C afin de produire des colonies rouges sur un milieu bien approprié. D'un autre côté, Le groupe des coliformes est utilisé depuis la fin du 19<sup>ème</sup> siècle comme indicateur de pollution fécale (**Archibald, 2000**).

Ces coliformes fécaux ou coliformes thermo tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44°C (**Edberg et al., 2000**).

### 12.4. Bactérie psychotrope

Les bactéries psychotropes 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 alimentaire sou 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

## Chapitre I : Généralité sur la viande

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 (**Bornert, 2000**).

## **Chapitre II**

### ***Rosmarinus officinalis***

## 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 recherchées et utilisées dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Haddouchi et Benmansour, 2008).

## 2. Définition du romarin

Le nom du romarin viendrait du latin « *rosmarinus* » (Auguste Scheler, 1862), ou bien du grec « *rhops myrinos* » (Helmut Genaust, 1996). On l'appelle également « herbeaux-couronnes », et en provençal, « encensier » (Huguette et Max, 2008).

C'est un arbrisseau de la famille des Lamiacées (ou labiées), poussant à l'état sauvage sur le pourtour méditerranéen, en particulier dans les garrigues arides et rocailleuses, sur terrains calcaires. Fraîche ou séchée, cette herbe condimentaire se retrouve dans la cuisine méditerranéenne, et une variété améliorée se cultive dans les jardins (Jean-Claude Rameau *et al.*, 2008).

## 3. Description botanique

*Rosmarinus officinalis*, C'est un arbrisseau touffu, rameux, toujours vert, (Bellakhdar, 2006) Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,5 m de hauteur, voire jusqu'à 2 m en culture. Leur odeur, très camphrée, évoque aussi l'encens d'où il doit son nom « encensier » en provençal (Jekka, 2006).



Figure. 05 *Rosmarinus officinalis* (Albert Vieill, 2021)

### 3.1. Les racines

Le système racinaire de la plante est dense et profond ce qui lui permet de puiser l'eau en profondeur pendant les épisodes de sécheresse (Comas *et al.*, 2013 ; Zwicke *et al.*, 2015).

### 3.2. Les feuille

Il est reconnaissable en toute saison par ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, linéaires, entières et enroulées sur les bords, vertes et ponctuées dessus, blanches tomenteuses à la face inférieure (Rameau *et al.*, 2008 ; Jekka, 2006). Beaucoup plus longues que larges, elles pouvant atteindre e 3cm de long et 4mm de large (Pharmacopée-française, 1998 ; Jekka, 2006).



**Figure. 06** Feuille de *Rosmarinus officinalis* (Debuigne et Couplan, 2009).

### 3.4. Les fleurs

Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, bleues pâles à blanchâtres pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales. Elles sont bractées tomenteuses lancéolées (Rameau *et al.*, 2008). La floraison commence dès le mois de février, parfois en janvier, et se poursuit jusqu'en avril-mai. Certaines variétés peuvent fleurir une deuxième fois en début d'automne (Jekka, 2006).



**Figure. 07** Représentation morphologique des fleurs de *Rosmarinus officinalis* (Debuigne et Couplan, 2009).

### 3.5. Les fruits

Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tétrakène. Ce dernier est de couleur brune foncée, lisse et globuleux de 2 à 3 mm de long (Teuscher *et al.*, 2005 ; Jekka, 2006). Chaque akène renferme un embryon sans albumen.



**Figure. 08** Aspect morphologique du fruit de *Rosmarinus officinalis* (Debuigne et Couplan, 2009).

#### 4. Classification systématique

La classification botanique du romarin est comme suit (**Tableau 2**) (**Quezel et Santa, 1963**).

**Tableau. 02** Classification botanique de *Rosmarinus officinalis* L.(**Quezel et Santa, 1963**)

<b>Règne</b>	Plantes
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	Rosmarinus
<b>Espèces</b>	Officinalis

#### 5. Noms vernaculaires

Le romarin possède plusieurs appellations citées dans le tableau (03) en dessous.

**Tableau. 03** Les noms communs de *Rosmarinus officinalis*

<b>Berbère</b>	Azir, iazirou ou yiazir ( <b>Bellakhdar, 2006</b> ).
<b>Arabe</b>	Iklil el jabal ( <b>Ducros, 1930</b> ).
<b>Français</b>	Herbe aux couronnes, romarin des troubadours, rose marine, encensier ( <b>Anton et Lobstein, 2005 ; Garnier et al., 1961</b> ).
<b>Anglais</b>	Rosemary ( <b>El Rhaffari, 2008</b> ).

## 6. Répartition géographique

Le Romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe et est originaire des pays bassin méditerranéen (Larousse, 2013), tels que, l'Italie, l'Espagne, la Tunisie, le Maroc, l'Ex-Yougoslavie, l'Albanie, l'Egypte, le Palestine, la Grèce, le Chypre et jusqu'en Asie mineure, au Portugal, au nord-ouest de l'Espagne (Tutin *et al.*, 1972 ; Davis, 1982 ; Greuter *et al.*, 1986).

En Algérie le romarin s'étale sur une superficie excédant 100 000 hectares (Bensebia *et al.*, 2009).

## 7. Composition chimique

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

**Tableau. 04** la composition chimique de *Rosmarinus officinalis*.

<b>Huile essentiel</b>	1,8 cinéole, alpha-pinène camphre de romarin (Akroum, 2006), camphène ( Rao <i>et al.</i> , 1998).
<b>Flavonoïdes</b>	lutéoline, quercetine ( Akroum, 2008), genkwanine, cirsimaritrine ( Ibañez, 2003) ,ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (Okamura <i>et al.</i> , 1994), apigénine (Yang <i>et al.</i> , 2008).
<b>Diterpènes</b>	Acide carnosolique, rosmadial (Akroum ,2006).
<b>Triterpènes et Stéroïdes</b>	acide aléanolique (Akroum, 2006), acide ursotique (Yang <i>et al.</i> , 2008).
<b>Lipides</b>	n-alkanes, isolalkanes, alkènes (Akroum ,2006).
<b>Acides phénolique</b>	Acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique .Acide rosmarinique, Rosmaricine (Hui, 2010).

## 8. L'activité biologique de romarin

C'est aujourd'hui *Rosmarinus officinalis* est l'une des sources les plus populaires de composés bioactifs naturels, et en fait, ce la plante exerce diverses activités pharmacologiques telles que antibactérienne, antidiabétique, anti-inflammatoire, anti tumorale et antioxydant, entre autres (Andrade *et al.*, 2018).

### 8.1. L'activité antioxydante

La famille des Lamiaceae a été au centre de la recherche sur les composés antioxydants (**Andrade *et al.*, 2018**) grâce à ses propriétés redox élevées des composés phénoliques et à leurs structures chimiques, qui peuvent être responsables de la neutralisation des radicaux libres (**Erkan *et al.*, 2008**).

Il a été démontré que la molécule de carnosol a un fort impact antioxydant en culture cellulaire in vitro, sans cellule et, in vivo, chez les animaux diverses études expérimentales menées à jour (**O'Neill *et al.*, 2020**).

### 8.2. Activité antibactérienne

Les métabolites secondaires des plantes ont un effet pharmacologique sur le traitement des troubles cutanés, pour lesquels ils sont utilisés dans des formulations topiques. À cet égard, l'extrait de romarin a démontré une activité antimicrobienne dans plusieurs cas (**Bernardes *et al.*, 2010 ; Paula *et al.*, 2014 ; Karadağ *et al.*, 2019 ; Zhong *et al.*, 2021**).

### 8.3. Activité anti-inflammatoire

En médecine populaire, le romarin est connu pour ses propriétés thérapeutiques contre les douleurs abdominales et pour le traitement des maladies inflammatoires respiratoires, comme l'asthme bronchique (**Zanella *et al.*, 2012**).

L'activité inflammatoire de l'extrait de *R. officinalis* est attribuée à la présence de carnosol et d'acide carnosique (**Reuter *et al.*, 2007**) et d'acides ursoliques, oléanoliques et micrométriques (**Altinier *et al.*, 2007**).

## 9. Utilisation de romarin

### 9.1. Usages agroalimentaires

Le romarin est utilisé dans l'industrie alimentaire de plusieurs façons, dont l'une est comme agent favorable (**Hussain *et al.*, 2010**). Les propriétés antimicrobiennes des extraits et des feuilles de romarin (y compris ceux dépourvus d'HE) ainsi que l'acide rosmarinique, l'acide carnosolique, le rosmanol et le carnosol sont utilisés dans l'industrie alimentaire. En effet, ils servent d'antioxydant et de conservateur dans les charcuteries, les viandes, les produits alimentaires riches en graisses, les sauces et comme arôme oignon et herbes de

## Chapitre II : *Rosmarinus officinalis*

Provence (Arvy et Gallouin, 2003 ; Wichtl et Anton, 2003 ; Anton et Lobstein, 2005 ; Fernandez *et al.*, 2012 ; Nieto *et al.*, 2018).

### 9.2. Usage culinaire

L'épice et l'huile de romarin sont largement utilisés en alimentation, l'épice est utilisée dans les aliments cuits, viande, les aliments industriels, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0,41% dans les aliments cuits. L'huile est utilisée dans les desserts glacés, confiseries, gélatines (Zoubeidi, 2004) et comme un arôme dans les pâtisseries, les crèmes et les flans (anton et lobstein, 2005).

### 9.3. Usage médicinal

Le romarin est utilisé dans la médecine traditionnelle depuis des âges contre diverses conditions (Satyal *et al.*, 2017). Les branches de la plante ont été utilisées comme tisane afin de bénéficier effets abortifs, stomachiques, carminatifs, chola gogues et antispasmodiques (Soliman *et al.*, 1994).

Il a été utilisé comme cholérétique, diurétique et dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion et flatulence (Wichtl *et al.*, 2003 ; Bruneton, 2009).

### 9.4. Usage Cosmétique

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, les eaux de Cologne, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques des savonneries, détergent, crème, l'eau de toilette, déodorants, lotions et shampooing (Albert et Foste, 1996).

L'huile essentielle du Rose marine est notamment utilisée dans les huiles corporelles et également pour parfumer les produits d'hygiène tels que les dentifrices, les savons... (Faucon, 2012).

## **10. Métabolite secondaire**

### **10.1. Définition**

Les métabolites secondaires sont une vaste gamme d'actifs composés et sont bio synthétiquement dérivés de métabolites primaires. Ils sont plus dans le règne végétal. Ils varient en qualité et quantité pour une espèce végétale donnée dans différents endroits. Ils sont souvent accumulés en petites quantités synthétisés par des types cellulaires spécialisés à des stades de développement (**Jain et al., 2019**).

Les plantes médicinales sont riches en secondaire métabolites, un groupe diversifié de produits chimiques, qui comprennent des alcaloïdes, glycosides, amines, insecticides, stéroïdes, flavonoïdes et métabolites connexes, qui ont été largement utilisés dans la drogue et industrie pharmaceutique (**Santosh et al., 2007**).

### **10.2. Classification et fonctions des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont repartis 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 (**Bruneton, 2009**).

### **10.3. Les Composés phénoliques**

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substance chimique comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants (**Salunkhe, 1990**).

Ils sont des contributeurs clés aux réponses des plantes aux stress biotiques et abiotiques, tels que la protection contre le rayonnement solaire et la robustesse envers les dommages mécaniques et dans la médiation de la défense contre les pathogènes et les herbivores (**La Camera et al., 2004 ; Vogt, 2010 ; Fraser et Chapple, 2011; Hassan et Mathesius, 2012**).

#### **3.1. Les acides phénoliques**

Ce sont des molécules formées d'un squelette à sept atomes de carbone (**Singleton et Timbreuse, 1978**). Ces composés existent principalement sous forme d'acides

## Chapitre II : *Rosmarinus officinalis*

hydroxybenzoïques et d'acides hydroxycinnamiques qui peuvent se produire soit sous leur forme libre ou conjuguée (Martins *et al.*, 2011 ; Garrido et Borges, 2013).

### 3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules formées d'un squelette à 15 atomes de carbones correspondant à la structure du diphenylpropane (Williamson et Scalbert, 2000). Ils ont un faible poids moléculaire, sont présents sous forme de phytonutriments dans l'alimentation humaine et sont omniprésents dans le règne végétal (à ce jour, environ 8000 molécules de flavonoïdes ont été signalées) (Walker *et al.*, 2000).

Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune orange et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005).

### 3.3. Les tanins

Ils constituent le troisième groupe essentiel de composés phénoliques (Mazid *et al.*, 2011). Leur structure complexe est formée d'unité répétitive monomérique qui varie par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992). Ils sont riches en oligos et polymères et peuvent créer des complexes avec des protéines, des minéraux, de la cellulose et de l'amidon (Mazid *et al.*, 2011).

### 3.4. Les coumarins

C'est une classe de composés phénoliques simples consistant en une grande substance phénolique produite par la fusion d'un cycle benzénique et d'anneaux  $\alpha$ -pyrone, sont répandus dans les plantes vasculaires. Elles ont d'abord été signalées dans la fève tonka (*Dipteryx odorata*) puis dans environ 150 espèces différentes de 30 familles (Venugopala *et al.*, 2013).

### 3.5. Les lignines

Après la cellulose, la lignine est le biopolymère le plus abondant sur terre et contribue à environ 30 % du carbone organique dans la biosphère. La lignine est l'un des composants hétéropolymères racémiques complexes de la paroi cellulaire; elle a un poids moléculaire élevé et est produite par le couplage combinatoire oxydatif de trois monomères d'alcool p-hydroxycinnamoyl (les monolignols) (Cesarino *et al.*, 2012).

### 3.6. Les stilbènes

Les stilbènes contiennent deux groupes phényliques reliés par un pont de méthylène à deux carbones. La plupart des stilbènes des plantes agissent comme des phytoalexines antifongiques, des composés qui ne sont synthétisés qu'en réponse à une infection ou une blessure. Le resvératrol (3,4,5-trihydroxystilbène) est l'un des polyphénols stilbènes naturels les mieux étudiés, que l'on trouve surtout dans les raisins (**Adlercreutz et Mazur, 1997**).

## 11. Les activités biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques et interviennent dans la qualité 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**).

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques in vitro (antibactériennes, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques (**Hynes et O'Coinceanainn, 2001**).

Ces substances suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines, celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies. En cosmétologie et surtout dans les industries agroalimentaires par leurs implications, en particulier, sur la saveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits alimentaires (**Hynes et O'Coinceanainn, 2001**).

Ainsi, ils pourraient constituer une alternative à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques, butylhydroxyanisole (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT), qui ont montré des effets nuisibles (effet carcinogène) (**He et al., 2008**).

## **Partie 02**

### ***Matériel et méthodes***

## **1. Site et période d'étude**

La réalisation de cette étude a été faite au niveau de laboratoire de microbiologie N°01 de la faculté SNV, laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition et laboratoire de physiologie animale appliquée de l'université de Mostaganem. Pendant une durée allant du 16 avril jusqu'au 31 mai 2023.

## **2. L'objectif**

L'objectif principal de cette étude consiste à étudier l'effet de la poudre de *Rosmarinus officinalis* sur la qualité microbiologique de la viande hachée bovine au cours de la conservation au froid à 4°C.

## **3. Matériel végétal**

### **3.1. La récolte de la plante**

La présente étude a portée sur l'espèce végétale le Romarin (*R.officinalis*). La plante a été récoltée au cours du mois d'avril 2023 au niveau du jardin (el houria) à Ain Tadles.



**Figure. 9** Carte de répartition géographique de la plante de romarin

### **3.2. 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.

### **3.3. Broyage de la plante sèche**

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

## Matériel et méthodes

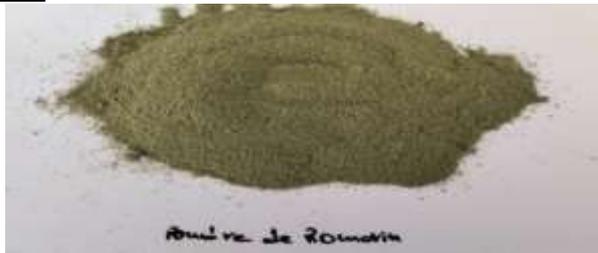


Figure. 10 la poudre de *Rosmarinus officinalis*.

## 4. matériels et produits

Tableau. 05 Produits et matériels utilisés au laboratoire.

<b>Matériels</b>	Bain Marie
	Agitateur magnétique
	Spectrophotomètre UV-Visible
	Micro pipette, pipette pasteur
	Balance, Broyeur électrique, Vortex
	Réfrigérateur, Rota vapeur, Etuve
<b>Réactifs chimiques</b>	Méthanol
	Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) Réactif de
	Folin-Ciocalteu
<b>Milieu de culture</b>	La gélose lactose biliée au cristal violet et au rouge neutre ( <i>VRBL</i> )
	La gélose Plate Count Agar ( <i>PCA</i> )
	Gélose Baird-Parker
	Le Bouillon Nutritif
	Plasma humaine

## 5. L'analyse biochimique

### 5.1. Macération à l'éthanol

La macération éthanolique obéit au protocole de **BOUHARB *et al.*, (2014)** avec modifications. Ce protocole consiste à macérer 10 g de poudre de plante durant 6 heures dans un 100 ml de solvant (éthanol 80 ml + eau distillée 20 ml), à l'ombre et à l'aide d'un agitateur magnétique. Après filtration par un papier filtre, la solution extraite est soumise à une évaporation sous vide et à 50°C pour chasser le solvant (**KEITA *et al.*, 1998**).

L'extrait ainsi obtenu, est conservé dans un flacon en verre, soigneusement fermé, à l'abri de la lumière, dans un réfrigérateur à 4°C.

## 5.2. Dosage des polyphénols

Le dosage des composés phénoliques a été fait selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (FUPMO12O40). Lors l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu (Miliauskas *et al.*, 2004).

### a) Mode opératoire

Un volume de 1 ml d'extraits (10g de l'échantillon / 80ml d'éthanol 10 ml d'eau distillée) avec 5 ml de Folin-Ciocalteu (2M) dilués 10 fois. Après 5 minutes d'incubation, 4 ml de carbonate de sodium à concentration de 75g/l a été additionnés. Parallèlement, dans les mêmes conditions, un étalon a été réalisé avec des concentrations croissantes d'acide gallique est proportionnelle à la quantité de polyphenols présents dans l'extrait analysé, La teneur des polyphenols contenus dans les extraits des écorces de grenade, rhizomes de (standard) allant de 100 à 1000 µg/l (Boizot et Charpentier, 2006),

Après une heure d'incubation à la température ambiante, l'absorbance a été lue à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible

### b) Expression des résultats

La concentration en polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression linéaire ( $y=ax+b$ ), établie de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique par g d'extrait sec de la plante (mg EAG /g d'extrait sec de la plante) (Boizot et Charpentier, 2006),.



**Figure. 11 Dosage de polyphénols totaux.**

## **6. Matériel biologique**

### **6.1. Conservation et traitement de la viande**

L'échantillon utilisé dans cette étude est la viande hachée de cuisse bovine de la race charolaise abattue le 18 mai au battoire de MASRA provenant de la boucherie Aziz-Mostaganem.

Des échantillons de 150g de viande hachée bovine de cuisse ont été pesés tout d'abord puis, déposés dans des barquettes de polystyrène stérile, ensuite mélanger avec la poudre de romarin préparé à différentes concentrations (20, 40, 60, 80 et 100%) et un autre échantillon sans traitement comme un témoin, enfin ils ont été couverts par un film alimentaire stérile, et conservés à 4C° au réfrigérateur.

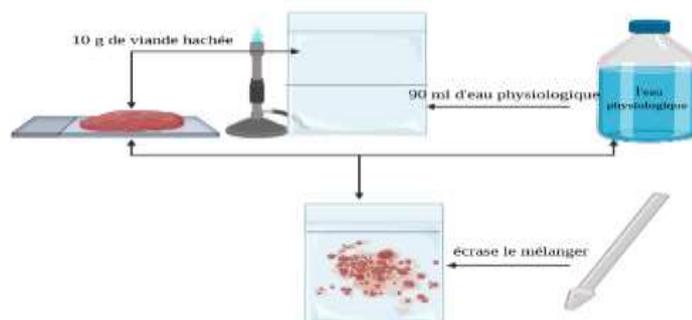
## **7. Analyse microbiologiques**

L'objectif des analyses microbiologiques est de rechercher et 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 (**Harir, 2019**).

### **7.1. Préparation de la suspension mère et les dilutions décimale**

#### **7.1.1. Préparation de la suspension mère**

La suspension mère est la première dilution préparée à partir d'un produit solide (la viande hachée). Pour ce faire 10 g de viande hachée est aseptiquement mélangée à 90 ml d'eau physiologique stérile dans un sachet stomacher stérile, Ensuite le mélange a été écrasé plusieurs fois mécaniquement pendant une minute dans un mortier traditionnel grâce à un pilon (**Journal officielle, 2016**).

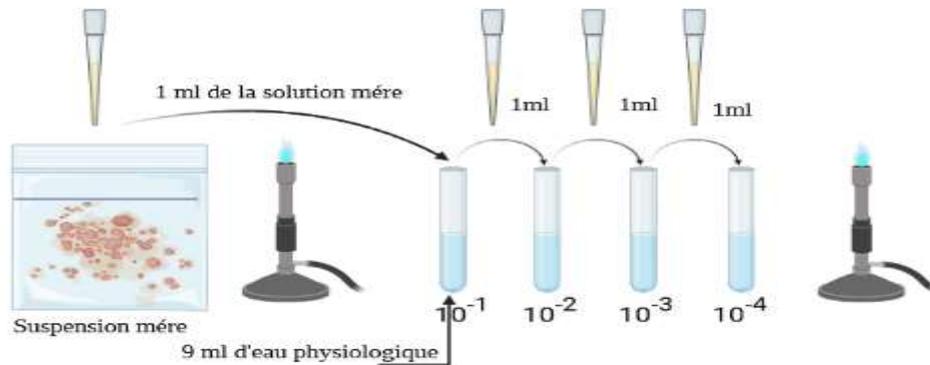


**Figure. 12** Schémas présents la préparation de la suspension mère.

## Matériel et méthodes

### 7.1.2. Préparation des dilutions décimale

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 ( $10^{-1}$ ) La dilution ( $10^{-4}$ ) sera préparée de la même façon à partir des dilutions précédentes (**Journal officielle, 2016**).



**Figure. 13** schémas présents la préparation des dilutions décimales.

### 7.1.3. Ensemencement et incubation

À partir des dilutions on procède aux ensemencements dans des milieux sélectifs et spécifique pour chaque type de microorganisme, qui après incubation permettront l'identification et le dénombrement ou la détection de la présence ou l'absence des microorganismes recherchés (**Journal officielle, 2016**).

## 7.2. Méthodes de dénombrement et de recherche des germes

### 7.2.1. Flore mésophile aérobie totale(FTAM)

#### 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 Pétrie, 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 24 h /48 h/72h.

## Matériel et méthodes

### 7.2.2. Coliformes totaux et fécaux

#### Mode opératoire

Porter aseptiquement 1 ml des dilutions décimales ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) 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 paillasse. Lorsque le milieu est solidifié, couler environ 4ml de la même gélose. Après solidification du milieu, les boîtes sont incubées à 44°C pendant 24h / 48 h/72h.

### 7.2.3. *Staphylococcus aureus*

Par cette méthode, les *Staphylococcus aureus* ont fait l'objet d'un dénombrement sur le milieu Baird-Parker. 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 la surface du même milieu. La boîte sera incubée à 37°C pendant 24h / 48h/ 72h. Les *Staphylococcus aureus* présente souvent sous forme des colonies volumineuses (bombées), crémeuses et pigmentées (typiquement jaune d'orée) (Guiraud et Riosec, 2004).

### 7.2.4. Flores psychrotrophes

#### Mode opératoire

A l'aide d'une pipette pasteur, porter aseptiquement 1 ml des dilutions préparées ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) dans des boîtes de Pétri. Ajouter ensuite environ 15 ml de milieu PCA fondu et refroidi à 45°C. Mélanger soigneusement et laisser le mélange se solidifier sur une paillasse. Les boîtes sont incubées enfin couvercles en bas à 3°C Pendant 4 jours.

### 7.2.5. Test de confirmation

#### 5.1. Teste de catalase

Sur une lame propre et sèche, on dépose une goutte d'eau oxygénée a10 volumes. A l'aide d'une pipette pasteur stérile, on ajoute l'inoculum bactérien (quelque colonie de staphylococcus aureus).

#### 5.2. Teste de coagulase

La propriété de *Staphylococcus aureus* à provoquer la coagulation d'un plasma est due à la sécrétion d'une protéine extracellulaire ; la Staphylocoagulase ou la coagulase.

La recherche de la Staphylocoagulase est le test essentiel qui permet de distinguer les souches potentiellement pathogènes, car la Staphylocoagulase joue un rôle central dans le

## Matériel et méthodes

pouvoir pathogène des Staphylocoques, en leur permettant de lutter contre les anticorps opsonisants et la phagocytose (Ileoir et gautier, 2010).

### **8. Observation des bactéries**

#### **8.1. L'aspect macroscopique**

L'étude des caractères visibles à l'œil nu : formes, taille, couleur et aspect (Chibi, 2015).

#### **8.2. L'aspect microscopique**

##### **a) La coloration de Gram**

La coloration de Gram est une coloration classique en microbiologie. Elle permet de distinguer deux (2) types de bactéries, les bactéries en Gram négatifs (G-) et les bactéries en Gram positives (G+). Celles-ci diffèrent de part de la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe (Larpent *et al.*, 1990).

##### **b) Lecture**

Observer au microscope à l'objectif x 100 à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram + » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram - » sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2014).

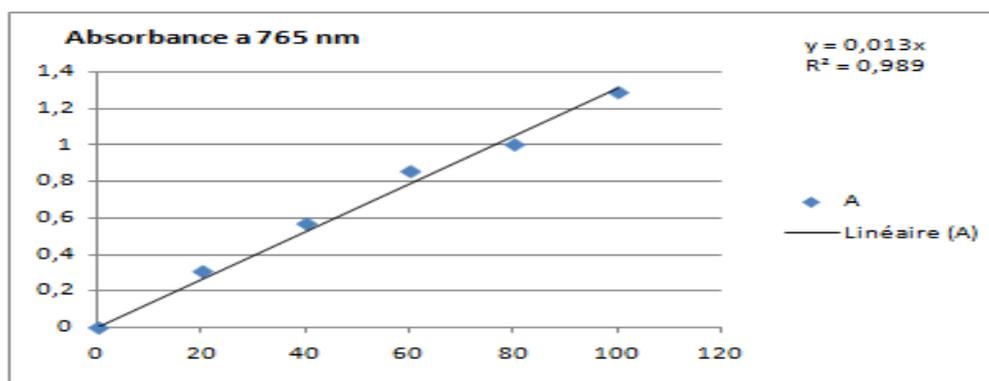
## **Partie 03**

### ***Résultats et discussion***

## Résultats

### 1. dosage des polyphénols

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage de l'acide gallique. La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g E). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux est  $7,47 \pm 0,26$  mg EAG/g E.



**La courbe d'acide gallique**

**Figure. 14** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

- **Teneurs en phénols totaux**

La spectrophotométrie UV/Visible a permis de quantifier le taux des polyphénols présents dans l'extrait préparé de la plante, les résultats obtenus montrent que la plante est riche en polyphénols avec une teneur en phénols totaux de  $380,70 \pm 2,77$ mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E).

## 2. Dénombrement des bactéries

### 1. Les coliformes totaux

Les coliformes totaux n'ont pas subi une réduction des germes ( $P > 0,05$ ) après l'ajout de la poudre de romarin (20 % à 100 %) à la viande hachée, passant de  $(60,95 \cdot 10^2$  à  $61,35 \cdot 10^2$  UFC/g) par rapport au témoin ( $60,85 \cdot 10^2$  UFC/g) (**tableau 7**).

## Résultats

### 2. Les Coliformes fécaux

Aucune prolifération n'est constatée dans la viande hachée traitée à 20 et 40 % (P < 0,01) par la poudre de romarin.

On a observé une légère augmentation des germes dans la viande traitée à 60 et 80% avec la poudre de romarin ( $113,65 \cdot 10^b$  à  $95 \cdot 10^b$  UFC/g) (P < 0,01), par apport à la charge supérieure enregistré sur le témoin de  $268,59 \cdot 10^a$  UFC/g (**tableau 7**).

### 3. Flore totale aérobie mésophile

On observe que la charge microbienne de la viande traitée à 20 et 40% avec la poudre de romarin a augmenté et resté stable  $177,75 \cdot 10^3$  UFC/g.

La flore totale aérobie mésophile n'a été constatée aucune prolifération dans la viande hachée traitée 60, 80, 100 % avec la poudre de romarin (P > 0,05). (**tableau 7**).

### 4. *Staphylococcus aureus*

On a observé une diminution de la charge microbienne ( $38,65 \cdot 10^3$  UFC/g) au niveau de la viande traitée à 20% par la poudre de romarin par rapport à la charge microbienne de témoin ( $128 \cdot 10^3$  UFC/g).

À partir de la concentration de 40, 60, 80, 100 % on a constaté une légère prolifération avec une diminution bactérienne (de  $42,55 \cdot 10^3$ ,  $37,8 \cdot 10^3$ ,  $30,65 \cdot 10^3$  à  $218,5 \cdot 10^2$  UFC/g) (P > 0,05) (**tableau 7**).

### 5. Germes psychotropes

Les concentrations 20 %, 40 %, 60 %, 80 % de la poudre de Romarin ajoutées à la viande hachée ont diminué la prolifération des germes psychotropes au cours de la conservation de la viande à 4°C, à partir de  $37 \cdot 10^3$ ,  $37,85 \cdot 10^3$ ,  $271,50 \cdot 10^3$  jusqu'à  $86 \cdot 10^2$  UFC/g par apport au témoin  $38,17 \cdot 10^3$  UFC/g (P < 0,01), et aucun germe n'est constaté à la concentration 100% (**tableau 7**).

**Résultats**

**Tableau.7** Effet d'ajout de la poudre de romarin sur la prolifération des germes recherche (UFC /g) dans la viande hachée ou cours de conservation de froid (4°C).

Germes UFC /g	Taux d'incorporation de la poudre de romarin						Effet de facteurs	Journa l 2017
	0 %	20%	40%	60%	80%	100 %		
<b>Colifor me totaux</b>	60,85 . 10 <sup>2</sup>	60,95 . 10 <sup>2</sup>	61,05 . 10 <sup>2</sup>	61,15 . 10 <sup>2</sup>	61,25 . 10 <sup>2</sup>	61,35 . 10 <sup>2</sup>	P > 0,05	5. 10 <sup>5</sup> / 5.10 <sup>6</sup>
<b>Colifor me fécaux</b>	268,59. 10 <sup>a</sup>	Absence	Absence	113,65. 10 <sup>b</sup>	95 . 10 <sup>b</sup>	Absence	P < 0,01	10 <sup>4</sup>
<b>FTAM</b>	138,4 . 10 <sup>3</sup>	177,75 . 10 <sup>3</sup>	177,75. 10 <sup>3</sup>	Absence	Absence	Absence	P > 0,05	5. 10 <sup>5</sup> / 5.10 <sup>6</sup>
<b>STAPH E</b>	128.10 <sup>3</sup>	38,65.10 <sup>3</sup>	42,55. 10 <sup>3</sup>	37,8. 10 <sup>3</sup>	30,65. 10 <sup>3</sup>	218,5. 10 <sup>2</sup>	P > 0,05	10 <sup>2</sup> / 10 <sup>3</sup>
<b>PSYCH O</b>	38,17. 10 <sup>3</sup>	37. 10 <sup>3</sup>	37,85. 10 <sup>3</sup>	271,50. 10 <sup>3</sup>	86. 10 <sup>2</sup>	Absence	P < 0,01	10 <sup>3</sup>

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes et écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n=02 ; p>0.05:effet non significatif du facteur étudié F1 (concentrations en poudre de romarin ajoutées à la viande hachée ) ;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 acceptée ; M: valeur maximale en germes accepté ; a, b, c...etc.



**Figure. 15** Les colonies des coliformes fécaux.



**Figure. 16** Les colonies des coliformes totaux.

Résultats

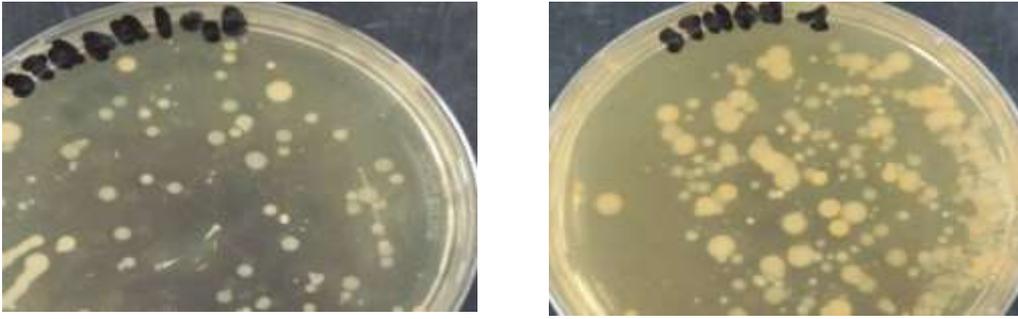


Figure. 18 Les colonies des *staphylococcus aureus*



Figure. 17 Les colonies des FTAM.



Figure. 19 Les colonies des psychotrophes.

3. Les tests de confirmation

3.1. Test de catalase



Figure. 20 Test de catalase.

3.2. Test de coagulase

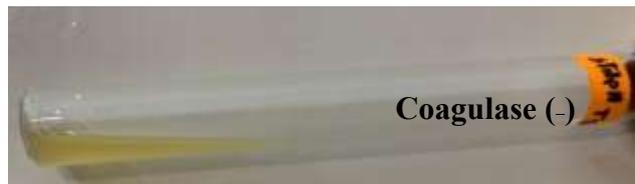


Figure. 21 Test de coagulase.

### 3. L'observation bactérienne

#### 3.1. L'aspect macroscopique

Les bactéries ont montré divers aspects cultureux, en fonction du milieu de culture, permettant de suspecter leur appartenance à un groupe bactérien ou à un autre (Staphylococcus aureus, Flores psychotrophes, Flore mésophile aérobie totale(FTAM), Coliforme totaux et fécaux).

**Tableau. 08 Aspect macroscopique des bactéries étudiées.**

Bactéries	élévation	Forme	Chromogènes	Opacité	Surface	Consistance	Odeur	Bordé
<b>Coliforme totaux</b>	Convexe	Irrégulière	Jaune orangé	opaque	rugueuse et brillante	Crémeuses et sèche	Désagréable	surélevés
<b>Coliforme fécaux</b>	Convexe	Circulaire	Rose	opaque	Lisse et brillante	Crémeuses et sèche	Désagréable	Régulière
<b>FTAM</b>	Bombé	Irrégulière	blanc porcelaine,	translucide	Lisse et brillante	Crémeuses et sèche	Désagréable	Lobée
<b>Staphylococcus aureus</b>	Elevé	Irrégulière	Jaune	opaque	Lisse et brillante	Crémeuses et sèche	Désagréable	Ondulé
<b>psychotrophes</b>	Bombe	Circulaire et rond	blanc porcelaine,	translucide	Lisse et brillante	Crémeuses et sèche	Désagréable	Régulière



**Figure. 22 Aspect macroscopique de Staphylococcus.**



**Figure. 23 Aspect macroscopique de Flores FTAM.**

## Résultats

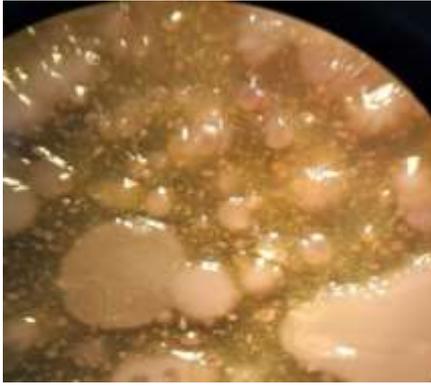


Figure. 24 Aspect macroscopique de Flores psychotrophes

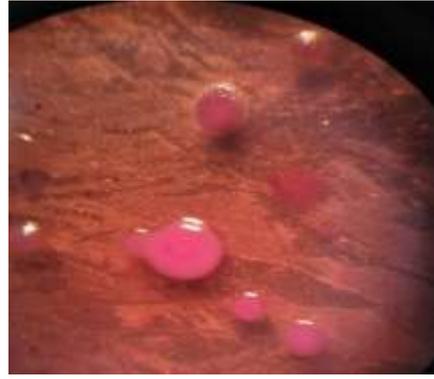


Figure. 25 Aspect macroscopique de coliformes fécaux

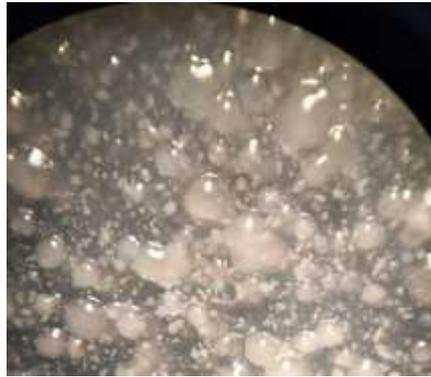


Figure. 26 Aspect macroscopique de coliformes totaux

### 3.1. L'aspect microscopique

#### 1. Coloration de Gram

Le mode d'association varie d'une bactérie à l'autre, les différentes formes observées sont décrites comme suit :

**Tableau. 09 Caractéristiques microscopiques des bactéries**

La souche	Gram	Forme
Coliforme totaux	Gram négative	bacilles non sporulants
Coliforme fécaux	Gram négative	bacilles non sporulants
FTAM	Gram négative	bacilles
Staphylococcus aureus	Gram positives	sphérique (coques)
Flores psychotrophes	Gram négative	bacilles

Résultats



**Figure. 27** Observation microscopiques CT (Obj X100).



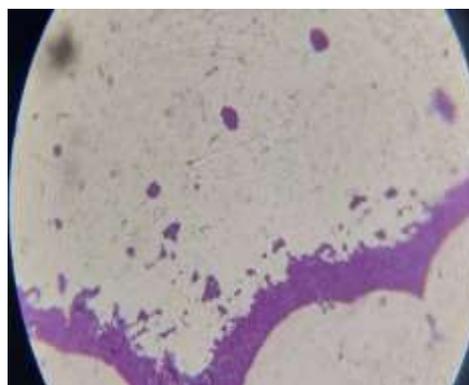
**Figure. 28** Observation microscopiques CF (Obj X100).



**Figure. 29** Observation microscopiques FTAM (Obj X100).



**Figure. 30** Observation microscopiques Staphylococcus aureus(Obj X100).



**Figure. 31** Observation microscopiques Flores psychotropes (Obj X100).

## Discussion

L'utilisation du Romarin a perduré à travers les âges en tant que plante aromatique et médicinale grâce à ses fortes activités biologiques telles qu'un anti-inflammatoire, anti-oxydant, anti-perglycemic, antibactérien. C'est une source très riche en composés phénoliques et leurs propriétés sont dérivées de ses extraits (**Gao et al., 2013 ; Olmedo et al., 2013**).

Dans l'étude de **Karouche et son groupe de recherche en 2021**, la teneur en polyphénols est  $85,71 \pm 4$  mg EAG / ml qui est inférieure à nos résultats avec une teneur de l'ordre de  $380,70 \pm 2,77$  mg EAG /g et la même chose pour l'étude de **Kahouli, 2010** qui a trouvé une teneur de 225 mg EAG /g. Donc nos résultats montrent que les feuilles de *Rosmarinus* renferment des teneurs importantes en polyphénol.

La teneur phénolique d'une plante ça revient peut-être à certains nombres de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage (**Podsedek, 2007**) et même la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante (**Falleh et al., 2008 ; Zaouali et al., 2010**).

Nos recherches indiquent bien que la poudre de romarin possède une bonne activité antibactérienne contre les deux souches Coliformes fécaux et la flore psychotrope. Les niveaux de croissance obtenus par l'ajout de la poudre de romarin ont montré que le nombre des germes diminue efficacement ( $p < 0.01$ ) avec l'augmentation de la concentration de la poudre appliquée. En **2019**, **Mokhtar** a prouvé dans son étude que l'extrait de romarin a un effet antibactérien sur les coliformes fécaux et les psychotropes ce qu'est similaire à nos résultats.

Les deux chercheurs **Caillet et Lacroix (2007)** ont démontré que le mécanisme d'action des composés bioactifs des plantes dont les composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de la croissance d'un germe quelconque commence lorsque ces substances s'interfèrent avec la bicouche lipidique de la paroi microbienne ce qui peut induire par voie de conséquence :

À une augmentation de la perméabilité, puis à une perte des constituants cellulaires.

## Discussion

À une acidification de l'intérieure de la bactérie en bloquant la production de l'énergie ainsi que de la synthèse des composants de structure et la destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie.

Selon **Fung et son groupe de recherche (1977)**, l'effet inhibiteur du romarin et les résultats de l'action de l'acide rosmarinique, rosmaridiphénol, carnosol, épirosmanol, acide carnosique, rosmanol et isorosmanol. Ils interagissent avec la membrane cellulaire, provoquant des changements dans le matériel génétique et les nutriments, modifiant le transport des électrons, la fuite des composants cellulaires et les changements de production des acides gras. En outre, il a également produit une interaction avec la membrane des protéines qui a produit la perte de fonctionnalité de la membrane et de sa structure (**Jouve, 1996**).

**Benzahra et foundou (2019)** dans leur étude sur l'effet antibactérien de l'addition d'extrait à l'hexane aqueux concentré à 40, 60, 80 et 100% de romarin sur la viande ovine concernant les deux souches Flore aérobie mésophile totale et *Staphylococcus aureus*, elles sont montrées une activité antibactérienne forte (hautement significative) ( $p < 0.01$ ) contrairement à nos résultats qui non pas donnaient un effet significatif à la viande hachée traitée à 20 et 40% ( $177,75 \cdot 10^3$  UFC/g), alors que les concertations de 60, 80, 100 % ( $P > 0,05$ ) ont donné un effet inhibiteur sur la prolifération de ces deux souches.

La poudre de romarin n'avait aucune action antibactérienne sur les coliformes totaux ( $p > 0,05$ ).

D'après **Jouve (1996)** La viande hachée est plus périssable par rapport à la viande normale et elle témoigne d'une contamination bactérienne initiale élevée. Depuis l'abattoir lors de la préparation des carcasses, ensuite lors du transport et la distribution de la viande.

En plus de ça, la préparation de la viande hachée commence par le désossement de la viande ou il est difficile d'éviter le contact entre les surfaces carnées fraîchement mises à l'air et celles qui sont préalablement souillées. De plus, l'opération de hachage accentue la contamination de la viande par le passage dans le hachoir qui n'est généralement lavé qu'en fin de journée (**Oumokhtar et al., 2008**).

Selon plusieurs auteurs la quantité, la composition et le rapport des métabolites secondaires sont influencés par un certain nombre de facteurs internes et externes, tels que l'âge de la plante, la pollution, l'évolution, le climat, le type de sol, le type de matériel

## Discussion

végétal (feuilles, fleurs, etc.), l'altitude, les précipitations, ou des conditions de stress qui peuvent inhiber ou déclencher la synthèse de composés spécifiques avec des bio-activités (Del Baño *et al.*, 2004 ; Figueiredo *et al.*, 2008 ; Peshev *et al.*, 2011 ).

De plus, même pour le même type de sol, un léger changement de pH et de composition peut également avoir une influence (Gouvea *et al.*, 2012). Et cela influence du même l'intensité antibactérienne de la plante.

D'après l'observation macroscopique faite sur Les souches étudiées, pour les Coliformes totaux sont des colonies irrégulières, opaques, Crémeuses et sèches de couleur jaune orangé et une surface rugueuse et brillante avec un bord surélevé et une odeur désagréable, pour l'observation sous microscope après coloration de Gram, indique qu'il s'agit de bacilles non sporulant de Gram négatif (Saidane *et al.*, 2023).

Les coliformes fécaux sont de petites colonies à contour régulier et forme circulaire, de couleur rose, lisses et brillante, légèrement convexe avec une odeur désagréable a révélé l'observation microscopique a révélé des bacilles non sporulant de Gram négatif (Saidane *et al.*, 2023).

FTAM à montre des colonies bombe à contour lobée, translucide sans pigment à surface Crémeuse et sèche d'odeur Désagréable à bord irrégulier (Saidane *et al.*, 2023).

Selon Denis et poly (2007) les *Staphelococcus* apparaises large, circulaires, bombées, lisses, luisantes, de coques de Gram positif, de catalase positif et coagulasse négatif.

# *Conclusion*

## Conclusion

### Conclusion

Les plantes aromatiques sont des végétaux qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques. Elles sont une source d'arôme, de parfums, de saveurs qui plus utilisée dans le domaine agroalimentaire, parce que qui contient des molécules bioactives, utilisée comme antioxydants et antimicrobien. Plusieurs études font état de l'addition directe d'extraits de plantes aromatiques à des aliments pour exercer un effet antimicrobien ou antioxydant.

À travers cette étude et d'après les résultats obtenus la poudre de romarin a montré une activité antibactérienne sur les souches étudiées mais cet effet varie d'une bactérie à l'autre et cela dû au contenu total et les proportions relatives des métabolites secondaires dans les plantes peuvent fluctuer dans le temps est dans l'espèce et même dans le cas des mêmes espèces trouvées à différents endroits (**Figueiredo et al., 2008**).

D'autres facteurs qui influent sur les activités antimicrobiennes sont le moment de la récolte, les températures de stockage, l'organe végétal extrait, le type de solvant utilisé, les méthodes d'extraction et la période, et même les conditions d'extraction (**Kuhlmann et Röhl, 2006**). Il faut réalise l'assurance de la qualité de la viande par l'hygiène qui commence depuis l'abattoir lors de la préparation des carcasses, ensuite lors du transport et la distribution de la viande (**Oumokhtar et al., 2008**).

Enfin, nous pouvons dire que l'exploitation des plantes aromatiques comme conservateur naturel pour la conservation des viandes est apprécié à l'échelle traditionnelle et même industrielle.

**En perspective**, il est intéressant de :

Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies sur les composants biochimiques et leur structure, ainsi que la détermination des différentes activités biologiques in vitro et in vivo de chacun de ces composés pris séparément.

Déterminer de nouvelles substances bioactives pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques dans le futur.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

- Adlercreutz H, Mazur W. (1997).** Phyto-oestrogens and Western diseases. *Ann Med.* 29 (2): 95-120.
- Akroum S. (2006).** Étude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L.* Université Constantine. 91 p.
- Akroum S. (2008).** Inhibition de quelques bactéries pathogènes par les extraits éthanoliques de *Rosmarinus Officinalis*. Département de Biologie Animale. Faculté de Biologie, Université MENTOURI Constantine. *Revue Campus* .11. 2427p.
- Albert YL, Foste S, (1996).** Encyclopedia of common Naturel Ingredients used In Foods, Drugs, and cosmetics. 2<sup>ème</sup> Édition. Wiley-Interscience. 688 p.
- Alias C, et Linden G. (1997).** Biochimie alimentaire. Ed Masson, Paris. 248p.
- Altinier G, Sosa S, Aquino RP, Mencherini T, Loggia RD, Tubaro A. (2007).** Characterization of Topical Antiinflammatory Compounds in *Rosmarinus officinalis L.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 55(5): 1718-1723.
- Andrade JM, Faustino C, Garcia C, Ladeiras D, Reis CP, Rijo P. (2018).** *Rosmarinus officinalis L:* an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future science OA.* 4(4) : 2056-5623.
- Anton R, Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huiles essentielles. Tec&Doc- Lavoisier, Paris et Cachan. 522 p.
- Arnold N, Valentini G, Bellomaria B, Laouer H. (2011).** Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. From Algeria and *R. officinallis L.* from other countries. [Journal of Essential Oil Research.](#) 9(2) : 167-175.
- Arvy MP, Gallouin F. (2003).** Epices, aromates et condiments. 1<sup>st</sup> Édition. Belin, Paris. 412p.
- Asioli D, Aschemann-Witzel J, Caputo V, Vecchio R, Annunziata A, Næs T, Varela P, (2017).** Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Res. Int.* 99 : 58–71.

### B

- Bahorun T. (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius. 83- 94 p.
- Bailly JD, Brugere H, Chadron H. (2012).** Microorganismes et Parasites des Viandes: les Connaître pour les Maîtriser de l’Eleveur au Consommateur. Centre d’information des viandes, 207 rue de Bercy, 75587 paris codex 12. 50 p.
- Bellakhdar J. (2006).** Plantes Médicinales au Maghreb et soins de base – Précis de phytothérapie moderne. Edition Casablanca, Editions Le Fennec. 294-295 p.
- Benabdelmoumene D. (2016).** Qualités nutritionnelles et organoleptiques des viandes et des œufs de volailles locales. Thèse en vue de l’Obtention du Diplôme de Doctorat en

## Références bibliographiques

Sciences Agronomiques. Influence du sexe et des génotypes. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. Faculté des sciences de la nature et de la vie. 114 p.

**Benaissa A. (2011).** Etude de la qualité microbiologique des viandes cameline et ovine conservées selon différents modes. Magister en Biologie, Microbiologie Appliqué. Université kasdi merbah ouargla memoire. 66 p.

**Benincá JP, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Fröde TS. (2011).** Analysis of the anti inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis L.* in mice. **Food Chemistry.** 124(2): 468–475.

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

**Bernardes WA, Lucarini R, Tozatti MG, Souza MGM, Andrade Silva ML, da Silva Filho AA, Martins CHG, Miller Crotti AE, Pauletti PM, Groppo M, Cunha WR. (2010).** Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* against Oral Pathogens: Relevance of Carnosic Acid and Carnosol. *Chemistry Biodivers.* 7 (7): 1835-1840.

**Boizot N, Charpentier J. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier dans Méthodes et Outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. *Le Cahier des Techniques de l'Inra: Numéro Spécial.* 79-82.

**Bonnefoy C, Guillet F, Leyral G, Vernes Bourdais E. (2002).** Population contaminant altérant la qualité sanitaire et marchande. In *Microbiologie et Qualité dans les Industries Agroalimentaires.* Rueil-Malmaison : Doin ; Bordeaux : Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. 245 p.

**Bornert G. (2000).** Importance des bactéries *psychrotrophes* en hygiène des denrées alimentaires. *Revue Méd. Vét.* 151(11) : 1003-1010.

**Bouharb H, EL badaoui K, Zair T, El amri J, Chakir S, Alaoui T. (2014).** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun pour l'activité Antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences.* 78 : 6685-6693.

**Bouvier C, Portet P, Favennec Y, Bussereau D. (2006).** Mission parlementaire du député de la Mayenne auprès du ministre de l'Agriculture et de la Pêche, tenue du février à août 2006. Filière de production et qualité nutritionnelle des aliments. 77 p.

**Brigitte MB, Brigiet VDB, Corlien H. (2005).** La conservation du poisson et de la viande : les facteurs d'altération des viandes. *Marja de Goffau-Markusse.* 90 p.

**Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Edition, EM Inter / Lavoisier Tec & Doc, Paris. 1270 p.

## C

**Cartier P. (2004).** Points de Repères en Matière de Qualité Microbiologique Viandes Bovines. *Collection Interbev.* 179 p.

**Cesarino I, Araújo P, Domingues Júnior AP, Mazzafera P. (2012).** An overview of lignin metabolism and its effect on biomass recalcitrance. *Braz. J. Bot.* 35 : 303–311.

## Références bibliographiques

**Chaleshtori FS, Arian A, Chaleshtori RS. (2018).** Assessment of sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in some products in Kashan, Iran with estimation of human health risk. *Food Chem. Toxicol.* 120 : 634–638.

**Cheftel JC, cheftel H. (1984).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments . Edition Lavoisier Tec et Doc. Vol 2, 420 p.

**Coibion L. (2008).** Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine adaptation à la demande du consommateur. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT. 7-25.

**Comas LH, Becker SR, Cruz VMV, Byrne PF, Dierig DA. (2013).** Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science.* 1(4) : 442.

**Corlien H. (2005).** La conservation du poisson et de la viande. *Fonction Agromisa. Wageningen Agrodok.* 12: 6-8-14-15.

**Craplet C. (1966).** La viande de bovins .Tome I .Ed Vignot frère, Paris. 7 486 p.

**Crowe W, Elliott CT, Green BD. (2019).** A review of the in vivo evidence investigating the role of nitrite exposure from processed meat consumption in the development of colorectal cancer. *Nutrients.* 11: 2673.

## D

**Darinmou. (2000).** Conseil pour le consommateur. Laboratoire darinmoub. Site Web: [darinmoub.com /conseils.pdf](http://darinmoub.com/conseils.pdf).

**Dave D, Ghaly AE. (2011).** Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences.* 6 (4) : 486-510.

**De Paula IMB, Moraes FC, De Souza OV, Yamamoto CH. (2014).** Development of Mouthwash with *Rosmarinus officinalis* Extract. [Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.](#) 50(4) : 851-858.

**Del Baño MJ, Lorente J, Castillo J. (2004).** Flavonoid distribution during the development of leaves, flowers, stems and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of a biosynthetic pathway. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 52 : 4987–4992.

**Dognon SR, Salifou C, Dognon J, Dahouda M, Scippo ML, Youssao AKI. (2018).** Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin. *Journal of Applied Biosciences.* 124: 12476-12487.

**Dumont R L, Valin C. (1982).** Bases biochimiques de l'hétérogénéité du tissu musculaire et des viandes. Ed INRA, Paris. 77 p.

**Dupin H, Cug J, Malewiak M, Leynaud-Rouaud C, Berthier A. (1992).** Alimentation et nutrition humaines. EDITION ESF 17, Rue viète, 75017 PARIS. 1533 p.

## Références bibliographiques

### E

**Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. (2008).** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis L.*) extract, blackseed (*Nigella sativa L.*) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry. 110 : 76-82.

**Escuder O. (2007).** Plantes médicinales mode d'emploi les reconnaître dans la nature, les utiliser, les cultiver au jardin". Eugen Ulmer Eds, Paris. 255 p.

### F

**Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities .C. R. Biologies. 331: 372-379.

**Faucon M. (2012).** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements & aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Sang de la terre ; S.l. : Médial. pp : 871-872.

**Fernandez X, Chemat F, Do TKT. (2012).** Les huiles essentielles : vertus et applications. Vuibert, Paris. 164 p.

**Ferysiuk K, Wojciak KM. (2020).** Reduction of nitrite in meat products through the application of various plant-based ingredients. Antioxidants (Basel). 9 (8) :1–28.

**Figueiredo CA, Barroso GJ, Pedro LG, Scheffer JJC. (2008).** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal. 23 : 213–226.

**Fosse J, Cappelier JM, Laroche M, Fradin N, Giraudet K, Magras C. (2006).** Viandes bovines: une analyse des dangers biologiques pour le consommateur appliquée à l'abattoir. Rencontre Recherche Ruminants. 13 : 411-414.

**Fosse J, Cappelier JM, Laroche M, Fradin N, Giraudet K, Magras C. (2006).** Viandes bovines: une analyse des dangers biologiques pour le consommateur appliquée à l'abattoir. Rencontre Recherche Ruminants.13: 411-414.

**Fournaud J. (1982).** Contamination aux différents stades, Hygiène et technologie de la viande fraîche. Éd du CNRS, Paris. pp : 33-136.

**Frayse JL, Darrè A. (1990).** Produire des viandes - Volume 1 **sur quelles bases économiques & biologiques ?** Coll. Agriculture d'Aujourd'hui. Tec & Doc- Lavoisier, France. 374 p.

### G

**Gao M, Feng L, Jiang T, Zhu J, Fu L, Yuan DLiJ. (2014).** The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. Food Control. 37: 1–8.

**Garrido J, Borges F, (2013).** Wine and grape polyphenols—A chemical perspective. Food Research International, 54 (2) : 1844-1858.

## Références bibliographiques

**Genaust H. (1996).** Etymologisches Wörterbuch der botanischen Pflanzennamen. Birkhauser Verlag, Germany. 703 p.

**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.

**Ghedira K. (2005).** [Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle Ppophtactique et emplois en thérapeutique. \*Phytothérapie\*.3 \(4\) : 162-169.](#)

**Gouvea DR, Gobbo-Neto L, Sakamoto HT. (2012).** Seasonal variation of the major secondary metabolites present in the extract of *Eremanthus mattogrossensis* Less (Asteraceae: Vernonieae) leaves. *Química Nova*.35(11) : 2139–2145.

**Grégoire A. (2010).** Le grand livre des plantes aromatiques médicinales. Bagnaux Sélection Reader's Digest, Bagnaux. 400 p.

**Greuter W, Burdet HM, Long G. (1986).** Med-Checklist : Inventaire critique des plantes vasculaires des pays circumméditerranéens. 1, Pteridophyta, Gymnospermae, Dicotyledones (Acanthaceae-Cneoraceae). 2e édition de la partie Pteridophyta. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève -- OPTIMA -- Secrétariat Med-Checklist Botanischer Garten und Botanisches Museum. 395 p.

**Gruffat D, Picard B, Bauchart D, Micol D. (2015).** La viande bovine : les principales qualités recherchées. *INRAE Productions Animales*. 28(2) : 99–104.

**Guillemin N, Cassar-malek I, Hocquette JF, Jurie C, Micol D, Listrat A, Leveziel H, Renand G, Picard B. (2009).** La maîtrise de la tendreté de la viande bovine : identification de marqueurs biologiques. *INRAE Productions Animales* .22 (4) : 331-344.

## H

**He Z, Xia W, Chen J. (2008).** Isolation and structure elucidation of phenolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album L.*) fruit. *European Food Research and Technology*. 226 : 1191-1196.

**Heinz G, Hautzinger P, Agriculture Group. (2007).** Meat Processing Technology For Small-to Medium Scale Producers. FAO, Bangkok Thailand. 470 p.

**Hemingway RW. (1992).** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives.in :Lpant polyphenols : synthesis,properties ,significande .Chemistry and Significance of Condensed Tannins Plenum Press, New York. pp : 83–107.

**Huguet M. (2008).** La route des épices: Aromates, condiments et mélanges d'épices naturels .Sang de la Terre, France. 190 p.

**Hui YH, Chen F, Nollet LML. (2011).** Hand book of Fruit and Vegetable Flavors. 1st Édition. Wiley. 1948 p .

**Hynes MJ, O'Coinceanainn M. (2001).** The kinetics and mechanisms of the reaction of iron(III) with gallic acid, gallic acid methyl ester and catechin. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 85 : 131–142.

**I**

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

**International Agency for Research on Cancer. (2010).** Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans Ingested nitrate and nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 94 : 1–412.

**Iserin P, Iserin P, Vican P. (2013).** Larousse des plantes médicinales. Éd. mise à jour, Paris : Larousse . 335 p.

**J**

**Jain C, Khatana S, Vijayvergia R. (2019).** Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *international Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 10 (2) : 494-504.

**James SJ, James C. (2002).** Microbiology of refrigerated meat .In *Meat Refrigeration.* Wood head Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. pp : 3-19.

**Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. (2005).** *Modern Food Microbiology.* 7<sup>th</sup> Edition. Springer Science and Business Media Inc, 233 spring street, New York, NY10013, USA. pp : 63-101.

**Jeantet R, Croguennec TH, Schuck P, Brulé G. (2006).** Science des aliments: biochimie, microbiologie, procédés, produits- Technologie des produits alimentaires. Tec et Doc - Lavoisier. Paris. Vol 2. pp : 193-197.

**Jouve JL. (1996).** La qualité microbiologique des aliments : maîtrise et creteres. CNERNA-CNRS. Polytechnica, PARIS. pp : 337-355.

**Juhas S, Bukovska A, Cikos S, Czikkova S, Fabian D, Koppel J. (2009).** Anti-inflammatory effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil in mice. *ACTA VET.* 78 : 121–127.

**K**

**Kahouli I, (2010).** Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurusnobilis L., Rosmarinus officinalis, Origanummajorana, OléaEuropea L.*) dans l'huile de canola chauffée. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maître es sciences (M.Sc.).Université LAVAL QUÉBEC. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Département des sols et de génie agroalimentaire. 111p.

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

**Karadağ AE, Demirci B, Çaşkurlu A, Demirci F, Okur ME, Orak D, Sipahi H, Başer KHC. (2019).** In Vitro Antibacterial, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Analgesic Evaluation of *Rosmarinus officinalis L.* Flower Extract Fractions. *South African Journal of Botany.* 125 : 214–220.

## Références bibliographiques

**Keita A, Mariko E, Haidara TK. (1998).** Etude de l'activité hypoglycémisante des feuilles de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst (Anacardiaceae). *Pharm. Méd. Trad.Afr.*10: 16-25.

**Kuhlmann A, Röhl C, (2006).** Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro. Cultures of rosemary (*Rosmarinus officinalis*.) and their anti-inflammatory effect on lipopolysaccharide-activated microglia," *Pharmaceutical Biology*. 44 (6) : 401–410.

## L

**L'OCDE et FAO. (2018).** Perspectives agricoles de l'OCDE et de la FAO 2018-2030 de la viande, statistiques agricoles de l'OCDE (base de données). Adresse url : <http://dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-fr/> <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/cf5e156a-fr/index.html?itemId=/content/component/cf5e156a-fr#section-d1e18567>.

**Lamoise P, Roussel-ciquard N, Rosset R. (1984),** Evolution des qualités organoleptiques. Les viandes. Informations Techniques des Services Vétérinaires. pp193-197.

**Lawrie RA, Ledward DA. (2006).** The spoilage of meat by infecting organism (157-188). In *Lawrie's Meat Science* (7th edition). Wood head Publishing Limited, England. 442 p.

**Lebret B, (2004).** Conséquences de la rationalisation de la production porcine sur les qualités des viandes. *INRA Prod. Anim.*, 17 : 79-91.

**Lebret B, Picard B. (2015).** Les principales composantes de la qualité des carcasses et des viandes dans les différentes espèces animales. *INRAE Productions Animales*. 28 (2) : 93–98.

**Lebret b, Prache S, Berri C, Lefèvre F, Bauchart D, Picard B, Corraze G, Médale F, Faure J, Alami-durante H. (2015).** Qualités des viandes : influences des caractéristiques des animaux et de leurs conditions d'élevage. *INRAE productions animales*. 28 (2) : 151-168.

**Lee NK, Paik HD. (2016).** Status, Antimicrobial mechanism, and regulation of natural preservatives in live stock food systems. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour*. 36 : 547–557.

**Lo AH, Liang YC, Lin-Shiau SY, Ho CT, Lin JK. (2002).** Carnosol, an antioxidant in rosemary, suppresses inducible nitric oxide synthase through down-regulating nuclear factor- $\kappa$ B in mouse macrophages. *Carcinogenesis*. 23 (6) : 983–991.

## M

**Macedo LMD, Santos ÉMD, Ataíde JA, Silva GTDSE, Guarnieri JPDO, Lancellotti M, Jozala AF, Rosa PCP, Mazzola PG. (2022).** Development and Evaluation of an Antimicrobial Formulation Containing *Rosmarinus Officinalis*. *Molecules*. 27 (16) : 5049.

**Mafart P. (1991).** Génie industriel Alimentaire TOM1. Les procédés physiques de consommation. Edition Lavoisier. pp : 60-72.

**Makhloof A. (2019).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydants de deux Plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (matri caria : Pubescents

## Références bibliographiques

(des.) Et Rosmarinus officinalis l) et leur impact sur la conservation des Dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat, université d'Boubaker belkaid. Faculté des sciences. 116 p.

**Makino T, Ono T, Muso E, Yoshida H, Honda G, Sasayama S. (2000).** Inhibitory effects of rosmarinic acid on the proliferation of cultured murine mesangial cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 15 (8) : 1140–1145.

**Mariam KA. (2006).** Evolution de la flore bactérienne des viandes de bœuf hachées au cours d'un stockage réfrigéré. Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales, université cheikh anta diop de dakar. pp : 5-6.

**Martins S, Mussatto SI, Martínez-Avila G, Montañez-Saenz J, Aguilar CN, Teixeira JA. (2011).** Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid- state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*. 29 (3) : 365-373.

**Mazid M, Khan T, Mohammad F. (2011).** Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biol. Med.* 3 : 232–249.

**McVicar J. (2006).** (Le grand livre des herbes: jardin, santé, cuisine, maison. Ed. De Borée. 288 p.

**Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*. 85 (2) : 231-237.

**Moevi I. (2006).** Le point sur la couleur de la viande bovine. Institut de l'élevage l'Institut de l'Élevage (I. MOËVI), Rue de Bercy – 75595 Paris cedex 12 . 113 p. Site Web : [https://www.agrireseau.net/bovinsboucherie/documents/couleur\\_viande\\_bovine1.pdf](https://www.agrireseau.net/bovinsboucherie/documents/couleur_viande_bovine1.pdf)

**Murielle M. (2009).** Nutrition humain et sécurité alimentaire. Edition Tec & Doc Lavoisier. 678 p.

## O

**Okamura N, Haraguchi H, Hashimoto K, Yaghi A. (1994).** Flavonoids in Rosmarinus officinalis leaves. *Phytochemistry*. 37 (5) : 1463-1466.

**Öksüztepe KG, Ilhak OI, Patir B. (2006).** Chemical and microbiological quality of fermented sausages made from camel meat. *Medycyna Weterynaryjna* .62 : 893–896.

**Olmedo RH, Nepote V, Grosso NR. (2013).** Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. *LWT-Food Sci Technol*. 53 : 409–417.

**Ouali A. (1991).** Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande. *INRAE Productions Animales* .4(3) : 195–208.

**Ouraïni D, Agoumi A, Ismaïli M, Alaoui K, Cherrah Y, Amrani M, Belabbas MA. (2005).** Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*. 4: 147-157.

## P

## Références bibliographiques

**Pal M. (2014).** Preservation of various foods. Ph.D. Lecture Note, Addis Ababa University, College of Veterinary Medicine and Agriculture, Debre Zeit, Ethiopia. 1-11.

**Peshev D, Peeva LG, Peev G, Baptista IIR, Boam AT. (2011).** Application of organic solvent nanofiltration for concentration of antioxidant extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Chemical Engineering Research and Design. 89 (3) : 318–327.

**Piper JD, Piper PW. (2017).** Benzoate and sorbate salts: A systematic review of the potential hazards of these invaluable preservatives and the expanding spectrum of clinical uses for sodium benzoate. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 16 : 868–880.

**Podsedek A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT. 40 : 1-11.

**Praphailong W, Fleet GH. (1997).** The effect of pH, sodium chloride, sucrose, sorbate and benzoate on the growth of food spoilage yeasts. Food Microbiol. 14 : 459-468.

## R

**Rameau JC, Mansion D, Dumé G, Gauberville C. (2008).** Flore forestière française Tome 3, Région méditerranéenne Guide écologique illustré. Institut pour le développement forestier, France. pp : 2432.

**Ranshahi M, Askari M, Sahebkar A, Hadjipavlou LD. (2009).** Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. DARU J. Pharm. Sci. 17 : 99–103.

**Rao L, Singh M, Raghavan B, Abraham KO. (1998).** *Rosemary (Rosmarinus officinalis L.): impact of drying on its flavor quality.* Journal of Food Quality. 21 (2) :107-115.

**Renner R. (1997).** La couleur acteur de qualité .Mesure de la couleur de la viande. renrech ruminants. pp10-89.

**Reuter J, Jocher A, Hornstein S, Schulte Mönning J, Mathis Schempp C. (2007).** Sage Extract Rich in Phenolic Diterpenes Inhibits Ultraviolet-Induced Erythema in Vivo. Planta Med. 73(11) : 1190–1191.

**Rosmini MR, Perez-Alvarez JA, Fernandez-Lopez J. (2004).** Operational processes for frozen red meat. In: Hui YH, Cornillon P, Legaretta IG, Lim MH, Murrell KD, Kit Nip W (EDS) Handbook of frozen foods. Marcel Dekker Inc, New York. pp177-179.

## S

**Salifou CFA, Dahouda M, Boko KC, Kassa SK, Houaga I, Farougou S, Mensah GA, Salifou S, Toléba SS, Clinquart A, Youssao AKI. (2013).** Évaluation de la qualité technologique et organoleptique de la viande de bovins de races Borgou, Lagunaire et Zébu Peulh, élevés sur des pâturages naturels. Journal of Applied Biosciences. 63 : 4736-4753.

**Salunkhe DK. (1990).** Dietary tannins consequences and remedies. CRC Press, Boca Raton Fla. pp 200.

## Références bibliographiques

**Santosh MK, Sharanabasappa GK, Shaila D, Seetharam YN, Sanjeevarao I. (2007).** Phytochemical studies on *Bauhinia racemosa* Lam., *Bauhinia purpurea* Linn And *Hardwickia binata* Roxb. *E-Journal of Chemistry*. 4 : 21-31.

**Scalbert A., Williamson G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*. 130 (8) : 2073-2085.

**Scheler A. (1888).** Dictionnaire d'étymologie française d'après les résultats de la science moderne, 3e édition. Falk, Bruxelles P. weissenbruch, rue 45 du poinçon. 552 p.

**Shackelford SD, Koohmaraie M, Miller MF, Crouse JD, Reagan JO. (1991).** An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of the longissimus muscle of angus by hereford versus Brahman crossbred heifers. *J. Anim.Sci.* 69 : 171-177.

**Société privée.** Additifs alimentaires [en ligne]. Disponible sur : <http://www.additifs-alimentaires.net/E392.php> > (consulté le 28/07/2018)

**Soltner D. (1979).** La production de la viande bovine .8eme Edition. Collection Sciences et Techniques agricole Angers, France. 319 p.

**Staron T. (1979).** La viande dans l'alimentation humaine. Ed APRIA, Paris. 110 p.

**Starton T. (1982).** Viande et alimentation humaine .Ed. Apria, Paris. pp : 110-111.

**Staub H, Bayer L. (2013).** Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Grancher Jacques Grancher Editions, Paris. pp : 685.

**Stefanovits-Banyai E, Tulok MH, Tulok A, Hegedus C, Renner IS. (2003).** Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones. *Acta Biologica Szegediensis*. 47 (1-4) : 111–113.

## T

**Tharwa ACT, Bright VIC. (2014).** Food Additives: Food Additives – General. *Encyclopedia of Food Safety*. 2 : 449-454.

**Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA. (1972).** *Flora Europaea, Diapensiaceae to Myoporaceae*. The Pitt Building, Trumpington Street, Cambridge CB2 1RP 32 East 57th Street, New York, NY 10022, USA. 385 p.

## V

**Venugopala K, Rashmi V, Odhav B. (2013).** Review on natural Coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*. 2013:14.

**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.

## Références bibliographiques

**Virling E. (2003).** Les viandes dans l'aliment et boissons. CRDP, France . pp : 58-78.

### W

**Walker EH, Pacold ME, Perisic O, Stephens L, Hawkins PT, Wymann MP, Williams RL. (2000).** Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Mol Cell.* 6 : 909–919.

**Wang W, Wu N, Zu YG, Fu YJ. (2008).** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry.* 108 (3) : 1019-1022.

**Wollinger A, Perrin É, Chahboun J, Jeannot V, Touraud D, Kunz W. (2016).** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chimie.* 6 (19) : 754–765.

### Y

**Yang R, Lin S, Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition.* 17 (51) : 275-279.

### Z

**Zanella CA, Treichel H, Cansian RL, Roman SS. (2012).** The effects of acute administration of the hydroalcoholic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (Lamiaceae) in animal models of memory. [Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.](#) 48 (3) : 389–397.

**Zaouali Y, Bouzaine T, Boussaid M. (2010).** Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology.* 48 : 3144–3152.

**Zhong X, Wang X, Zhou N, Li J, Liu J, Yue J, Hao X, Gan M, Lin P, Shang X. (2021).** Chemical Characterization of the Polar Antibacterial Fraction of the Ethanol Extract from *Rosmarinus Officinalis*. *Food Chemistry.* 344 : 128674.

**Zoubeidi C. (2004).** Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis* .thèse de magistère Chimie Organique, Université Kasdi Merbah de Ouargla, Faculté des Sciences et Sciences de L'ingénieure. 45 p.

# ***ANNEXES***

## **ANNEXE 01**

### **GELOSE VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar)**

#### **FORMULE**

Peptone	7,00
Chlorure de sodium	5,00
Extrait de levure	3,00
Rouge neutre	0,03
Sels biliaires N° 3	1,50
Cristal violet	0,002
Lactose	10,00
Agar	15,00

### **GELOSE PCA**

#### **FORMULE**

Peptone de caséine	5,00
Extrait de levure	2,50
Glucose	1,00
Agar	15,00

### **GELOSE BAIRD-PARKER**

#### **FORMULE**

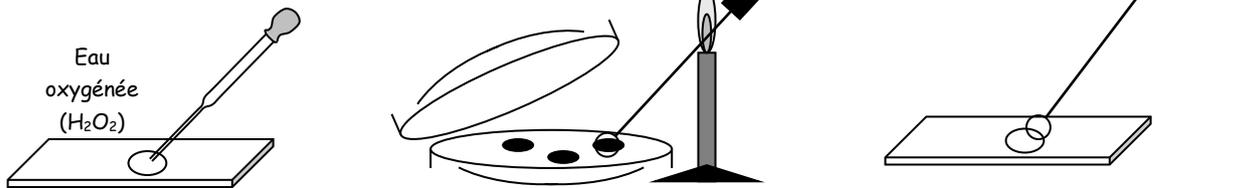
Peptone de caséine	10,00
Extrait de viande	5,00
Extrait de levure	1,00
Chlorure de lithium	5,00
Glycine	12,00
Pyruvate de sodium	10,00
Agar	20,50

## ANNEXE 02

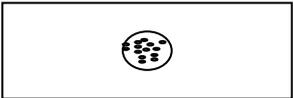
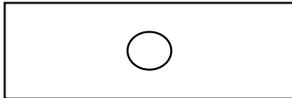
### TEST DE CATALASE

#### Technique

- déposer sur une lame **une goutte d'eau oxygénée** (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur
- prélever une colonie à l'aide de l'anse
- dissocier la colonie dans la goutte



#### Lecture

Bulles d'oxygène	Pas de bulle
La bactérie possède la catalase, elle est dite :	La bactérie ne possède pas la catalase, elle est dite :
<b>Catalase +</b> 	<b>Catalase -</b> 

#### Technique coagulase libre

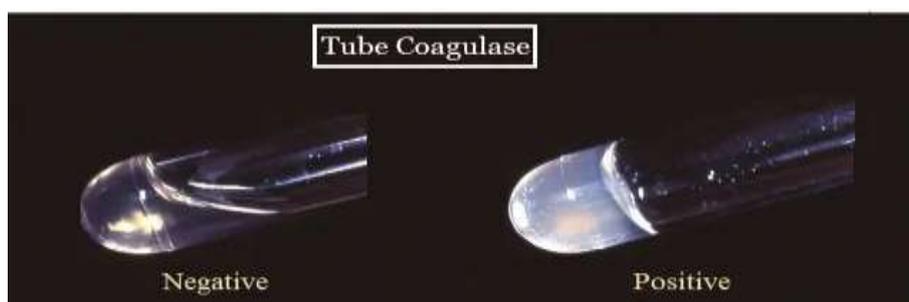
La méthode du tube est utilisée pour la détection de la coagulase libre. Les coagulases libres sont différentes de la coagulase liée, pour le mécanisme de coagulation, elles ont nécessité l'activation d'un facteur de réaction de la coagulase plasmatique (CRF), qui est une molécule de thrombine transformée ou dérivée, pour former un complexe coagulase-CRF.

Le plasma de lapin est ajouté au tube qui agit comme un facteur de liaison. Après cela, le complexe réagit avec le fibrinogène et forme le caillot de fibrine dans un tube à essai.

#### Résultats du test de coagulase et observation

**Test de coagulase positif :** Terminez la formation de caillots ou tout degré de formation de caillots avant 24 heures.

**Test de coagulase négatif :** Absence de formation de caillots à 24 h à 25°C.



## **ANNEXE 03**

### **Coloration de Gram**

#### **Technique**

- Réaliser un frottis ou un étalement.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé.
- Laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries. Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
- Rincer très brièvement en faisant couler de l'H<sub>2</sub>O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.
- Laisser agir 1 minute.
- Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H<sub>2</sub>O comme précédemment décrit.
- Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone. Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.
- Rincer à l'H<sub>2</sub>O.
- Contre-colorer en déposant la solution de safranine (rose) pendant 1 minute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.
- Rincer à l'H<sub>2</sub>O.
- Laisser sécher à l'air.
- Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile. Examiner au microscope, objectif x100.