

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid IBn Badis  
Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

AISSAOUI louiza

Pour l'obtention du diplôme de

### **MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

**Spécialité : Production et transformation laitières**

#### THÈME

*Effet de l'utilisation d'un mélange d'huiles essentielles  
de romarin et de thym sur l'amélioration de la  
conservation d'un fromage à caillé lactique*

Soutenu publiquement le 09/07/2019

Devant les membres du jury

|                |                       |                   |              |
|----------------|-----------------------|-------------------|--------------|
| Président :    | Dr TAHLAITI .H        | Maître Assistante | U.Mostaganem |
| Encadreur :    | Dr DAHOU.A            | Maître Assistant  | U.Mostaganem |
| Examinatrice : | Dr RECHIDI SIDHOUM .N | Maître Assistante | U.Mostaganem |

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2018-2019

## REMERCIEMENTS

Avant tout je remercie « Allah » le tout puissant qui m'a éclairé le chemin de la réussite et m'a donné beaucoup de courage, de la volonté et de la force pour réaliser ce modeste travail.

Cette étude m'a permis d'appliquer des techniques récentes des applications fromagères, le plaisir des « manip » à la paillasse, de travailler avec des personnes différentes. Et si cette étude existe aujourd'hui, c'est grâce :

A M DAHOU .A. El-Amine Maître Assistant à l'université de Mostaganem, qui a encadré ce travail, je lui adresse un grand merci pour sa pleine assistance, la confiance témoignée et l'autonomie accordée tout au long du déroulement du travail

Je suis particulièrement reconnaissant à Mme TAHLAI-TI .H Maître de conférence à l'université de Mostaganem d'avoir accepté de juger mon travail en tant que Présidente du jury à ainsi qu'à Mme RECHIDI SIDHOUM .N. Maître de conférence à l'université de Mostaganem de bien vouloir évaluer et examiner ce mémoire.

A Mr HOMRANI .A Directeur du Laboratoire L.ST.P.A de l'université de Mostaganem pour son accompagnement à la bonne réalisation de nos diverses opérations expérimentales.

Mes remerciements s'adressent également au personnel du laboratoire AFAK Oran.

A tous les étudiants, étudiantes et à l'ingénieur du laboratoire M .BENHARRAT.

Je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste mémoire.

## Dédicaces

Avant tout, je remercie le grand dieu qui nous aider à élaborer ce travail

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie mon travail à mes chers, respectueux et magnifiques parents qui m'ont soutenus tout au long de ma vie merci mes parents, ainsi ma belle-mère Chorfi kheira qui m'a toujours encouragé

Je dédie ce travail à :

- mon mari Hamouche Sofiane qui m'a aide et soutenu tout le temps,

Sans oublier notre petite ange Tasnim Ghizlen

-mes chères sœurs :Souad ,Amina ,khadija mes belles sœurs Asmaa ,Ahlem,Imen ainsi que leurs maris et enfants

- mes chers frères :Ahmed, Mhamed ,Mohamed ,Samir ,Miloud ,Mnewer sans oublier leurs femmes et leurs enfants, et toute la famille Aissaoui et Hamouche sans exception

Mes chères coupines :Djemy ,Rofeida, Romeisa ,Aya,Souhila,Lamia,Saida, Sabrina,Zolikha ,Fadila ,Sihem,Salma ,

Et tous mes enseignants, je leurs exprime ma profonde gratitude

A tous les étudiants de ma promotion de production et transformation laitieres

## Résumé

Ce travail s'est intéressé à l'étude de l'effet de l'incorporation des huiles essentielles obtenues des deux espèces végétales aromatiques ; Romarin cinéole (*Rosmarinus officinalis*, des feuilles) et Thym Thymol (*Thymus vulgaris*, des feuilles) sur la qualité d'un fromage frais à caillé lactique . Il a été défini dans notre protocole expérimental l'incorporation sur nos caillés fromagers lactiques des doses d'huiles essentielles sélectionnées aux concentrations allant de 0,25 ml/kg à 1ml/kg pendant le moulage-conditionnement . Leur comportement au cours de la conservation et semi-affinage a été déterminé par le suivi de l'évolution des paramètres physico-chimiques et microbiologiques pendant trois semaines à 15°C. Nos résultats ont donné par rapport au témoin une inhibition presque complète de la flore d'altération surtout pour la préparation faite avec l'huile essentielle de Romarin qui a un spectre large fongicide contre la flore fongique par rapport à celle faite avec l'huile essentielle de Thym . Cette flore d'altération a été ramenée initialement par la matière première à multiplication rapide sur les produits fermentés. Le fromage fabriqué à partir l'HE de Thym à 1ml/kg et avec microbiote initial sélectionné contrôlé de souches mésophiles composés essentiellement de Lactococcus a présenté une qualité organoleptique appréciable sans aucune altération de la qualité sensorielle

- **Mots clés** : Huiles essentielles, Romarin cinéole, Thym thymole, inhibition, fongicide

## ملخص

ركز هذا العمل على دراسة تأثير دمج الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها من نوعي النباتات العطرية:

Thym Thymol و Romarin cinéole (*Rosmarinus officinalis*, des feuilles)

(*Thymus vulgaris*, des feuilles) على جودة الجبن الطازج الذي تم تعريفه في البروتوكول التجريبي الخاص بنا على دمج جرعات الجبن بالزيوت الأساسية المختارة بتركيزات تتراوح من 0.25 مل / كغم إلى 1 مل / كغم خلال عملية تشكيل قوالب الجبن. وشبه النضج تم تحديده من خلال رصد تطور المؤشرات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لمدة ثلاثة أسابيع عند 15 درجة مئوية.

أعطت نتائجنا مقارنة بشاهد تثبيط شبه كامل خاصة مع المستحضر المصنوع من الزيت الأساسي romarin الذي يتميز بطيف واسع مثبت للفطريات مقارنة بالزيت الأساسي المصنوع من الزعتر والتي تثبط بشكل خاص الخمائر و الفطريات التي تم إحضارها في البداية بواسطة المواد الأولية سريعة التكاثر على المنتجات المخمرة.

قدمت نتائج الجبن المصنوع من الزعتر بتركيز 1 مل / كغم ومع microbiote الأولية المختارة التي تسيطر عليها سلالات mesophile تتكون أساساً من Lactococcus جودة عالية دون أي تغيير في الحسية

الكلمات الأساسية: الزيوت الأساسية ، Romarin cinéole ، Thym Thymol ، تثبيط ، مبيد للفطريات

## Abstract

This work focused on the study of the effect of the incorporation of essential oils obtained from the two aromatic plant species: Rosemary cineole (*Rosmarinus officinalis*, leaves) and Thym Thymol (*Thymus vulgaris*, leaves) on the quality a fresh cheese with lactic curd. It was defined in our experimental protocol the incorporation on our milk cheese curds doses of essential oils selected at concentrations ranging from 0.25 ml / kg to 1ml / kg during the molding-conditioning. Their behavior during the conservation and semi-ripening was determined by monitoring the evolution of physicochemical and microbiological parameters for three weeks at 15 ° C. Our results gave against the control an almost complete inhibition of the flora of deterioration especially for the preparation made with the essential oil of Rosemary which has a broad spectrum fungicidal against the fungal flora compared to that made with the essential oil This alteration flora was initially brought back by the fast-multiplying raw material on the fermented products. The cheese made from 1 ml / kg *Thymus* HE and with selected initial microbiota of mesophilic strains composed mainly of *Lactococcus* showed an appreciable organoleptic quality without any alteration of the sensory quality.

• Keywords: Essential oils, Rosemary cineole, Thym thymole, inhibition, fungicide

## Table des matières

Résumé , ملخص, Abstract

Liste des abréviations, sigles et acronymes

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

**Introduction**.....16

### Première partie. Étude bibliographique

**Chapitre I : Le fromage**.....20

I.1. Historique et origine des fromages.....20

I.2. Définition du fromage..... 20

I.3. Méthode générale de fabrication du fromage.....20

I.4. Différents type de fromage.....21

I.5. Les fromages frais.....22

I.5.1. Définition du fromage frais.....22

I.5.2. Différents types de fromages frais.....22

I.5.3. Composition de fromage frais.....23

I.5.4. Les caractéristiques physicochimiques, organoleptiques et microbiologiques du fromage frais  
.....23

I.5.5. Les étapes de fabrication du fromage frais .....24

**Chapitre II : Les Additifs alimentaires**.....26

II.1. Définition.....26

II.1.1. Classification des additifs alimentaires.....26

II. 1.2. Les catégories d'additifs alimentaires.....27

|   |           |
|---|-----------|
| II.2. Les arômes.....   | 27        |
| II.2.1. Définition .....  | 27        |
| II.2.2. Les agents d'aromatisation .....                          | 28        |
| II.2.2.1. Préparations aromatisantes .....                        | 28        |
| II.2.2.2. Substances aromatisantes naturelles.....                | 28        |
| II.2.2.3. Substances aromatisantes identiques aux naturelles..... | 28        |
| II.2.2.4. Substances aromatisantes artificielles.....             | 29        |
| II.3. Les conservateurs.....                                      | 29        |
| II.3.1. Définition.....   | 29        |
| II.3.2. Les types des conservateurs.....                          | 29        |
| II.3.2.1. Les conservateurs organiques.....                       | 29        |
| II.3.2.2. Les conservateurs minéraux.....                         | 30        |
| II.4. Les antioxydants.....                                       | 30        |
| II.4.1 Définition.....  | 30        |
| II.4.2. Principaux antioxydants primaires.....                    | 31        |
| II.4.2.1. Antioxydant d'origine naturelle.....                    | 31        |
| II.4.2.2. Antioxydant d'origine synthétique.....                  | 31        |
| <b>Chapitre III : les huiles essentielles.....</b>                | <b>33</b> |
| III.1 Définition des huiles essentielles.....                     | 33        |
| III.2 Classification des huiles essentielles.....                 | 33        |
| III.3 Mode d'action des huiles essentielles.....                  | 34        |
| III.4. Le Thym.....   | 34        |
| III.4.1. Généralité sur le Thym.....                              | 34        |

|   |    |
|---|----|
| III.4.1.1 Description de l'arbre.....                           | 34 |
| III.4.1.2 Classification botanique .....                        | 35 |
| III.4.1.3 Composition de la plante.....                         | 36 |
| III.5 Huile essentielle de Thymus.....                          | 36 |
| III.5.1 Définition.....   | 36 |
| III.5.2 Rôle physiologique.....                                 | 37 |
| III.5.3 Localisation et lieu de biosynthèse.....                | 37 |
| III.6 Extraction des huiles essentielles.....                   | 38 |
| III.7 Toxicité de l'huile essentielle de thym.....              | 40 |
| III.8 Domaine d'application de l'huile essentielle de thym..... | 40 |
| III.9 Le romarin.....   | 40 |
| III.9.1 Description et systématique.....                        | 40 |
| III.9.2 Habitat et culture.....                                 | 41 |
| III.10 Composition chimique.....                                | 42 |
| III.10.1 Huiles essentielles.....                               | 42 |
| III.10.2 Composés phénoliques.....                              | 42 |
| III.11. Usages..... ;   | 42 |
| III.11.1 Usage médicinal et traditionnel.....                   | 42 |
| III.11.2 Usage alimentaire.....                                 | 43 |
| III.12 Activités biologiques des huiles essentielles.....       | 43 |
| III.12.1 Activité antioxydant de l'huile essentielle.....       | 43 |

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| III.12.1.1  | Définition de l'activité antioxydante.....  | 43 |
| III.12.1.2. | Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle sur les aliments..... | 43 |
| III.13      | Activité antimicrobienne.....   | 44 |
| III.13.1    | Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles.....                               | 44 |
| III.13.2    | Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne.....                                  | 45 |
| III.14      | Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....                  | 47 |

|  |       |    |
|--|-------|----|
| <b>Chapitre IV : La flore microbienne de fromage</b>                 | ..... | 50 |
| IV.1.Flore originelle  | ..... | 50 |
| IV.2.Flore apportée.....   | ..... | 50 |
| IV.3.Flore de contamination.....                                     | ..... | 50 |
| IV.4.Les normes applicables aux différentes variétés de fromage..... | ..... | 53 |

## **Deuxième Partie. Recherche Expérimentale**

### **Chapitre I – Matériels et Méthodes**

|   |       |    |
|---|-------|----|
| I – Matériels et Méthodes                         | ..... | 60 |
| II-Désinfectants.....                             | ..... | 60 |
| III- Sels.....                                    | ..... | 60 |
| IV-Enzymes et ferments.....                       | ..... | 60 |
| V- Matière première.....                          | ..... | 60 |
| VI-Méthodes.....                                  | ..... | 61 |
| VI-1- Reconstitution du lait.....                 | ..... | 61 |
| VI- 2- Elaboration et formulation du fromage..... | ..... | 61 |
| VI- 2-1-Local de production.....                  | ..... | 61 |

|   |            |
|---|------------|
| VI- 2-3-Etapes de fabrication de fromage.....   | 62         |
| VI- 2-4- Diagramme de fabrication du fromage frais.....   | 63         |
| VII- Les analyses .....   | 64         |
| VII- 1- Analyses du lait reconstitué.....   | 64         |
| VII-2- Analyses sur le fromage.....   | 65         |
| VII- 2-1- Analyses physico-chimiques.....   | 65         |
| VII- 2-2- Analyses microbiologiques.....  | 65         |
| A- Dénombrement des coliformes totaux et les coliformes thermo-tolérants.....   | 67         |
| B- Recherche et dénombrement de <i>staphylococcus aureus</i> .....  | 68         |
| C- Le dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT).....   | 68         |
| D- La recherche de levures et moisissures sur milieu Sabouraud.....   | 69         |
| E- Recherche des Salmonelles .....  | 69         |
| VII- 3- Analyse sensorielle.....  | 70         |
| <b>Chapitre II : Résultats et discussion.....</b>   | <b>72</b>  |
| 1. Qualité physico-chimique et microbiologique du lait , du fromage préparé et suivi de son évolution à la date limite de consommation..... | 84         |
| 1.1 Qualité physico-chimique .....  | 84         |
| .Synthèse des caractéristiques physico-chimiques de l'essai de fromage frais.....   | 87         |
| 1.2 Qualité microbiologique.....  | 88         |
| .Synthèse des caractéristiques microbiologiques de nos essais.....  | 92         |
| 2- Analyse sensorielle des fromages retenus.....  | 93         |
| <b>Conclusion et perspective .....</b>  | <b>96</b>  |
| <b>Annexes.....</b>   | <b>99</b>  |
| <b>Références bibliographiques .....</b>  | <b>107</b> |



**Liste des abréviations** :sigles et acromnymes

**ADP** :Adénosine monophosphate

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ATP** :Adénosine Tri Phosphate

**Aw** :Activité d'eau

**BHA** : Butylhydroxyanisol

**BHT** : Butylhydroxytoluène

**Ca** : Calcium

**CMB** :Concentration Minimale Bactéricide

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**C°** : Degré Celsius

**CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone

**DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl

**°D** : Degré dornic

**EST** : Extrait Sec Total

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**F.I.L** :Fédération Internationale Laitiere

**FTAM** : Flore Totale Aérobie Mésophile

**G/S** : Taux Gras sur Extrait sec

**HE** :Huile Essentielle.

**G** :gramme

**JORA** : Journal Officiel du République Algérienne .

**MAT** : Matière Azote Total

**MG** : Matière Grasse

**MGES** :Matière grasse dans l'extrait sec

**MP** :Matière Protéique

**NPP** :Nombre le plus probable

**µm**: Nanomètre

**P** : Phosphore

**PH** : Potential d'hydrogène

**SDCA**:Sabouraud Dextrose au Chloramphénicol

**SE** :Staphylococcique Entérotoxine

**TIAC** :Toxi-Infections Alimentaires Collectives

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UV** :Ultra Violet

## Liste des tableaux:

|  |     |
|--|-----|
| <b>Tableau 1</b> : Valeur nutritionnelle moyenne des fromages frais .....  | p23 |
| <b>Tableau 2</b> : Classification des additifs alimentaires.....   | p26 |
| <b>Tableau 3</b> : La classification de l'espèce de Thymus .....   | p36 |
| <b>Tableau 4</b> : Critères microbiologiques du fromage.....   | p57 |
| <b>Tableau 5</b> : Les étapes de formulation du fromage.....   | p62 |
| <b>Tableau 6</b> : les germes recherchés dans le fromage .....   | p65 |
| <b>Tableau 7</b> : Analyses physico-chimique du lait reconstitué et des fromages frais et semi-affinés.....                                | p72 |
| <b>Tableau 8</b> : qualité microbiologique du fromage témoin sans huiles essentielles.....   | p74 |
| <b>Tableau 9</b> : qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Romarin à une concentration de 0,25 ml/kg de fromage.....  | p75 |
| <b>Tableau 10</b> : qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Romarin à une concentration de 0,5 ml/kg de fromage.....  | p76 |
| <b>Tableau 11</b> : qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Romarin à une concentration de 0,75 ml/kg de fromage..... | p77 |
| <b>Tableau 12</b> : qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Romarin à une concentration de 1ml/kg de fromage.....     | p78 |
| <b>Tableau 13</b> : qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Thym à une concentration de 0,25 ml/kg de fromage.....    | p79 |
| <b>Tableau 14</b> : qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Thym à une concentration de 0,5 ml/kg de fromage.....     | p80 |
| <b>Tableau 15</b> : qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Thym à une concentration de 0,75 ml/kg de fromage.....    | p81 |

**Tableau 16** :qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de Thym à une concentration de 1 ml/kg de fromage.....p82

**Tableau 17** : Résultats de l'analyse sensorielle des fromages retenus.....p83

## Liste des figures:

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figure 1</b> :Les feuilles de la plante de Thymus.....   | p35 |
| <b>Figure 2</b> : Photographie des feuilles et fleurs de <i>Rosmarinus Officinalis</i> .....  | p41 |
| <b>Figure 3</b> :Diagramme de fabrication du fromage frais.....   | p63 |
| <b>Figure 4</b> :Préparation des dilutions décimales.....   | p67 |
| <b>Figure 5</b> : Evolution de la matière protéique M.P %du fromage préparé à la date limite de consommation J+21 .....                                     | p85 |
| <b>Figure 6</b> : Evolution du G/S % du fromage préparé à la date limite de consommation J+21 .....   | p86 |
| <b>Figure 7</b> :Evolution du rapport Ca/p du fromage préparé à la date limite de consommation J+21.....  | p86 |
| <b>Figure 8</b> : Evolution du pH du fromage préparé à la date limite de consommation J+21 .....  | P87 |
| <b>Figure 9</b> : Evolution de la Flore d'altération fongique (levures et moisissures) sur notre fromage témoin à la date limite de consommation J+21.....  | p89 |
| <b>Figure 10</b> : Effet de l'incorporation de l'huile essentielle de Thym sur la flore d'altération fongique à la date limite de consommation J+21.....    | p91 |
| <b>Figure 11</b> : Effet de l'incorporation de l'huile essentielle de Romarin sur la flore d'altération fongique à la date limite de consommation J+21..... | p92 |

## Liste des annexes

### Annexe A

- milieux de cultures .....P99

### Annexe B

- extraction des huiles essentielles.....P101

### Annexe C

-fiche d'analyse sensorielles comparative des fromages.....P103

### Annexe D

1- fiche technique détergent –désinfectant DEPTAL MDS .....P104

2- fiche technique ASEPTANIOS OXY.....P105

# Introduction

# Introduction

---

Le lait par ses grandes qualités nutritionnelles, a toujours été considéré comme un aliment à part entière, mais sa consommation a souvent été limitée en raison de sa grande instabilité. L'irrégularité de la production, par son caractère saisonnier, et la grande fragilité du produit ont incité les producteurs à rechercher des formes de repos des éléments essentiels du lait (Jeantet Romain, 2017).

C'est dans ce contexte que sont apparues il y a plusieurs millénaires les premières transformations fromagères. L'homme s'aperçut rapidement que la déstabilisation du lait facilite l'expulsion de l'eau et créait des conditions favorables à la conservation.(Jeantet Romain, 2017).

Le fromage frais appartenant à la famille des caillés lactiques est un produit, fermenté ou non, obtenue par la coagulation du lait, de la crème ou de leur mélange, suivis d'égouttage et contenant au minimum 23 g de matière sèche pour 100g de fromage (Larpent, 1997). Ils sont consommés, comme leur nom l'indique sans être affinés, la gamme des fromages frais est vaste. Ils peuvent être nature, aromatisés, allégés en matière grasse, enrichis en crème, avec des morceaux de fruits, sucrés ou édulcorés. Ces fromages à cause de leur humidité sont toujours de courte conservation (Veisseyre, 1975; St Gelais et Collet, 2002).

L'utilisation des substances d'origine naturelle comme bioconservateur est de plus en plus apprécié par les consommateurs comme alternative aux produits chimiques hautement dangereux pour la santé humaine (Vivek *et al.*, 2012). L'utilisation des huiles essentielles dans ce sens a fait l'objet d'une centaine de travaux de recherche qui démontre leur efficacité au niveau des aliments aussi bien pour la prolongation de leur durée de vie que pour l'aromatisation. Dans ce dernier cas, l'objectif étant de mettre sur le marché de nouveaux produits tout en diversifiant l'offre déjà existante, leur activité antimicrobienne a été largement démontré( Lahlou ,2004 ).

En Algérie, le lait de vache présente une charge microbienne très élevée, mettant en cause sa qualité marchande ainsi que sa qualité hygiénique.

Notre présent travail consiste à élaborer un fromage frais à base d'huiles essentielles extraites des plantes aromatiques qui joueront un rôle essentiel en améliorant leur conservation en agissant sur la flore d'altération.

## Introduction

---

Selon Holley and Patel (2005), les huiles essentielles possèdent des profils de composition chimique différents permettant de les utiliser comme agents naturels de conservation des aliments et notamment des produits laitiers.

Cette étude a pour objectif de contribuer à l'amélioration de la qualité et la diversification du fromage frais fabriqué à base de lait reconstitué. Cet objectif est recherché à travers l'étude de l'effet de l'incorporation des huiles essentielles du thym et de romarin à différentes concentrations sur la vie utile du fromage frais et la qualité du fromage semi affiné.

Le travail est présenté selon le plan suivant et qui comprend, une première partie relative à une étude bibliographique qui met l'accent sur les deux principaux volets ; Les additifs alimentaires naturels « les huiles essentielles » et le fromage.

Une deuxième partie exposant le matériel et les méthodes mises en œuvre pour : La formulation du fromage et l'incorporation des huiles essentielles, les analyses réalisées sur le fromage en conservation et l'étude sera validée par une analyse sensorielle.

Et enfin une troisième partie est consacré aux résultats obtenus ainsi que leurs analyses et discussions.

Première partie  
Etude bibliographique

# Chapitre I

## Le fromage

# Chapitre I : Le fromage

---

## **I.1 Historique et origine des fromages**

on n'en connaît pas l'origine précise des fromages , mais on sait grâce à des découvertes archéologiques qu'il a été fabriqué du fromage depuis les origines de l'élevage, il y a environ huit mille ans, dans le croissant Fertile. L'homme s'aperçut que le lait qu'il entreposait coagulait et, qu'une fois séparé de son sérum, le coagulum devenait une masse compacte qui pouvait sécher, et donc se conserver et être transporté. L'acidification spontanée à l'origine de la coagulation entraînant du fait de sa lenteur une remontée de la crème à la surface, les laits fermentés, le petit lait aigre, et le beurre furent sans doute les premiers produits laitiers. Les laits de brebis et de chèvre furent apparemment les premiers laits transformés, les ovins et les caprins ayant été les premiers animaux domestiqués (Fox et Mc Sweeney (2004))

## **I.2 Définition du fromage**

D'après le codex alimentaire (CODE ALIMENTARIUS / CODEX STAN 283-1978). Le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait .Le fromage est le produit obtenu par coagulation du lait suivie d'un égouttage du coagulum . La définition « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origines exclusivement laitières (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage. (Jeantet et al. 2006 ; St-Gelait et al. 2002).

## **I.3 Méthode générale de fabrication du fromage**

Selon Brule et al. (1997), la transformation du lait en fromage comporte quatre étapes principales, ces dernières peuvent être précédé par une opération de standardisation du lait, qui comprend l'ajustement du pH d'emprésurage pour faciliter la coagulation du lait, l'ajout de minéraux, la réduction de la teneur en lactose, l'ajustement de la teneur en matière grasse et ou en protéines (Vignola, 2002), parce que les laits n'ont pas la même aptitude à la transformation fromagères, ils présentent un certain nombre de caractéristiques différentes qui conditionnent leur aptitude à la déstabilisation, nécessaire pour passer de l'état liquide à l'état solide.(Jeantet et al., 2006).

# Chapitre I : Le fromage

---

La transformation du lait en fromage comporte en générale quatre étapes (Brule et al, 1997) :

- La coagulation: modification physico- chimique entraînant la formation d'un gel sous l'action d'acide lactique et/ou enzymes ;
- L'égouttage: séparation d'une partie de lactosérum qui conduit à l'obtention du caillé ;
- Le salage: par incorporation du sel sur le caillé de fromage
- L'affinage: est la transformation biochimique des constituants du caillé sous l'action d'enzymes, pour la plupart d'origine microbienne (Eck, 1987).A l'exception des fromages frais, tous les autres types de fromages subissent une maturation biologique plus ou moins prononcée, destinée à développer leur saveur, tout en modifiant leur aspect, texture et leur consistance. Le processus d'affinage correspond à une phase de digestion enzymatique des composants du caillé. La coagulation et l'égouttage ont assuré la préparation d'un substrat essentiellement constitué de caséine, de matière grasse et de lactose, partiellement convertie en lactate. Ce substrat est peuplé de microorganismes et, au cours de l'affinage, ces constituants seront transformés sous l'action d'enzymes présentes à l'origine dans le caillé ou élaborées au cours même de l'affinage par synthèse microbienne (Choisy et al 1997).Au cours de l'affinage, il y a dégradation plus ou moins poussée de la caséine mais aussi des matières grasses. L'oxygène, l'humidité et la température d'entreposage jouent un rôle très important dans la maturation des fromages (Guiraud, 2003).

## **I.4 Différents types de fromage**

Il n'existe pas de classification simple rationnelle et universelle des fromages, en raison de sa grande diversité. Les fromages se diffèrent entre eux selon des caractères spécifiques liés à la flore microbienne, au mode de coagulation et d'égouttage sans oublier l'espèce animale d'où le lait provient (David et Forte. 1998).

Les différents types de fromage sont:

- Les fromages frais ou à pâtes fraîches ;
- Les pâtes molles à croûte fleurie et à croûte lavée ;
- Les pâtes persillées ;

- Les pâtes pressées non cuites et cuites ;
- Les pâtes dures ;
- Les pâtes filées ;
- Les fromages fondus.

### **I.5 Les fromages frais**

#### **I.5 .1 Définition du fromage frais**

Le fromage frais est une pâte très humide, peu minéralisée, c'est le produit d'une coagulation lente à dominance acide, obtenue grâce à l'action des bactéries lactiques combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure (1-5 ml/100 l de lait) et un temps d'incubation long. Ces fromages ont une grande diversité selon le degré d'égouttage du coagulum et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre. Leur teneur en protéines et en calcium quel que soit le type de fromage frais leur confère une qualité nutritionnelle importante (Mahaut et al., 2000 ;Eck et Gillis, 2006).

#### **I.5 .2 Différents types de fromage frais**

Selon la classification de la technologie française, on trouvera deux types des fromages frais :

- les fromages blanc moulés, ou le caillé garde son individualité à l'état de bloc ou de grains (type faisselle ou campagne) (Luquet, 1990), se caractérisent par une texture hétérogène en morceaux (Get, 2002).
- les fromages frais à structure homogène :- A extrait sec faible et texture onctueuse, comme les fromages blancs battus ou lissés. - A extrait sec plus élevé et texture tartinable comme les petits suisses (Luquet, 1990). Ils peuvent être additionnés de sucre, de sel, de fruits, d'épices ou herbes. On peut varier le taux de matière grasse de moins de 3 ,5% à plus de 10% (Get., 2002).

### I.5.3 Composition du fromage frais

Le fromage est très riche de part sa composition, en protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et en minéraux (Walther et al., 2008). Le tableau N°1 montre la valeur nutritionnelle de fromage frais.

**Tableau 1** : Valeur nutritionnelle moyenne des fromages frais (Richonnet, 2015)

| <b>Composition</b>                        | <b>Valeur nutritionnelle</b> |
|---|------------------------------|
| <b>Eau</b>                                | 79 g                         |
| <b>Energie (kcal/100g)</b>                | 118                          |
| <b>Glucides (g/100g)</b>                  | 4                            |
| <b>Lipides (g/100g)</b>                   | 17                           |
| <b>Acides gras saturés (AGS) (g/100g)</b> | 12                           |
| <b>Protéines (g/100g)</b>                 | 9                            |
| <b>Sodium (mg/100g)</b>                   | 520                          |
| <b>Calcium (mg/100g)</b>                  | 95                           |
| <b>Phosphore (mg/100g)</b>                | 140                          |

### I.5.4 Les caractéristiques physicochimiques, organoleptiques et microbiologiques du fromage frais

Le fromage frais présente une grande diversité selon le degré d'égouttage et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre. Ces caillés restent très humides (75 à 80%) et sont peu minéralisés. Le fromage frais ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, surtout, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience. Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physicochimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation. Généralement, Le pH (<4,2) et l'acidité titrable (> 0,9%) sont les paramètres les moins variables du fromage frais (Chabane, A., Djeddi, M., 2016).

### **I.5.5 Etapes de fabrication du fromage frais**

La fabrication du fromage frais comprend trois étapes: la formation d'un gel de caséines, c'est la coagulation du lait; la déshydratation partielle du gel, c'est l'égouttage qui aboutit à un caillé et le salage. Les fromages frais sont fabriqués à base de lait reconstitué chauffé dans lequel est ajouté un ferment lactique et/ou de la présure ; enzyme issue de la caillette de veau ; qui va provoquer la coagulation. Le petit-lait en excès est ensuite égoutté, durant cette phase, ce sont presque 80% de lactosérum contenue dans le caillé qui est extraite, puis ce dernier est placé dans un tissu à fromage, ou dans de petits moules pour prise de forme et égouttage

# Chapitre II

## Les Additifs alimentaires

## Chapitre II: les additifs alimentaires

### II. 1 Définition des additifs alimentaires

Une directive du ministre de commerce du 21 décembre 1988 publiée au Journal Officiel de la République Algérienne le 11.02.1989 donne la définition d'un additif alimentaire comme suit : "On entend par additif alimentaire toute substance habituellement non consommée comme aliment en soi, non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation, possédant ou non une valeur nutritive ; son adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires est faite dans un but technologique, au stade de leur fabrication, transformation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage : "elle a pour effet de devenir elle-même, ou ses dérivés, un composant des denrées alimentaires".

#### II.1.1 Classification des additifs alimentaires

La classification de l'Union Européenne (UE) a, aujourd'hui, supplanté l'ancienne classification, ou même celle du " Codex Alimentarius ". Elle classe les additifs en 24 catégories, ci-après désignées :

**Tableau 2 :** Classification des additifs alimentaires selon l'Union Européenne

|           |                       |           |                                   |
|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------------------|
| <b>01</b> | <b>Colorants</b>      | <b>13</b> | <b>Amidons modifiés</b>           |
| <b>02</b> | Conservateurs         | 14        | Educouleurs                       |
| <b>03</b> | Antioxygènes          | 15        | Poudre à lever                    |
| <b>04</b> | Emulsifiants          | 16        | Antimoussants                     |
| <b>05</b> | Sel de fonte          | 17        | Agents d'enrobage                 |
| <b>06</b> | Epaississant          | 18        | Agents du traitement de la farine |
| <b>07</b> | Gélifiants            | 19        | Affermissants                     |
| <b>08</b> | Stabilisants          | 20        | Humectants                        |
| <b>09</b> | Exhausteurs de goût   | 21        | Séquestrant                       |
| <b>10</b> | Acidifiants           | 22        | Enzymes                           |
| <b>11</b> | Correcteurs d'acidité | 23        | Agents de charge                  |
| <b>12</b> | Antiagglomérants      | 24        | Gaz propulseurs et d'emballage    |

## Chapitre II: les additifs alimentaires

---

### II.1.2 Les catégories d'additifs alimentaires

Il existe différentes catégories d'additifs alimentaires :

- Les colorants : ils modifient la couleur des denrées alimentaires pour ajouter ou rétablir la coloration d'un aliment et ainsi augmenter son attrait visuel pour le consommateur.
- Les conservateurs : ils limitent, ralentissent ou stoppent la croissance de microorganismes présents ou entrants dans l'aliment, et préviennent donc l'altération des produits ainsi que les intoxications alimentaires.
- Les émulsifiants : ils vont permettre de stabiliser une émulsion (on appelle émulsion le mélange plus ou moins stable de deux liquides normalement non miscibles) pendant une certaine période.
- Les antioxydants : ce sont des protecteurs chimiques, c'est-à-dire des molécules qui s'opposent aux phénomènes de stress oxydant, évitant ou bloquant les réactions d'oxydation, le plus souvent en réagissant avec les radicaux libres oxygénés impliqués dans ces processus.
- Les exhausteurs de goût : ce sont des substances qui, sans avoir une saveur propre prononcée, ne modifient pas le goût mais augmentent l'intensité de la perception olfacto-gustative d'une denrée alimentaire
- Les édulcorants : ce sont des composés synthétiques ou semi-synthétiques qui présentent un pouvoir sucrant supérieur à celui du sucre de table (saccharose), (Becker et al, 2009)

### II.2 Les arômes

#### II.2.1 Définition

Une directive du ministre de commerce du 16 décembre 2008 publiée au Journal Officiel de la République Algérienne le 31.12.2008 donne la définition des arômes comme suit :

Les arômes sont utilisés pour améliorer ou modifier l'odeur et/ou le goût des aliments pour le bénéfice du consommateur. Les arômes et les ingrédients alimentaires possédant des propriétés aromatisantes ne devraient être utilisés que s'ils honorent aux critères établis dans le présent règlement.

Ils doivent être d'un usage sûr; en conséquence, certains arômes doivent faire l'objet d'une

## Chapitre II: les additifs alimentaires

---

évaluation des risques avant d'être autorisés pour l'alimentation humaine. Dans la mesure du possible, il convient d'examiner particulièrement si l'utilisation de certains arômes pourrait avoir des conséquences négatives pour certains groupes vulnérables.

L'utilisation d'arômes ne devrait pas induire le consommateur en erreur; en conséquence, leur présence dans les denrées alimentaires devrait toujours être indiquée par un étiquetage approprié. Les arômes ne devraient notamment pas être utilisés afin d'induire le consommateur en erreur notamment en ce qui concerne la nature, la fraîcheur et la qualité des ingrédients utilisés, le caractère naturel d'un produit ou de son processus de fabrication ou la qualité nutritionnelle du produit. D'autres éléments pertinents, tels que des facteurs sociaux, économiques, traditionnels, éthiques et environnementaux, le principe de précaution ainsi que la faisabilité des contrôles, devraient également être pris en compte dans le cadre de l'autorisation des arômes.

### **II.2.2 Les agents d'aromatisation**

#### **II.2.2.1 Préparations aromatisantes**

Il s'agit d'agents d'aromatisation dont la composition est moins « pure » que pour les substances aromatiques. Il s'agit par exemple des huiles essentielles, jus concentrés (norme AFNOR NF T 75-006).

#### **II.2.2.2 Substances aromatisantes naturelles**

Les substances aromatisantes naturelles sont obtenues par des procédés physiques appropriés (y compris la distillation et l'extraction au solvant) ou par des procédés enzymatiques ou microbiologiques à partir des mêmes matières premières que les préparations aromatisantes. (Clarisse et al, 2006)

#### **II.2.2.3 Substances aromatisantes identiques aux naturelles**

Ces substances sont obtenues par synthèse chimique et sont identiques chimiquement à une substance présente naturellement dans une matière première d'origine végétale ou animale. (Clarisse et al, 2006)

## Chapitre II: les additifs alimentaires

---

### II.2.2.4 Substances aromatisantes artificielles

La synthèse chimique a permis d'élaborer des structures n'existant pas dans la nature, ou non encore identifiées et pourtant dotées de caractéristiques organoleptiques: le cas le plus typique est celui de l'éthylvanilline. Ces substances sont obtenues par synthèse chimique et ne sont pas identiques chimiquement à une substance présente naturellement dans une matière première d'origine végétale ou animale. (Clarisse et al, 2006)

### II.3 Les conservateurs

#### II.3.1 Définition

Le conservateur est toute substance capable de s'opposer aux altérations d'origines chimiques ou microbiologiques. Les conservateurs sont réglementés sous la forme de listes positives et négatives. L'intégration d'un conservateur dans une liste et la détermination du seuil maximal d'utilisation se font selon deux critères principaux :

- l'intérêt technologique du conservateur
- les interactions et impacts avec l'environnement proche (échanges contenus-contenant, impact sur la santé du consommateur et sur l'environnement en général) Les altérations peuvent être soit chimiques soit biologiques. Sont utilisés pour « lutter contre les altérations chimiques : antioxydants, anti-UV, anti ozonant, retardateur de flamme.., biologiques : antifongiques, antibactériens ...

Certains additifs de conservation peuvent jouer le double rôle d'antimicrobien et d'antioxygène. (Pierre, 2012).

#### II.3.2 Les types des conservateurs

Les substances utilisées peuvent être organiques (acides carboxyliques) ou minérales (nitrates, sulfites ou sels).

##### II.3.2.1 Les conservateurs organiques

On peut citer parmi les conservateurs organiques :

- L'acide sorbique et sorbates ;

## Chapitre II: les additifs alimentaires

---

- L'acide benzoïque et benzoate ;
- Les dérivés de l'acide ^-hydroxybenzoïque.

### II.3.2.2 Les conservateurs minéraux

Pour ces conservateurs on dispose de la liste suivante :

- Les chlorures et les phosphates ;
- Les nitrites et les nitrates ;
- Anhydride sulfureux et sulfites ;
- L'anhydride carbonique. (Pierre, 2012)

### II.4 Les antioxydants

Les anti-oxydants réduisent les réactions d'oxydation des matières grasses et des graisses alimentaires, les graisses alimentaires sont particulièrement exposées à des phénomènes d'oxydation au contact de l'oxygène de l'air. Ce sont des réactions en chaîne qui se déclenchent et s'accélèrent sous l'action de la lumière, de la chaleur et de certains métaux (cuivre, fer). Elles conduisent à la formation de composés qui peuvent être nocifs pour l'homme (peroxydes) et à des produits de dégradation d'odeur et de saveur désagréables (rancissement). (Gounelle et Astier 1980)

#### II.4.1 Définition

Les antioxydants sont des substances d'origine soit naturelle, soit synthétique, qui peuvent inactiver des composés initiaux ou intermédiaires de ces réactions d'oxydation, et ainsi éviter la formation des produits finaux nuisibles à la qualité de l'aliment. On distingue ainsi les antioxydants dits primaires, et les antioxydants à activité synergique, n'ayant pas eux-mêmes ce rôle, mais capables de renforcer l'action antioxygène d'autres additifs. On utilise généralement ensemble au moins deux antioxydants (par ex. gallate) ainsi qu'un composé à activité synergique (acide citrique). Les antioxydants présentent un avantage économique face à d'autres méthodes qui inhibent l'oxydation des matières grasses comme l'emballage sous vide et à l'abri de la lumière, ou le stockage à basse température.(Gounelle et Astier 1980).

## Chapitre II: les additifs alimentaires

---

### II.4.2 Principaux antioxydants primaires

On peut distinguer les antioxydants d'origine naturelle et ceux d'origine synthétique.

#### II.4.2.1 Antioxydant d'origine naturelle

Antioxydants d'origine naturelle ce sont principalement l'acide ascorbique ou vitamine C (E 300) que l'on trouve abondamment dans les fruits et légumes, et les tocophérols présents naturellement dans les plantes oléagineuses et les céréales. Ces antioxydants ne sont pas adaptés à certains usages; ainsi dans l'huile à frire les tocophérols sont inactivés à haute température, et donc inutilisables.

#### II.4.2.2 Antioxydant d'origine synthétique

Certains Antioxygènes de synthèse ont des propriétés leur permettant de répondre à ces exigences, ainsi on liste les composés phénoliques suivants :

- les gallates : gallates de propyle, d'octyle et de dodécyle, ont été les premiers antioxydants synthétisés (brevet du propyle gallate comme antioxydant en 1942). Ces antioxydants ont l'inconvénient d'être peu stables à l'humidité, et de colorer en violet les produits contenant des traces de fer, phénomène que l'on atténue par addition d'un agent chélateur comme l'acide citrique;
- le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) n'ont pas ces inconvénients, mais sont éliminés à haute température. D'autres substances ont une action antioxygène, mais également d'autres fonctions pour lesquelles elles sont principalement employées : anhydride sulfureux (E 220), sulfites (E 221 à 226), et lécithines (E 322). Des additifs sont ajoutés aux aliments afin de renforcer l'action antioxygène d'autres additifs : les principaux sont les acides lactiques (E 270), citrique (E 330) et orthophosphorique (E 338) et leurs sels de calcium, sodium et potassium. (Gounelle et Astier 1980).

# Chapitre III

## Les huiles essentielles

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

### III.1 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles désignent les composants liquides, odorants et hautement volatiles des plantes. Elles sont obtenues à partir de toutes les parties de la plante (feuilles, graines, bourgeons, fleurs, écorces, racine et fruits), mais aussi, à partir des gommés qui s'écoulent du tronc des arbres et parfois des troncs même (Kone, 2001).

Ce sont des métabolites secondaires composés d'environ 90 % de terpènes. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés peu complexes, contenant plusieurs familles biochimiques incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les sesquiterpènes, les terpénols, les cétones, les aldéhydes, ...etc. Mais ne contenant aucun acide gras, ni aucun autres corps gras (Bastien, 2008).

Les "huiles" essentielles ne sont pas des lipides et n'ont de commun avec les huiles fixes ou végétales que leur aspect physique et leur comportement apolaire. De plus, les huiles essentielles sont volatiles et solubles dans les solvants organiques polaires, à l'inverse des huiles fixes (Bastien, 2008).

Les huiles essentielles sont employées aussi bien pour leurs propriétés pharmacologiques qu'aromatiques, mais elles jouent aussi le rôle de conservateurs alimentaires (Burt, 2004).

### III.2 Classification des huiles essentielles

On distingue deux types de classification des huiles essentielles (Bekhechi et al., 2010) :

#### III.2.1 Selon la composition chimique

- les huiles essentielles hydrocarburées qui sont les plus nombreuses.
- les huiles essentielles oxygénées qui présentent toutes les huiles essentielles solides (HE du camphre).
- les huiles essentielles sulfurées retrouvées chez les Liliaceae et les Brassiaceae.

#### III.2.2 Selon la couleur de l'huile

- les incolores qui sont dépourvues de résines et d'azulène.
- les jaunes qui renferment des résines.

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

- les bleues qui contiennent de l'azulène.
- les jaunes, vert et vert-brun qui contiennent de l'azulène mais aussi d'autres colorants.

### III.3 Mode d'action des huiles essentielles

Certaines huiles essentielles possèdent des effets antiseptiques (antibactériens et antifongiques) assez puissants. Elles agissent par lésions membranaires, par inhibition de la croissance cellulaire, par inhibition de la sporulation et inhibition de la toxigenèse (Gabriel et al., 2013). Les modes d'actions sont multiples:

- Altérations membranaires :
  - les huiles essentielles sont constituées de molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, leur accumulation entre les phospholipides entraîne un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaire des substances nutritives (Burt, 2004).
  - les huiles essentielles peuvent perturber le gradient ionique de part et d'autre de la membrane cytoplasmique, bloquant la production de l'énergie cellulaire et diminuant la stabilité membranaire.
- Inhibitions enzymatiques : les groupements fonctionnels des composés terpéniques (phénoliques et aldéhydiques) des huiles essentielles réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique (Giordani et al., 2006).

### III.4 Le Thym

#### III.4.1 Généralités sur le Thym

##### III.4.1.1 Description de l'arbre

Le mot «Thym » provient du terme grec « Thymos » qui signifie « odeur ». Son parfum est agréable, fort, frais et balsamique (Padrini et Lucheroni, 1996). Thymus est un vaste genre divisé en huit sections, comprenant environ 215 espèces particulièrement répandus dans la région méditerranéenne. Dans la flore algérienne ce genre est représenté par 11 espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination, en raison de leur variabilité et de leur tendance à s'hybrider

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

facilement, parmi lesquelles : *T. numidicus* Poiret. (Hazzit et al. 2009) localement connu « Zaitra ».



**Figure 1** : les feuilles de la plante de Thymus

### III.4.1.2 Classification botanique

Le Thym fait partie de la Famille des Lamiacées (Labiées), La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin. Elle est divisée en deux principales sous-familles: les Stachyoideae et les Ocimoideae. Les lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous- arbrisseaux ou ligneuses. Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal. Entre autres, un grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources de terpénoïdes, flavonoïdes et iridiodes glycosylés. (Botineau, 2010).

## Chapitre III : Les huiles essentielles

**Tableau 03:** La classification de *Thymus* d'après Quezel et Santa (1963), Morales (1997), Pedersen (2000) et Guignard et Dupont (2004).

| Embranchement      | Phanérogames ou Spermaphytes   |
|--------------------|--------------------------------|
| Sous-embranchement | Angiospermes                   |
| Classe             | Eudicots                       |
| Sous-classe        | Astéridées                     |
| Ordre              | Lamiales                       |
| Famille            | Lamiacées                      |
| Genre              | <i>Thymus</i>                  |
| Espèce             | <i>Thymus numidicus</i> Poiret |

### III.4.1.3 Composition de la plante

Le Thym déshydraté possède un potentiel énergétique élevé, c'est une très grande source de vitamine K et de fer (plus de 500 fois les apports journaliers recommandés), du calcium, du manganèse et du zinc (quantité moyenne). Concernant les vitamines présentes dans le Thym, on trouve des petites quantités de vitamines B1, B2, B3, B6, B9, vitamine C et vitamine E. le Thym contient aussi du magnésium, cuivre, phosphore, du sélénium et des fibres. Chacune des différentes variétés de Thym possèdent leurs propres huiles essentielles (présentent dans les feuilles), et qui jouent un rôle essentiel dans les propriétés médicinales de la plante. La composition et la quantité (de 0,5 à 3%) des huiles essentielles varient considérablement d'une plante à une autre, selon la variété de Thym, les zones de culture et les conditions climatiques. Parmi les autres composants, le Thym contient des flavonoïdes, dont les propriétés sont anti-inflammatoires, antispasmodiques, mais aussi antioxydante, ainsi que des acides phénols qui sont également de grands antioxydants, des antiviraux et des anti-inflammatoires efficaces (Ginseng, 2013).

### III.5 Huile essentielle de *Thymus*

#### III.5.1 Définition

Le mot « Thym » vient du latin « *Thymos* » et signifie « pour parfumer ». L'HE de thym est extrait par distillation par la vapeur à partir des feuilles fraîches ou sèches et des sommités fleuries, de

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

couleur jaune clair à jaune orange, ses qualités sont nombreuses. Elle a un goût fort, puissant, épicé, herbeux, plutôt plaisant. L'essence du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Rasooli et al. 2006) ; (Naghdi et al.2004).

Les huiles essentielles du thym sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure. La variabilité chimique des HEs du thym dépend de plusieurs facteurs, qui généralement sont d'ordres climatiques et environnementaux. Mais peuvent être aussi d'ordre génétique et saisonnier (stade végétale) (Loziene et al. 2007).

Les huiles essentielles sont des substances complexes, huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques (Nicole, 2008). Elles sont considérées comme des produits de première transformation (Mélanie et al. 2001).

Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent et en particulier les labiés, les Ombellifères, les Myrtacées, les lauracées (Sharing, 2005).

### **III.5.2 Rôle physiologique**

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs (Thompson et al. 2003 ; Ormeno et al. 2007).

### **III.5.3 Localisation et lieu de biosynthèse**

L'huile est souvent localisée sur la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des Lauracées ou de Zingiberacées, poils sécréteurs des Labiées , poche sécrétrice des Myrtacées ou de Rutacées, canaux sécréteurs des Apiacées ou des Astracées. La composition de l'huile essentielle peut varier selon sa localisation dans les organes d'une même espèce (Bruneton, 1993).

Chez les labiées, les cellules sécrétrices s'obtiennent par cloisonnement répété de la cellule-mère l'aide de cloisons verticales se coupant à angle droit. L'huile sécrétée par les cellules de tête, traverse la paroi cellulosique et se collecte dans une cavité que crée la cuticule en se soulevant ; elle

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

se distend et persiste. Les poils ont une origine épidermique.

Cependant, on classe dans les poils sécréteurs ces émergences de cellules parenchymateuses qui prennent une forme capitée et se séparent finalement de la cellule- mère par une paroi transversale, en bordure de lacunes aérifères (sites endogènes) (Crète, 1962). De tels poils sécréteurs, dits «internes», sont caractéristiques de certaines fougères (Spiro et Chen,1994)

### **III.6 Extraction des huiles essentielles**

Il existe plusieurs méthodes d'extraction comme l'hydro-distillation, l'expression à froid, l'enfleurage, l'extraction par solvants organiques, ... (Pierron, 2014).

#### **III.6.1 Extraction par pression à froid**

Cette technique sans chauffage est réservée à l'extraction des zestes des agrumes. Le principe est mécanique. Il est fondé sur la rupture des péricarpes, réservoirs d'essences olfactives, en passant les agrumes sur des récipients dont les parois sont recouvertes de pics en métal. L'essence est libérée par un courant d'eau, puis décantée. La présence de l'eau peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse, de contamination par des pesticides résiduels ou des micro-organismes. Une nouvelle technique physique basée sur l'ouverture

des sacs oléifères par éclatement sous l'effet soit d'une dépression, soit par abrasion de l'écorce fraîche, éliminerait l'eau et diminuerait les effets d'oxydation des composés de ces essences (Pierron, 2014).

#### **III.6.2 Extraction par hydrodistillation**

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (Bruneton, 1993) .

#### **III.6.3 Extraction par Entraînement à la vapeur d'eau**

C'est probablement sur le plan tonnage, que la codistillation avec vapeur d'eau est la principale

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

technique de production des huiles essentielles. Trois groupes de techniques sont utilisés :

La distillation à la vapeur, ou hydrodistillation : dans laquelle le végétal est en contact direct avec l'eau bouillante, ce qui évite d'agglutiner les charges végétales comme le fait l'injection de vapeur. Quelques utilisations actuelles : rose, fleurs d'oranger, amande pulvérisée.

La distillation à la vapeur saturée : le végétal est supporté dans l'alambic par une plaque perforée située à une certaine distance au-dessus du fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau saturée, mais pas avec l'eau bouillante.

La distillation à la vapeur directe, saturée ou surchauffée : souvent à des pressions supérieures à l'atmosphérique, est identique à la précédente, sans eau dans le fond de l'alambic, la vapeur étant introduite au-dessous de la charge végétale (ou en dessus dans le système d'hydro-diffusion). Technique la plus utilisée actuellement, elle évite le contact prolongé du végétal avec l'eau en ébullition et la formation de certains artefacts (Peyron, 1992 ; Garnero, 1996).

### III.6.4 Extraction par les solvants organiques

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation.

Etant de nature huileuse, les essences sont solubles dans les solvants organiques. Un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue» (Belaiche, 1979 ; Duraffourd et al.1990).

### III.6.5 Extraction par le CO<sub>2</sub>

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé: il s'agit du CO<sub>2</sub> en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C) (Lorrain, 2013). A l'état supercritique, le CO<sub>2</sub> n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO<sub>2</sub> sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux (Perron et Richard, 1992).

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

### III.7 Toxicité de l'huile essentielle de thym

Les huiles essentielles sont des substances très actives. A ce titre, elles doivent être utilisées avec vigilance, et toujours sur la base de connaissances fiables et suffisantes. L'huile essentielle de Thym est dermocaustique (irritante pour la peau) par la présence de phénols. Elle ne s'emploie jamais pure en application sur la peau ou dans un bain. Diluer au maximum 20% dans une huile végétale pour une utilisation percutanée. (GAYDA, 2013). L'essence de thym, par la présence de thymol, peut provoquer des troubles gastro-intestinaux et une dépression du système nerveux central. Chez la souris, une diminution de l'activité locomotrice et une légère dépression respiratoire ont été observées pour des doses de 0,5 à 3 g d'extrait de thym par kg de poids corporel. Chez le rat, la dose létale de l'huile essentielle par voie orale est de 2,84 g/kg.

### III.8 Domaine d'application de l'huile essentielle de thym

Il est bien connu que le thym est une plante condimentaire très appréciée, que l'on fait sécher pour des utilisations ultérieures. L'huile essentielle de thym riche en thymol est couramment utilisée pour la confection de savons et d'autres produits. Il entre aussi dans l'élaboration de certaines liqueurs C'est l'un des remèdes populaires les plus utiles. Les égyptiens et sumériens de l'antiquité l'utilisaient pour embaumer leurs morts. Les romains le brûlaient pour purifier l'air et éloigner les animaux nuisibles. Ils s'en servaient aussi pour aromatiser fromages et boissons alcoolisées et les militaires en mettaient dans leur bain pour se donner de la vigueur. Au Moyen Age, les nobles portaient de petits bouquets pour se prémunir des odeurs, il était réputé pour donner du courage aux chevaliers. Il entre aussi dans la composition de produits cosmétiques (Saidj, 2006).

### III.9 Le Romarin:

#### III.9.1 Description et systématique

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante de la famille des Lamiacées poussant à l'état spontané sur le pourtour Méditerranéen. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée, toujours vert à feuilles allongées et à fleurs bleu azur à mauve mesurant environ de 0,6 à 1,8m de hauteur (Fadili et al., 2015).

Le Romarin tient son nom du latin, ros, de rosée, et marinus, de mer : allusion à son parfum, sa saveur piquante et à son habitat sur les coteaux maritimes (Bousbia, 2011).

## Chapitre III : Les huiles essentielles

Selon (Gaussen et al., 1982), la classification de la plante est décrite comme suit :



**Figure 2:** Photographie des feuilles et fleurs de *Rosmarinus Officinalis* (Gaussen et al., 1982).

### III.9.2 Habitat et culture

Le Romarin existe dans les régions arides et sèches, les collines et montagnes peu élevées et rocailleuses, sur terrains calcaires, schisteux et argileux (Gaussen et al., 1982). C'est une plante vivace, arbustive, originaire du bassin Méditerranéen et le sud-ouest de l'Asie, actuellement répandue un peu partout sous les climats tempérés qui connaissent des hivers doux. La plante aime le plein soleil et tolère modérément la sécheresse (Bousbia, 2011). Il existe plusieurs espèces de romarin dans le monde: *R. officinallis*, *R. eriocalyx*, *R. laxiflorus* et *R. lavandulaceus*. *R. officinallis* est la seule espèce qui croît naturellement dans les pays du bassin Méditerranéen, ainsi que dans les zones qui entourent l'Himalaya. Elle est cultivée en début du printemps jusqu'à l'été (Wichtl et Anton, 2003).

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

### III.10 Composition chimique

#### III.10.1 Huiles essentielles

Le romarin est relativement riche en huiles essentielles (1 à 5%) (Ouraïni et al., 2005). Constituées de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante et le sol sur lequel elle est cultivée, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction (Bousbia, 2011). Selon Ouraïni (2005) et Ribeiro-Santos (2015), le constituant prédominant des huiles essentielles du romarin est le cinéole (50.2%).

#### III.10.2 Composés phénoliques

Les composés phénoliques (polyphénols) sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués dans la nature, possédant plusieurs groupements phénoliques (Bahorun, 1997).

Selon (Borras-Linares, 2015), les principaux composés phénoliques identifiés dans le romarin sont essentiellement des acides phénols (acide rosmarinique, carnosique, quinique...) et des dérivés flavonoïques (dérivés de lutéoline et de quercétine).

### III.11 Usages

#### III.11.1 Usage médicinal et traditionnel

Le romarin est une plante médicinale bien connue et considérablement évaluée, largement répandue dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle. Il est connu pour ses propriétés anti-oxydantes, antimicrobiennes, analgésiques, anti-inflammatoires et antiulcérogènes (EL Kamli et al., 2017). Ses parties aériennes sont utilisées par voie orale, dans la médecine traditionnelle, pour soulager les dysménorrhées et la colique rénale et comme antispasmodique (Gonzalez – Trujano et al., 2007).

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

### **III.11.2 Usage Alimentaire**

Le romarin est utilisé dans les industries agro-alimentaires comme agent antioxydant et comme alternative aux additifs chimiques pour la préparation de la volaille, des fruits de mer, des saucisses ainsi que des soupes et chapelures (Bousbia, 2011).

Il est également utilisé frais, séché, comme extrait ou comme huile essentielle, c'est un ingrédient souvent utilisé pour ajuster la saveur dans la cuisine et dans l'infusion de thé (Ribeiro-Santos, 2015).

### **III.12 Activités biologiques des huiles essentielles**

#### **III.12.1 Activité antioxydant de l'huile essentielle**

##### **III.12.1.1 Définition de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante est un ensemble des actions qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques et capable de réagir avec les radicaux libres et les rendent inoffensif (neutraliser et les dégrader). Il est un système de protection qui lui permet de lutter contre les radicaux libres (Amazal, 2010).

##### **III.12.1.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle sur les aliments**

##### **III.12.1.3 Méthode du piégeage du radical libre DPPH**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible, à la longueur d'onde de 517 nm (Wootton-Beard et al. 2011). Il fût l'un des premiers radicaux libres, utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Osman, 2011 ; Floegel et al. 2011). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le radical DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire (Popovici et al. 2009).

La méthode du DPPH est indépendante de la polarité de substrat. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH, en présence d'un antioxydant qui donne un

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

hydrogène ou un électron. La forme non radicalaire DPPH-H est formée. Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante :

% d'activité antioxydant  $[\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$  Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH pour une concentration en extrait donné et un temps donné. Le test de réduction du DPPH permet aussi de calculer la CE50 (Dongmo et al. 2010). La valeur CE50 est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH (Simionatto et al. 2007).

### III.12.1.4 Test de blanchissement du p-carotène

Dans le test du P-carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes et des hydroperoxydes conjugués (Kaur et Kapoor, 2002). Ces radicaux vont par la suite oxyder le P-carotène hautement insaturé, ce qui entraîne la perte de ses doubles liaisons et, par conséquent, la disparition de sa couleur rouge. Cependant, la présence d'un antioxydant (extraits, témoins positifs) permet de neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et, donc, la prévention de l'oxydation et le blanchissement du P-carotène (Yanishlieva et al, 1995 ; Belhattab, 2007 ; Yang et al, 2008).

### III.13 Activité antimicrobienne

#### III.13.1 Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles

L'une des premières mises en évidence in vitro de l'activité antibactérienne des huiles essentielles date de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, lorsque Buchholtz a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de l'huile de thym en 1875. Toutefois, il aura fallu attendre le début du XX<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Cox et al, 2000).

Néanmoins, le mécanisme d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles (Burt, 2004). La variabilité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-organismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action (Guinoiseau, 2010).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (Wendakoon et Sakaguchi, 1995 ; Tsuchiya et al, 1996). Egalement, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique (Tsuchiya et al., 1996 ; Hammer et al., 1999 ; Daroui-Mokaddem, 2011).

Certains composés phénoliques des HE interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (Kurita et Koike, 1982, Knoblocet al, 1989).

### **III.13.2 Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne**

L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives (Agnihotri et al, 2003). Son composé majoritaire, le carvacrol (No. CAS 499- 752), possède également une forte activité antimicrobienne (Caccionni et al, 1998).

### **III.13.3 Aromatogramme**

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'HE sur le germe testé. On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité (Guerin et Carret, 1999).

### **III.13.4 Méthode de diffusion en puits**

Un puits (d'environ 6mm) est creusé au centre de la gélose dans lequel sera coulée une quantité d'huile essentielle pure ou diluée. Après incubation, des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont obtenues (pour les huiles actives) et mesurées (Dorman et Deans, 2000).

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

Pour ces 2 techniques, la sensibilité du germe testé peut être évaluée selon le diamètre d'inhibition obtenu. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm. Elle est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible (Duraffourd et al 1990).

### **III.13.5 Méthode de micro-atmosphère**

Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de Pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d'HE qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée après fixation de l'HE sur le disque. Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (Pibiri, 2005).

### **III.13.6 Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide**

La détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique d'une huile essentielle est réalisée en procédant à un repiquage des zones d'inhibition formées et ne présentant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu sur milieu de culture.

- S'il y a croissance bactérienne, l'huile essentielle a un effet bactériostatique sur la souche testée.
- S'il au contraire il y a absence de croissance bactérienne, l'huile essentielle présente un effet bactéricide vis-à-vis de cette souche. La CMI est définie comme étant la plus basse concentration capable d'empêcher une croissance bactérienne visible. La CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur (Mann et Markham, 1998).

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la petite concentration de l'agent inhibiteur ne laissant subsister que 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide de l'HE (Haddouchi et al, 2009)

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

### III.14 Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles:

**Efficacité antimicrobienne** : l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de deux principaux paramètres : l'huile essentielle et sa composition chimique d'une part, et le microorganisme (type, structure...) d'autre part (Kalemba et al, 2003).

#### **Activité liée à la composition chimique :**

L'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Toutefois, les composés minoritaires pourraient agir de manière synergique (Lahlou, 2004).

De nombreuses études ont mis en évidence une activité antimicrobienne qualitativement similaire entre les huiles essentielles et leurs composés chimiques testés isolément. Cependant il existe des différences quantitatives. En effet, il a été prouvé que l'effet antimicrobien des huiles essentielles est supérieur à celui de ses composés majoritaires testés séparément ((Lahlou, 2004 ; Didry et al ,1993). Et selon l'étude de Lambert et al. 2001, l'association des principaux composés (Dorman et Deans, 2000) actifs agirait de façon synergique en potentialisant l'action antimicrobienne de l'huile essentielle. Les composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools, (a-terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures (Cosentino et al, 1999 ; Dorman et Deans, 2000).

Les phénols, dont le thymol et l'eugénol, sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent (Burt et Reinders, 2003 ; Lambert et al. 2001 ; Cox et al. 2000). Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane (Pibiri, 2006). Cependant, il est à signaler que les phénols seuls ne sont pas responsables de l'intégralité de l'activité des huiles essentielles; les autres composés chimiques doivent également être pris en compte (Cosentino et al, 1999). Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives, en dénaturant les protéines (Dorman et Deans, 2000).

Les aldéhydes, fortement électronégatif à double liaison, deviennent de puissants agents antimicrobiens en réagissant avec les composés nitrés vitaux (protéines et acides nucléiques) des bactéries ( Dorman et Deans 2000).

## Chapitre III : Les huiles essentielles

---

### **Activité liée au microorganisme**

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à sa forme planctonique ou en biofilm, à son métabolisme et à sa résistance.

En effet, les bactéries à Gram positif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif (Zaika, 1988 ; Santos et Novales, 2012). Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles diffère selon que la bactérie croît en forme planctonique ou au sein d'un biofilm bactérien.

La résistance bactérienne aux huiles essentielles, comme pour tout agent antimicrobien, semble être liée à la formation du biofilm. En effet, un isolat clinique récent peut montrer une résistance augmentée, pouvant provenir des interactions avec les cellules de l'hôte (Alviano, 2009), tandis que les microorganismes évoluant sous forme planctonique sont plus susceptibles (Fine et al, 2001).

# Chapitre IV

## La flore microbienne de fromage

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

---

### IV. 1 Flore originelle

D'après (Guiraud et Galzy, 1980). Le lait contient peu de microorganismes lors d'un prélèvement d'un animal sain ( $<10^3$  cellules/ml), il s'agit d'une flore saprophyte des canaux galactophores et du pis, dont des microcoques, des streptocoques lactiques et des lactobacilles. Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices (les lacténines) à action très courte (1 h), la flore banale ne présente pas de danger sanitaire mais peut se développer et altérer dans le lait .

### IV. 2 Flore apportée

Les ferments lactiques utilisés dans la fabrication de fromage sont des souches commercialisées telles que les bactéries mésophiles lactiques employées dans les fabrications au lait de vache, ce sont des flores d'acidification (*Lactococcus lactis* et *Lc. cremoris*) et d'aromatisation (*Lactococcus sp. Lactisbiovar diacetylactis*), mais aussi des bactéries thermophiles (*Streptococcus thermophilus*) utilisées dans les fromages à prise rapide (camembert) pour leur pouvoir protéolytique, permettant d'avoir un gout plus développé (Jaouen et Mouillot, 1985).

### IV. 3 Flore de contamination

D'après Eck et Gillis (2006) le fromage est un aliment très susceptible aux contaminations, la présence de contaminants varie selon la capacité de leur développement, c'est le caractère physico-chimique et les conditions d'affinage et de stockage qui les définissent, trois critères sont importants:

- L'activité de l'eau ( $A_w$ ) qui diminue avec le salage et devient inhibitrice à 0,95.
- Le potentiel d'oxydoréduction, élevé en surface (aérobie) et faible dans la pâte (anaérobie) favorise la sélection microbienne.
- Le pH variable dans le temps, en surface et en profondeur d'un fromage à un autre, la gamme 4,5-5,2 est la limite pour l'inhibition des microorganismes, néanmoins certaines exceptions sont visibles dont les champignons qui croient à un pH inférieur à la limite.
- En absence de traitement thermique pour les fromages au lait cru, les bactéries pathogènes s'accroissent fortement (conditions technologiques favorables) et peuvent être d'origine exogène (environnement) ou endogène (animale malade), la plupart de celles retrouvées dans le fromage

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

---

sont des ubiquistes : bactéries originaire du lait cru (agents de mammites), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*

### IV.3.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est le micro-organisme pathogène le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers.

L'intoxication résulte de l'ingestion d'entérotoxines staphylococciques (SE) produites dans les aliments par des souches de *S. aureus* productrices de SE (Derzelle et al., 2009). Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves chez les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées. La contamination du lait cru à la production est due à la flore présente dans la mamelle en cas d'infection, de la flore de contamination apportée par le milieu extérieur au cours des différentes manipulations (Brouillette et al., 2004).

Si le lait cru reste la principale source de contamination des produits laitiers en staphylocoques, il faut préciser que la pasteurisation détruit facilement ces bactéries mais pas l'entérotoxine produite dans le lait (Von Eiff et al., 2006).

### IV.3.2 *Listeria monocytogenes*

La présence de *L. monocytogenes* dans le lait cru et le lait en vrac a été rapportée par plusieurs auteurs (Moshtaghi et Mohamadpour, 2007). *L. monocytogenes* est une bactérie saprophyte à Gram positif, largement répandue dans la nature. Cette bactérie responsable d'infections sporadiques sévères chez l'homme et les animaux est invasive, capable de traverser le placenta et de pénétrer le système nerveux central (méningo-encéphalites). La listériose est une infection alimentaire due à *Listeria monocytogenes*. Chez l'adulte, elle se manifeste principalement par une septicémie ou une infection du système nerveux central (méningite ou méningo-encéphalite). Chez la femme enceinte, elle peut provoquer un avortement, un accouchement prématuré ou une infection néonatale. La listériose touche, principalement dans les pays industrialisés, les populations à risque comme les femmes enceintes et leurs nouveau-nés, les personnes âgées et les personnes dont les défenses immunitaires sont perturbées, à la suite d'un traitement ou d'une maladie (Van Kessel et al., 2004). Les produits laitiers les plus fréquemment contaminés par *Listeria monocytogenes* sont

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

---

les fromages à pâte molle et au lait cru.

### IV.3.3 Les salmonelles

Salmonella est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie et de certaines personnes. Elle est également présente dans l'environnement et peut contaminer le lait à la production à la ferme. Les personnes qui consomment du lait contaminé par Salmonella sont susceptibles de contracter la salmonellose (De Buyser et al., 2001).

Comme dans le cas d'autres toxi-infections alimentaires (Streit et al., 2006). Les symptômes de la salmonelle se ressemblent à ceux de la grippe. Ils se manifestent habituellement de 12 à 72 heures après l'ingestion d'aliments contaminés et durent généralement jusqu'à sept jours. La plupart des gens s'en remettent sans traitement. Les jeunes enfants, les personnes âgées et les personnes dont le système immunitaire est affaibli sont les plus à risque de développer des complications graves comme la septicémie. Des épidémies de fièvre typhoïde et paratyphoïde ont pour origine la consommation de lait, crème, beurre, crème glacée, etc., n'ayant pas subi de traitement d'assainissement ou qui ont été recontaminés.

### IV.3.4 Les Coliformes

Le terme de coliformes désigne traditionnellement un certain nombre d'espèces appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, capables de fermenter rapidement le lactose (Guiraud et Rosec, 2004). Ces bactéries possèdent les caractères phénotypiques suivants :

Ce sont des bacilles Gram négatif, non sporulés, sans activité oxydase, aérobies ou anaérobies facultatifs (Fauchere et Avriljean, 2002).

Capables de se multiplier en présence de sels biliaires et de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à une température de 35-37°C. Les genres les plus fréquemment isolés dans les laits sont les suivants : Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Yersinia. Ces genres se retrouvent également dans les fromages (Guiraud et Rosec, 2004).

Lorsque les coliformes sont à des niveaux élevés dans les laits ou encore dominants, ils sont responsables des gonflements précoces des fromages, du fait de la production de gaz carbonique et

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

---

d'hydrogène très peu soluble dans le lait. Ils peuvent conférer un aspect spongieux au fromage. Cette production dépend des souches : seules en sont responsables celles qui synthétisent une hydrogène lyase. Etant donné les niveaux importants atteints dans certains fromages à pâte molle (106 à 108 ufc.g1) et du fait de leur aptitude à dégrader des acides aminés, ils présentent un intérêt dans l'élaboration du goût (Tormo, 2010).

### **IV .4 Les normes applicables aux différentes variétés de fromage**

La présente norme s'applique à tous les produits destinés à la consommation directe ou à un traitement ultérieur, conformément à la définition du fromage figurant à la Section 2 de la présente norme. Sous réserve des dispositions de la présente norme, les normes applicables aux différentes variétés de fromage, ou à des groupes de variétés de fromage, peuvent contenir des dispositions plus spécifiques que celles figurant dans la norme. En pareil cas, ces dispositions spécifiques s'appliquent.

### **IV .5 Description de la norme**

Le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait, et qui est obtenu:

(a) par coagulation complète ou partielle des protéines du lait, du lait écrémé, du lait partiellement écrémé, de la crème, de la crème de lactosérum ou du babeurre, seuls ou en combinaison, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation, tout en respectant le principe selon lequel la fabrication du fromage entraîne la concentration des protéines du lait (notamment de la caséine), la teneur en protéines du fromage étant par conséquent nettement plus élevée que la teneur en protéines du mélange des matières premières cidessus qui a servi à la fabrication du fromage et/ou

(b) par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation des protéines du lait et/ou des produits provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques similaires à celles du produit défini à l'alinéa (a).

- Le fromage affiné est un fromage qui n'est pas prêt à la consommation peu après sa fabrication, mais qui doit être maintenu pendant un certain temps à la température et dans

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

---

les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage.

- Le fromage affiné aux moisissures est un fromage affiné où l'affinage est provoqué essentiellement par la prolifération de moisissures caractéristiques, dans la masse et/ou sur la surface du fromage.
- Le fromage non affiné dont le fromage frais est un fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après sa fabrication.

### IV.6 Facteurs essentiels de composition et de qualité

- Matières premières Lait et/ou produits obtenus à partir du lait.
- Ingrédients autorisés :
  - Cultures de bactéries lactiques inoffensives (levain) et/ou bactéries productrices d'arômes, et cultures d'autres micro-organismes sans danger
  - Enzymes appropriées et inoffensives
  - Chlorure de sodium
  - Eau potable.

### IV.7 Codex des additifs alimentaires autorisés sur les fromages

il existe une liste des additifs alimentaires peuvent être utilisés et uniquement dans les limites fixées.

**Fromages non affinés** Comme énumérés dans la Norme pour les fromages non affinés, y compris le fromage frais (CODEX STAN 221-2001).

**Fromages en saumure** Comme énumérés dans la Norme pour les fromages en saumure (CODEX STAN 208-1999).

**Fromages affinés, y compris fromages affinés aux moisissures** Les additifs qui ne sont pas sur la liste, mais qui sont prévus dans les normes individuelles Codex pour des variétés de fromages affinés peuvent être utilisés pour des fromages de type similaire dans les limites spécifiées par ces normes.

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

---

### IV.8 Contaminants

Les produits visés par les dispositions de la présente norme doivent être conformes aux limites maximales de contaminants prescrites pour ces produits dans la Norme générale pour les contaminants et les toxines présents dans les produits de consommation humaine et animale (CODEX STAN 193-1995).

Le lait utilisé pour la fabrication des produits visés par les dispositions de la présente norme doit être conforme aux limites maximales de contaminants et de toxines prescrites pour le lait dans la Norme générale pour les contaminants et les toxines présents dans les produits de consommation humaine et animale (CODEX STAN 193-1995) ainsi qu'aux limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires ou de pesticides prescrites pour le lait par le CAC.

### IV.9 Hygiène

Il est recommandé que les produits visés par les dispositions de la présente norme soient préparés et manipulés conformément aux sections appropriées du Principes généraux d'hygiène alimentaire (CAC/RCP 11969), du Code d'usages en matière d'hygiène pour le lait et les produits laitiers (CAC/RCP 57-2004) et des autres textes pertinents du Codex tels que les Codes d'usages en matière d'hygiène et les Codes d'usages. Les produits doivent satisfaire à tout critère microbiologique établi conformément aux Principes et Directives régissant l'établissement et l'application de critères microbiologiques relatifs aux denrées alimentaires (CAC/GL 21-1997).

#### IV.9.1 Étiquetage

Outre les dispositions de la Norme générale pour l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées (CODEX STAN 1-1985) et la Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie (CODEX STAN 2061999), les dispositions spécifiques ci-après s'appliquent:

- Nom du produit Le nom du produit doit être fromage. Toutefois, le terme «fromage» peut être omis dans la désignation d'une variété individuelle de fromages réservée par une norme du Codex sur les fromages individuels, et à défaut, dans une appellation de variété spécifiée dans la législation nationale du pays dans lequel le produit est vendu, à condition que cette omission ne crée pas une impression trompeuse quant à la nature du produit.
- Au cas où le produit n'est pas désigné par un nom de variété mais par la seule appellation

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

---

«fromage», la dénomination peut être accompagnée des formules descriptive appropriées

- Déclaration de la teneur en matière grasse laitière Si le consommateur risque d'être induit en erreur par son omission, la teneur en matière grasse laitière doit être déclarée d'une manière jugée acceptable dans le pays de vente au consommateur final, soit i) en pourcentage de la masse, soit ii) en grammes par ration, telle que quantifiée sur l'étiquette, à condition que le nombre de rations soit indique.

Extra gras ou double crème (si la teneur en MGES est égale ou plus de 60 %);

Tout gras ou au lait entier ou crème (si la teneur en MGES est supérieure ou égale à 45 % et inférieure à 60 %);

Mi-gras ou demi-écrémé (si la teneur en MGES est supérieure ou égale à 25 % et inférieure à 45%);

Partiellement écrémé (si la teneur en MGES est supérieure ou égale à 10 % et inférieure à 25 %);

Maigre ou écrémé (si la teneur en MGES est inférieure à 10 %).

### **IV.9.2 Indication de la date**

Nonobstant les dispositions de la Section de la Norme générale pour l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées (CODEX STAN 1-1985), la date de durabilité minimale n'a pas besoin d'être indiquée sur l'étiquette des fromages fermes, durs et extra-durs qui ne sont pas aux moisissures affinés à pâte molle et ne sont pas destinés à être achetés en tant que tels par le consommateur final: en pareil cas, la date de fabrication doit être indiquée.

### **IV.9.3 Étiquetage des récipients non destinés à la vente au détail**

Les renseignements requis à la Section 7 de la présente norme et aux Sections 4.1 à 4.8 de la Norme générale pour l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées (CODEX STAN 1-1985) et, au besoin, les instructions d'entreposage, doivent figurer soit sur le récipient, soit sur les documents d'accompagnement, exception faite du nom du produit, de l'identification du lot et du nom et adresse du fabricant ou de l'emballer qui doivent être indiqués sur le récipient. Toutefois, l'identification du lot, et le nom et l'adresse du fabricant ou de l'emballer peuvent être remplacés par une marque d'identification, à condition que cette dernière puisse être clairement identifiée à l'aide des documents d'accompagnement.

## Chapitre IV : Flore microbienne du fromage

### IV .9.4 Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

Pour vérifier la conformité avec cette norme, on utilisera les méthodes d'analyse et d'échantillonnage figurant dans les Méthodes d'analyse et d'échantillonnage recommandées (CXS 234-1999) se rapportant aux dispositions de cette norme.

**Tableau 4 :** Critères microbiologiques du fromage(JORA)

| Catégories des denrées alimentaires   | Micro-organismes/<br>métabolites | Plan<br>d'échantillonnage |   | Limites microbiologiques<br>(ufc (1)/g ou ufc/ml) |                 |
|---|----------------------------------|---------------------------|---|---|-----------------|
|   |                                  | n                         | c | m   | M               |
| Fromages au lait cru  | <i>Escherichia coli</i>          | 5                         | 2 | 10 <sup>4</sup>                                   | 10 <sup>5</sup> |
|   | Staphylocoques à coagulase +     | 5                         | 2 | 10 <sup>3</sup>                                   | 10 <sup>4</sup> |
|   | <i>Salmonella</i>                | 5                         | 0 | Absence dans 25 g                                 |                 |
|   | <i>Listeria monocytogenes</i>    | 5                         | 0 | 100   |                 |
| Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation | <i>Escherichia coli</i>          | 5                         | 2 | 10 <sup>2</sup>                                   | 10 <sup>3</sup> |
|   | Staphylocoques à coagulase +     | 5                         | 2 | 10 <sup>2</sup>                                   | 10 <sup>3</sup> |
|   | <i>Salmonella</i>                | 5                         | 0 | Absence dans 25 g                                 |                 |
|   | <i>Listeria monocytogenes</i>    | 5                         | 0 | 100   |                 |
| Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation  | <i>Escherichia coli</i>          | 5                         | 2 | 10 <sup>2</sup>                                   | 10 <sup>3</sup> |
|   | Staphylocoques à coagulase +     | 5                         | 2 | 10  | 10 <sup>2</sup> |
|   | <i>Salmonella</i>                | 5                         | 0 | Absence dans 25 g                                 |                 |
|   | <i>Listeria monocytogenes</i>    | 5                         | 0 | 100   |                 |



# **Deuxième Partie**

## **Recherche Expérimentale**

# Chapitre I

## Matériel et méthodes

## **I – Matériel et méthodes**

Dans le cadre de l'élaboration et de la formulation d'un fromage au lait reconstitué à partir d'huiles essentielles. Le présent travail comporte trois parties principales une partie consacré pour la reconstitution préparation du lait, une deuxième partie à l'élaboration et formulation du fromage et enfin la dernière partie est consacré pour le suivi du produit (fromage) tout au long de sa conservation et de son semi-affinage où on suivra les différents paramètres à savoir paramètres physicochimiques, microbiologiques, et sensoriels.

## **II-Désinfectants**

- **DEPTAL MDS (HYPRED)** détergent désinfectant bactéricide non colore compatible avec la plupart des matériaux **Annexe D**
- **ASEPTANIOS OXY(ANIOS)** détergent désinfectant destiné à la désinfection de l'ambiance

### **Annexe D**

## **III- Sels**

- **CaCl<sub>2</sub>** : additif auxiliaire de coagulation
- **Phosphate monocalcique** : additif auxiliaire de coagulation

## **IV- Enzymes et ferments**

### **IV-1 Enzyme**

- **Présure** : enzyme coagulante composée de chymosine et de pepsine extraite de l'estomac des jeunes veaux

### **IV-2 Ferments**

#### **a- Ferments lactiques**

- Ferments mixte mésophile homofermentaire

## **V-Matière première**

### **a- Huiles essentielles : Extraites des plantes : romarin et thym**

Voir dispositif d'extraction des huiles essentielles récupéré de l'université de Boumerdes en annexe

### **b- Lait reconstitué avec une poudre de lait écrémée Low-heat de grade fromagère EPI Ingrédients France**

### **c- Crème fraîche**

C'est une crème fraîche commercialisée. Elle contient 35% de matières grasses et elle sert à l'ajustement du taux de MG du fromage élaboré.

### **VI- Méthodes**

#### **VI-1 Reconstitution du lait**

Reconstitution base 125g de poudre de lait 0% et de 26% par 900 ml d'eau déminéralisée à 42°C (115g poudre de lait de 0% et 10g de poudre de lait de 26% par litre de lait).

**VI- 2 Elaboration et formulation du fromage :** celle-ci est bien détaillée dans le diagramme qui suit

#### **VI- 2-1 Local de production**

Une salle au laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales a été aménagée et conçue pour la fabrication du fromage, les conditions du travail ont été standardisées et afin d'assurer la qualité hygiénique et microbiologique, un protocole de nettoyage et de désinfection stricte a été défini.

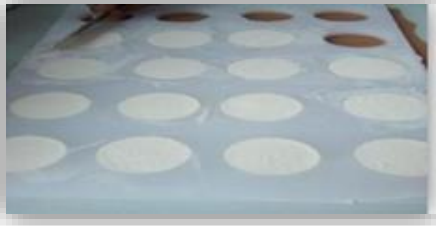
#### **VI- 2-2 Plan de nettoyage et de désinfection**

L'objectif de ce plan, c'est d'avoir un produit qui réponde aux normes de sécurité alimentaire et des bonnes conditions de travail en termes de contamination microbienne et d'hygiène générale.

## Matériel et Méthodes

### VI- 2-3 Etapes de fabrication

Les étapes de formulation sont résumées dans le **tableau 5**

| Etapes   | Manipulations   | Buts et observations  |
|--|---|---|
| Reconstitution du lait                         | Mesure du pH<br>Mesure d'acidité  | Le pH et l'acidité pour savoir la friabilité du lait  |
| Filtration                                     | La filtration s'effectue avec un Tissu  | Consiste à éliminer l'impureté physique du lait   |
| Ensemencement-Emprésurage                      | Les ferments sont préparés dans un erlenmeyer de 100ml à une dose adéquate puis mélangés avec 15l du lait préalablement filtré à une température 28°C<br>Emprésurage à 0,15 ml/100 l  | -Les ferments utilisés sont mixtes :<br>Ferments mésophiles <i>Lactococcus lactis</i> et <i>Leuconostoc crémoris</i><br>- 15 L du lait ont été utilisé  |
| Maturation-coagulation                         | lait inoculé en maturation pendant 15 à 18 heures à 28°C a fin d'avoir l'acidification souhaitée pH 6.5   | La maturation consiste à l'acidification du lait par fermentation lactique qui se traduit par l'abaissement du pH du lait et une coagulation uniforme   |
| Décaillage-égouttage                           | Une fois le coagulum est obtenu et sa consistance confirme son aptitude à être décaillé (test boutonement) Le décaillage se fait à la louche sans découpage   | Des sacs en tissu en mousseline sont remplis à la louche avec le caillé pour son égouttage  |
| Egouttage                                      | Les sacs remplis avec le caillé sont suspendus et laissé à une Température 18-20°C<br>Le pH et l'acidité sont surveillés  | La passoire est maintenue inclinée afin de faciliter l'égouttage<br>La passoire sert à recueillir le lactosérum.  |
| Standardisation de la MG                       | La norme en MG pour ce type de fromage est de 25% et pour se rapprocher de ce seuil on rajoute de la MG du lait (crème fraîche)   | Cette étape consiste à ajuster le taux en MG (25%)  |
| Malaxage                                       | Est effectué à l'aide d'un malaxeur électrique afin d'assurer l'homogénéisation c'est dans cette étape que l'incorporation des huiles essentielles est effectuée  | Deux huiles sont utilisées HE du Romarin et HE du Thym en ordre de quatre doses pour chacun (minimum à, médiane et maximale)<br>A 0,25 ml-0,5 ml-0,75 ml et 1 ml /kg de fromage : avec une comparaison au témoin  |
| Mise en pots aseptiques                        | A l'aide d'une plaque en plastique alimentaire rectangulaire (10X 5 cm) perforé en disques de Ø 50mm et de 8cm de hauteur perforation a été effectuer au niveau du laboratoire Pour pouvoir mettre en pots aseptiquement le caillé obtenu |    |
| Conservation et semi-affinage pendant 21 jours | Une armoire frigorifique à une température de 15°C  | Durant la convection l'humidité et la température à l'intérieure de l'armoire reste relativement constants <b>HR</b> 85%, <b>T</b> 15°C ainsi favorisant la maturation du fromage et le suivi de sa bonne conservation avec les huiles essentielles utilisées |

### VI- 2-4- Diagramme expérimental de fabrication du fromage frais :

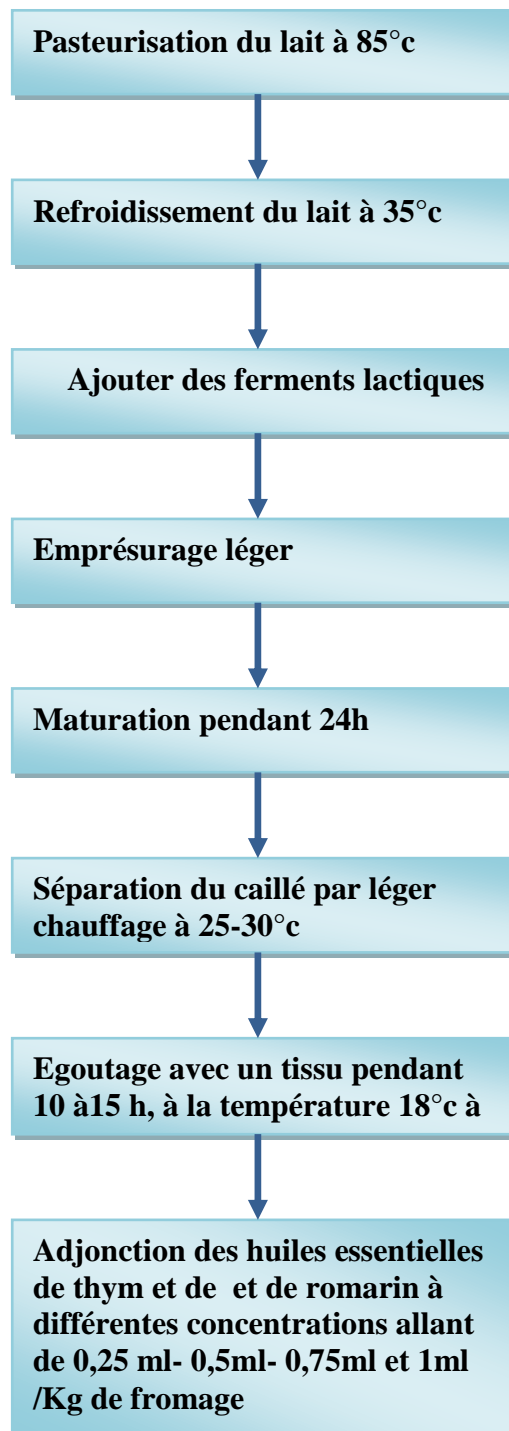


Figure 3 : Diagramme expérimental de fabrication du fromage frais

### VII- Les analyses

#### VII- 1 Analyses du lait reconstitué

Les analyses physico-chimiques ont été effectuées au sein du laboratoire Par le biais d'un **LactoStar** On cite les analyses suivantes : définies par la CIPC lait AFNOR/lait 2011

- a- L'extrait sec total EST
- b- La teneur en matières grasses
- c- La teneur en protéines
- d- La teneur en lactose
- e- La densité
- f- Le point de congélation

#### VII- 1-2 Avant la transformation du lait

- a- **Détermination du pH** : Le pH est le logarithme de l'inverse de la concentration en ion hydrogène d'une solution, il indique l'activité de ces ions dans le milieu d'intérêt, le pH exerce une influence sur les réactions chimiques et biochimiques de ce fait, il présente un effet sur la flore microbienne du milieu. Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Avant chaque mesure l'électrode du pH- mètre est nettoyée avec de l'eau de robinet, puis rincée à l'eau distillée et séchée avec du papier. Un contrôle sur la fiabilité du pH-mètre est effectué avant chaque mesure, par étalonnage de l'appareil à l'aide de solution tampon de pH connus 4,00 et 7,00, Ensuite la mesure est faite par immersion du bout de l'électrode dans les pots de fromage frais puis Attendre la stabilisation du pH pour effectuer la lecture. Avant d'entreprendre une autre mesure, l'électrode est à nouveau nettoyée, puis rincée comme précédemment.

**b-Détermination de l'acidité titrable** : L'acidité titrable mesure la quantité d'acide présente dans un échantillon de lait. On l'exprime en pourcentage d'acide lactique. L'acidité développée du lait est causée par l'acide lactique et d'autres acides provenant de la dégradation microbienne du lactose dans les laits altérés, L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 mol/l. La présence de phénolphthaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur rose pâle. Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) (Mathieu, 1998).

## Matériel et Méthodes

**c- Densité du lait** : Elle oscille entre 1,028 et 1,033. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (Vierling, 2008).

### VII-2 Analyses sur le fromage

#### VII- 2-1 Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques des fromages réalisées ont été faites au sein du laboratoire de contrôle et d'assurance qualité AFAK Oran avec le milko-scan FT 120 pour ce qui suit :

PH, EST, masse protéique, matière grasse, teneur en lactose et en matières minérales Ca et P

#### VII- 2-2 Analyses microbiologiques

Selon l'Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 : critères microbiologiques des fromages :

**Tableau 6**: les germes recherchés dans le fromage d'après le **JORA** (Journal Officiel de la République Algérien N39 du 02/07/2017)

|         | Germes recherchés             | N | C | M                    |
|---------|-------------------------------|---|---|----------------------|
|         |                               |   |   |                      |
| frais   | <i>Coliformes totaux</i>      | 5 | 2 | 10                   |
|         | <i>Coliformes fécaux</i>      | 5 | 2 | 1                    |
|         | <i>Staphylococcus aureus</i>  | 5 | 2 | 10                   |
| Fromage | <i>Salmonella</i>             | 5 | 0 | Absence dans 25 g /l |
|         | <i>Levures et moisissures</i> | 5 | 2 | 10                   |

- N : nombre de tubes ou de boites total par dilution
- C : nombre de tubes ou de boites positifs par dilution
- M : seuil maximale au-delà du quel produit est considéré comme non satisfaisant
- **Les milieux de cultures** : la préparation des milieux de culture **Annexe A**
- **Milieu BCPL** : (Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol) : pour la recherche des coliformes totaux et fécaux.
- **Milieu Chapman** : pour la recherche des staphylococcus aureus.
- **Milieu PCA** (Plat Count Agar) : pour la recherche de la flore mésophile totale.
- **Milieu Sabouraud** : pour la recherche des levures et des moisissures.

## Matériel et Méthodes

---

- **Milieu Hektoen** : pour la recherche des salmonelles.

### **Diluant**

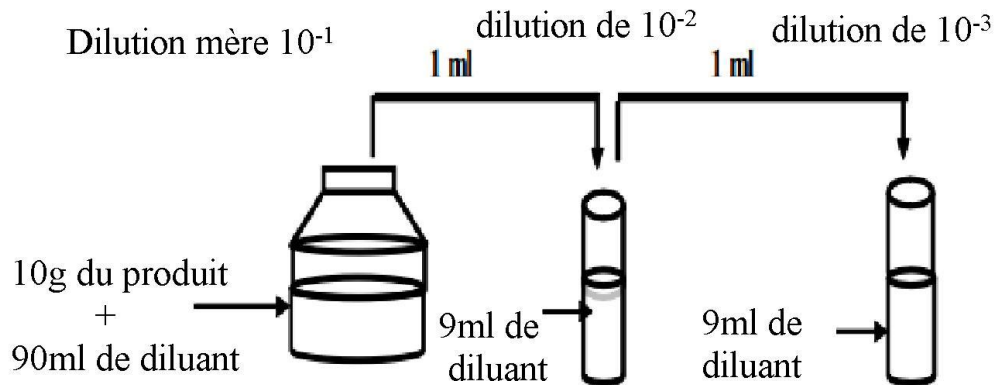
Nous avons utilisé comme diluant soit la solution d'eau distillée stérile ou l'eau physiologique selon la disponibilité. 90ml de la solution d'eau distillée stérile (ou l'eau physiologique) contenu dans un flacon de 180ml pour 10g de produit à analyser (cas d'un produit solide) et 9ml de diluant contenu dans des tubes à essai pour préparer les dilutions.

### **c-Broyage sur un stomacher**

Le broyage est une étape indispensable dans l'analyse bactériologique des produits solides car il permet la bonne homogénéisation et rend l'échantillon plus représentatif. Cependant, il est fondamental qu'il n'est pas un effet destructif sur les microorganismes présents.

### **d- Dilutions**

Dans des conditions d'asepsie ,10 g de fromage est homogénéisé dans 90ml d'eau physiologique stérile , ce qui forme la solution mère  $10^{-1}$  dans 9ml d'eau physiologique stérile ce qui constitue la dilution  $10^{-2}$ , puis après homogénéisation de cette dernière , la même opération est répétée pour la préparation du reste de dilutions



**Figure 4:** Préparation des dilutions décimales

### A- Dénombrement des coliformes totaux et les coliformes thermo-tolérants

Leur présence dans les fromages traduit une contamination fécale par le manque d'hygiène (**Bourgeois *et al.*, 1989**).

Les coliformes ont la particularité de fermenter le lactose avec production de gaz, leur identification se fait sur le milieu sélectif bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) ou sur le bouillon au pourpre de bromocrésol (BCPL). Le développement des coliformes totaux acidifie le milieu et cette acidification se traduit par un virage de l'indicateur coloré (de la couleur verte au jaune), en outre une production de gaz apparaît dans la cloche .

Ensemencer une série de 3 tubes (avec la cloche de Durham) de BCPL avec 1ml des différentes dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ... $10^{-n}$ ), cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car :

- La première série sera réservée à la recherche des coliformes totaux.
- La deuxième série sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.

L'incubation se fait à deux niveaux :

- Une série de tubes sera incubée à  $37^{\circ}\text{C}$ , pendant 24 à 48 heures et servira à la recherche des coliformes totaux.

## Matériel et Méthodes

---

- L'autre série sera incubée à 44°C, pendant 24 à 48 heures et servira à la recherche des coliformes fécaux.

### A-3 Lecture des résultats

La production de gaz et le virage de couleur vers le jaune confirme la présence des coliformes.

Après incubation, Le nombre de bactéries coliformes par gramme est donné par la formule suivante ;

$$N = C \cdot V \quad \_$$

- **C** : nombre de colonies issu de la table de NPP par facteur de dilution
- **D** : facteur de dilution
- **V** : volume ensemencé.

### B-Recherche et dénombrement de *staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais comprennent aussi à des espèces qui sont pathogènes. Ils se présentent sous la forme cocci de Gram<sup>+</sup> en grappe , immobiles, non sporulés, catalase<sup>+</sup> et oxydase<sup>-</sup>.

#### - Mode opératoire

Ensemencer une série de 3 boites de Pétri de Chapman avec 1 ml des différentes dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,... $10^{-n}$ ).

-L'incubation se fait à 37°C, pendant 72 heures.

-Les colonies de Staphylocoques apparaissent en jaunes sur le milieu Chapman.

### C- Le dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)

La FMAT est un indicateur d'hygiène important. En effet, elle permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant colonie) présent dans un produit ou sur une surface. Ce dénombrement se fait à 30°C sur le milieu PCA, la plupart des micro-organismes peuvent se développer, sauf ceux qui sont exigeants et les micro-organismes anaérobies stricts(Contact avec l'air). Il est donc préférable de parler de flore mésophile aérobie à 30°C que de "flore totale". L'unité

## Matériel et Méthodes

---

est l'UFC (Unité Formant colonie) car une colonie observable sur la gélose peut venir d'un micro-organisme isolé, ou bien d'une spore ou d'une micro-colonie.

### **D- La recherche de levures et moisissures sur milieu Sabouraud :**

La gélose de Sabouraud Dextrose au Chloramphénicol (SDCA) est recommandée pour l'isolement et le dénombrement des levures et des moisissures, notamment lorsque les prélèvements sont fortement contaminés par des bactéries.

#### **a- Dénombrement des levures et moisissures**

##### **Ensemencement en surface :**

- A la surface du milieu pré-coulé ou du milieu préparé en boîtes, transférer 0,1 ml de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales.
- Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un râteau stérile.
- Incuber à  $25,0 \pm 2,5$  °C pendant 3 jours à 5 jours.

##### **b- Lecture des résultats**

- Après incubation, observer la croissance microbienne. Dénombrer les boîtes.

### **E- Recherche des Salmonelles :**

La recherche de Salmonella et leur identification permet de savoir si le produit est dangereux à consommer ou non (Leveau et Bouix., 1993), car les Salmonelles sont agents des toxi-infections alimentaires en raison de leur fréquence et de la gravité des symptômes et l'origine des typhoïdes et des paratyphoïdes (Ait Abdelouahab, 2008)

#### **-Mode opératoire**

- Jour 1 : Pré-enrichissement
- Prélever 25g de fromage dans un flacon stérile contenant 225 ml de TSE et bien homogénéiser, puis l'incuber à 37°C pendant 18 heures.
- Jour 2 : Enrichissement
- L'enrichissement doit s'effectuer sur le milieu sélectif à savoir :

- Le milieu de Sélinite - Cysteine (SFB) réparti à raison de 100 ml par flacon.

## Matériel et Méthodes

---

L'enrichissement proprement dit, se fait donc à partir de milieu de pré-enrichissement de la façon suivante :

- Mettre 10 ml de milieu Sélénite cysteiné dans un tube stérile.
- Ajouter 1ml de la culture incubée et pré-enrichée

Le tube de Sélénite-cysteiné sera incubé à 37°C pendant 24h

### • Jour 3 : Isolement

Le tube incubé fera l'objet d'un isolement sur le milieu gélosé sélectif « Hektoen » :

- On doit prélever une petite goutte à la surface du milieu d'enrichissement sélectif .
- La goutte sera déposée au bord de la boîte, et en pratique une strie de quelques centimètres puis des stries perpendiculaires jusqu'au bout de la boîte.

Les boîtes ensemencées seront incubées à 37°C pendant 24h.

### • Jour 4 : Lecture des boîtes et identification

Les Salmonelles se présentent sous forme des colonies bleue verdâtres à centre noir

sur gélose Hektoen. de diamètre environ 0,3 à 1,0µm.

### **VII- 3 Analyse sensorielle**

Une évaluation sensorielle a été réalisée sur un panel constitué de 10 jurys du laboratoire composé d'enseignants chercheurs, de doctorants et d'étudiants en master, les modalités sur lesquelles est portée l'évaluation sont validées par une fiche de dégustation établie par la fédération internationale du lait F.I.L pour l'analyse sensorielle des fromages. Les résultats de l'analyse sont traités à partir du barème d'évaluation défini sur la fiche F.I.L 2018

# Chapitre II

## Résultats et discussion

## Résultats et discussions

### 1. Qualité physico-chimique du lait, du fromage préparé et suivi de son évolution à la date limite de consommation

Le tableau suivant présente la qualité physico-chimique de la matière première utilisée (le lait reconstitué) ainsi que celle du fromage frais préparé

**Tableau 7** : Analyses physico-chimique du lait reconstitué et des fromages frais et semi-affinés

| <b>1/Lait reconstitué</b> |           |            |           |     |            |           |             |           |         |           |       |
|---------------------------|-----------|------------|-----------|-----|------------|-----------|-------------|-----------|---------|-----------|-------|
| Lait                      | PH        | Acidité °D | MP %      | MG% | EST %      | Lact %    | Densité     | Ca%       | P%      | Ca/P      | G/S % |
| Résultats                 | 6,78      | 17         | 3,3       | 0,8 | 1,18       | 4,7       | 1034        | 125 mg    | 88 mg   | 1,42      |       |
| Normes                    | 6,6 à 6,8 | 16 à 18    | 3,1 à 3,5 | 0,5 | 1,15 - 1,2 | 4,1 à 5,2 | 1030 à 1035 | 120 à 140 | 85 à 90 | 1,4 à 1,5 |       |

| <b>2/Fromage frais préparé</b>                               |           |            |            |       |         |           |         |         |         |             |         |
|--|-----------|------------|------------|-------|---------|-----------|---------|---------|---------|-------------|---------|
| <b>Evolution de la qualité physico-chimique des fromages</b> |           |            |            |       |         |           |         |         |         |             |         |
| Jour   | PH        | Acidité °D | MP %       | MG%   | EST %   | Lact %    | Densité | Ca%     | P%      | Ca/P        | G/S %   |
| Jour J   | 4,7       |            | 2,7        | 6,7   | 21      | 1,8       |         | 85      | 48      | 1,77        | 31,90   |
| Jour J+7   | 4,4       |            | 2,4        | 5,8   | 23      | 1,5       |         | 82      | 41      | 2,00        | 25,22   |
| Jour J+14  | 4,2       |            | 2,1        | 5,2   | 23,8    | 1,2       |         | 80      | 38      | 2,11        | 21,85   |
| Jour J+21  | 4,2       |            | 1,8        | 5     | 24,4    | 0,8       |         | 80      | 37      | 2,16        | 20,49   |
| Normes FIL   | 4,4 à 4,6 |            | 1,95 à 2,5 | 6 à 7 | 22 à 25 | 0,5 à 0,7 |         | 75 à 80 | 35 à 45 | 1,75 à 2,15 | 20 à 25 |

### **2 .Qualité microbiologiques des fromages préparés :**

Les tableaux suivants présentent la qualité microbiologique de nos essais de fromages sans et avec les huiles essentielles sélectionnées dans le cadre de notre étude

## Résultats et discussions

**Tableau 8:** Qualité microbiologique du fromage témoin sans huiles essentielles

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>Aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>Fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| Résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| Normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 85000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 110                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /g)  | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 92000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 180                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 81000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 235                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 72000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 410                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 9:** Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de romarin à une concentration de 0,25 ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| Résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| Normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 82000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 108                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /g)  | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 76000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 90                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 72000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 60                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 58000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 15                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 10** : Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de romarin à une concentration de 0,5 ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| Résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| Normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 81500                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 105                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /gl) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 74800                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 85                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 70000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 42                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 48000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 11** : Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de romarin à une concentration de 0,75 ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| Résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| Normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 81000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 104                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /gl) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 76000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 82                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 52000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 30                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 46000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 1                      |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 12** : Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de romarin à une concentration de 1ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| Résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| Normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 81800                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 102                    |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /gl) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 76000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 78                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| Résultats                                | 52500                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 20                     |
| Normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 41000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 0                      |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 13:** Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de thym à une concentration de 0,25 ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | <i>Coliformes</i> | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence            | 5                      |
| normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10                | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | <i>Coliformes</i> | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 78000                       | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence            | 105                    |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /g)  | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | <i>Coliformes</i> | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 71000                       | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence            | 98                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | <i>Coliformes</i> | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 66000                       | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence            | 69                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | <i>Coliformes</i> | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 54500                       | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence            | 37                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence           | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 14** : Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de thym à une concentration de 0,5 ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 76000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 96                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /gl) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 74800                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 80                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 67000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 48                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 56000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 22                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 15** : Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de thym à une concentration de 0,75 ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 74800                       | 0                                | Absence    | Absence              | Absence            | 88                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /g)  | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 76000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 65                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 62500                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 32                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 58000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 15                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

**Tableau 16** : Qualité microbiologique du fromage avec huile essentielle de thym à une concentration de 1 ml/kg de fromage

| lait reconstitué<br>(germes/ml)          | germes totaux<br>germes /ml | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  | Levures<br>Moisissures |
|--|-----------------------------|----------------------------------|------------|----------------------|--------------------|------------------------|
| résultats                                | 150000                      | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 5                      |
| normes                                   | 100000 à 300000             | Absence                          | 10         | Absence              | Absence dans 25 ml | 0 à maxi 10            |
| Fromage frais à<br>jour J (germes /g)    | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 72300                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 75                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+7 (germes /gl) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 76000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 42                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+14 (germes /g) | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 68000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 18                     |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |
| Fromage frais à<br>jour J+21             | germes totaux               | <i>Staphylococcus<br/>Aureus</i> | Coliformes | Coliformes<br>fécaux | <i>Salmonella</i>  |                        |
| résultats                                | 57000                       | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence            | 3                      |
| normes                                   | 50000 à 100000              | Absence                          | Absence    | Absence              | Absence dans 25 g  | 10                     |

## Résultats et discussions

### 3. Analyse sensorielle des fromages retenus

**Tableau 17** : Résultats de l'analyse sensorielle des fromages retenus  
(moyenne des résultats obtenus par rapport au jury de dégustation)

| Examen du Jury de dégustation                    | Fromage témoin sans huile essentielle | Fromage avec Huile essentielle du Romarin dose 1ml/KG | Fromage avec Huile essentielle du Thym dose 1ml/KG |
|--|---------------------------------------|---|--|
| 1/ Examen visuel                                 |                                       |   |  |
| Aspect de la surface                             | 6                                     | 6   | 6  |
| Aspect du fromage                                | 6,75                                  | 6   | 6,5  |
| 2/ Examen olfactif                               |                                       |   |  |
| Arôme  | 7                                     | 4   | 7,5  |
| Intensité  | 6,5                                   | 4,5   | 7  |
| 3/ Examen gustatif                               |                                       |   |  |
| Saveur   | 7                                     | 5   | 7  |
| Sensation  | 6,5                                   | 5   | 7  |
| Appréciation générale/<br>10                     | 6,63                                  | 5,08  | 6,83   |
| Classement des fromages /<br>Appréciation finale | 2                                     | 3   | 1  |

L'analyse sensorielle a été établie pour les fromages ayant donnés les résultats escomptés : sur le plan conservation soit à la dose d'incorporation des huiles essentielles à 1ml/kg

### **1. Qualité physico-chimique et microbiologique du lait , du fromage préparé et suivi de son évolution à la date limite de consommation**

#### **1.1 Qualité physico-chimique**

La qualité d'un lait fromageable est déterminée par son aptitude à la transformation contrôlée par certains critères variables qui sont

- Sa teneur en protéines représentée à 80% par les caséines
- Son équilibre minéral représenté par le rapport ca/p qui détermine la stabilité des micelles des caséines nécessaire à l'obtention d'un rendement fromager contrôlé sans perte des protéines au niveau du lactosérum dans l'étape égouttage
- De sa teneur en lactose nécessaire à la lacto-fermentation
- De sa flore naturelle nécessaire pour l'acidification des laits pour leur coagulation lactique dès fois complétée par un microbiote contrôlé selon le besoin du fromager
- De sa flore microbienne pathogène et d'altération à maîtriser par les traitements physiques de la transformation

Des critères stables standardisés préalablement pour l'obtention des gras /sec (G/S) selon les normes propres à chaque fromage ; critères nécessaire à l'obtention des qualités sensorielles escomptés

Dans notre essai de fabrication du fromage frais nous avons utilisé une poudre de lait low heat c'est-à-dire fromagère pour la préparation d'un lait reconstitué avec une composition physico-chimique contrôlée définie sur le tableau 7 propre aux laits pour la fabrication des fromages à caillé lactique « le fromage frais »

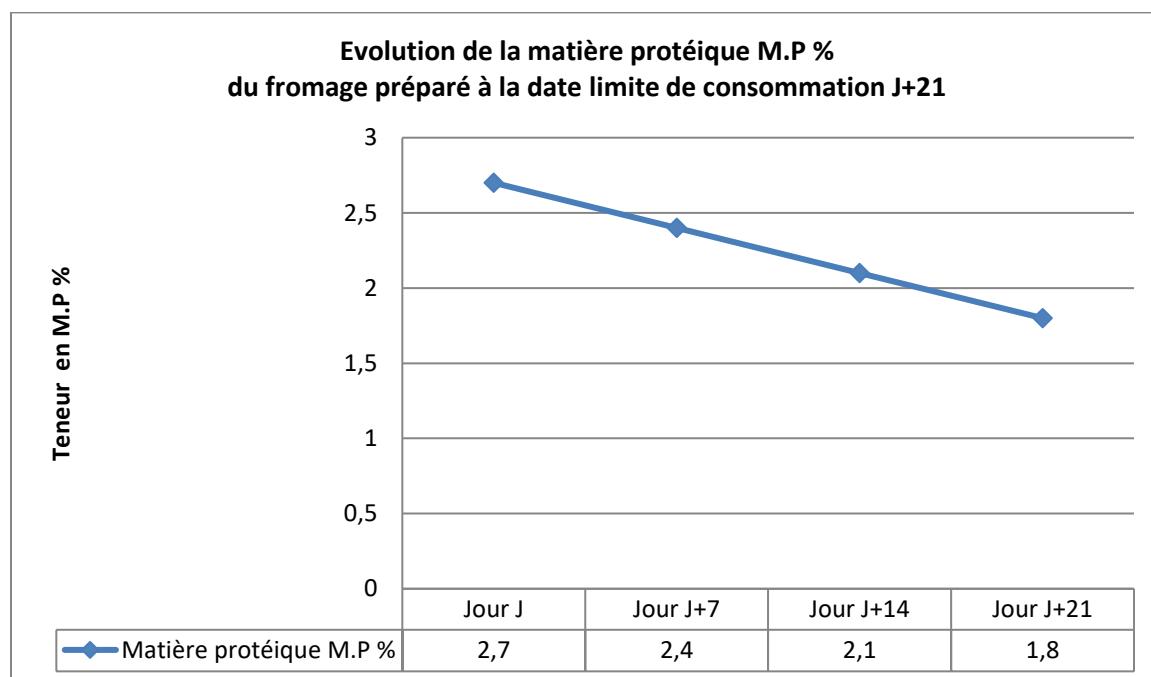
Avec une teneur en masse protéique de 3,3% , une matière grasse de 0,8% et un taux de lactose de 4,7% et un équilibre minéral ca/p de 1,42

Cette maîtrise initiale de la composition chimique de la matière première « le lait » a donné un fromage frais répondant aux critères du codex Alimentarius « FAO/OMS. (1996). Codex Alimentarius. N°A-6-1978 » du jour J au jour J+21 après un semi-affinage (en conservation) donnant lieu à des activités enzymatiques bactériennes par l'hydrolyse des protéines , de la matière grasse et du reste du lactose pour donner des composés aromatiques les acides gras

## Résultats et discussion

libres et des peptides et des acides aminés augmentant la qualité nutritionnelle et fonctionnelle du produit fini (onctuosité-texture) et sensation acide caractéristique aux fromages à caillé lactique les fromages frais

En effet la matière protéique a évolué de 3,3% sur le lait à 2,7% sur le fromage frais au jour J , passant à 1,8% au jour J+21(voir figure 5).



**Figure 5 : Evolution de la matière protéique M.P %du fromage préparé à la date limite de consommation J+21**

La matière grasse contrôlée préalablement sur le lait à 0,8% , est passée à un taux de 6,7% sur le fromage au jour J et enfin atteindre 5% au jour J+21

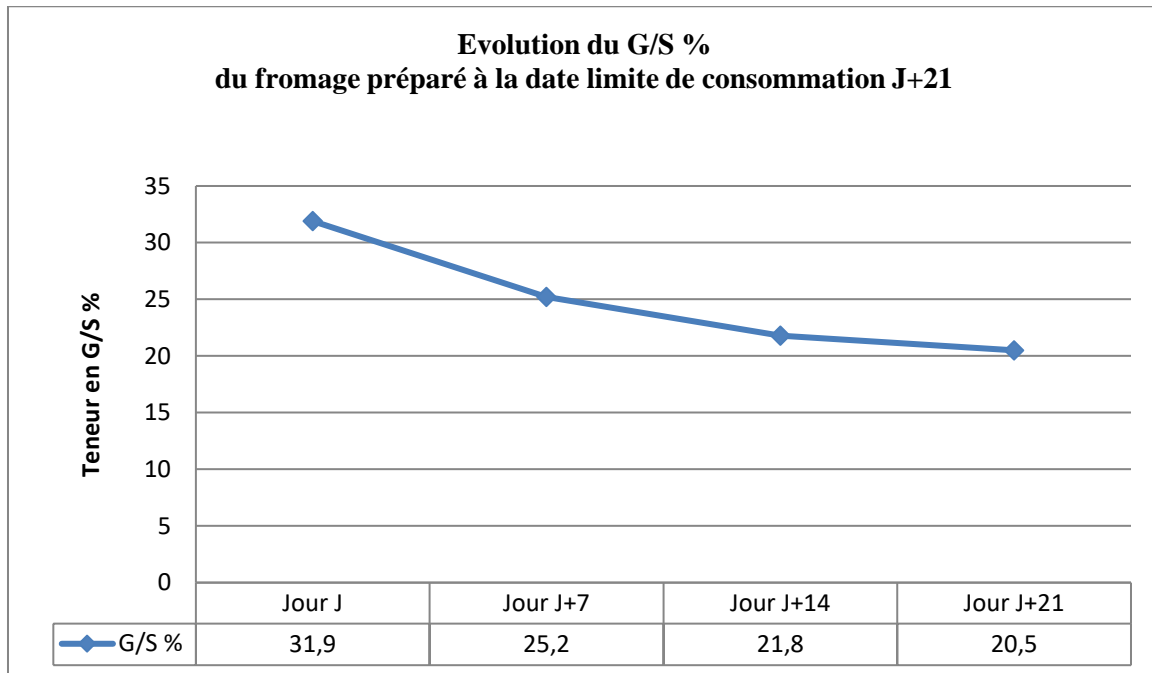
Le lactose nécessaire à la lactofermentation est passé de 4,7% sur le lait , à 1,8% au jour J et à 0,8% au jour J+21 sur le fromage frais

Pour le G/S ce rapport est passé de 31,90% au jour J jusqu'à un taux de 20,49% au jour J+21 .Même cas pour le rapport le Ca/p qui est passé de 1,77 au jour J à 2,16 au jour J+21 .Tout cela concorde avec les normes de la fédération internationale du lait « F.I.L » Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 Normes définies pour les analyses

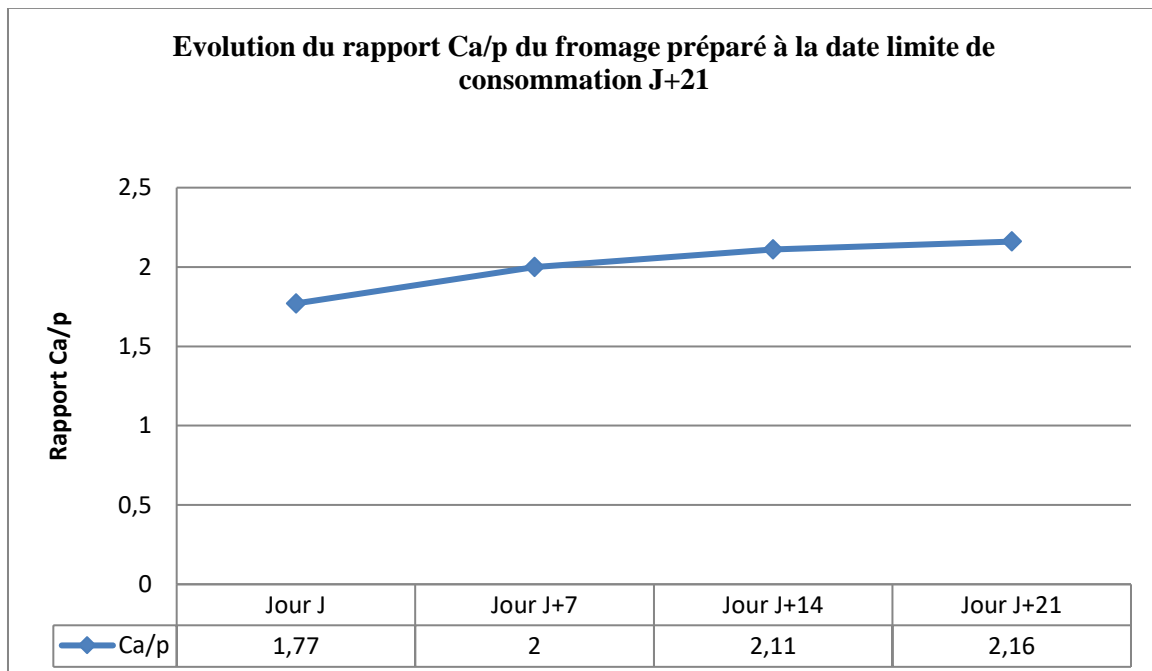
## Résultats et discussion

microbiologiques et chimique des produits laitiers et ceux de la FAO/OMS. (1996).

Codex Alimentarius. N°A-6-1978.(voir figures 6 et 7).



**Figure 6 : Evolution du G/S % du fromage préparé à la date limite de consommation J+21**

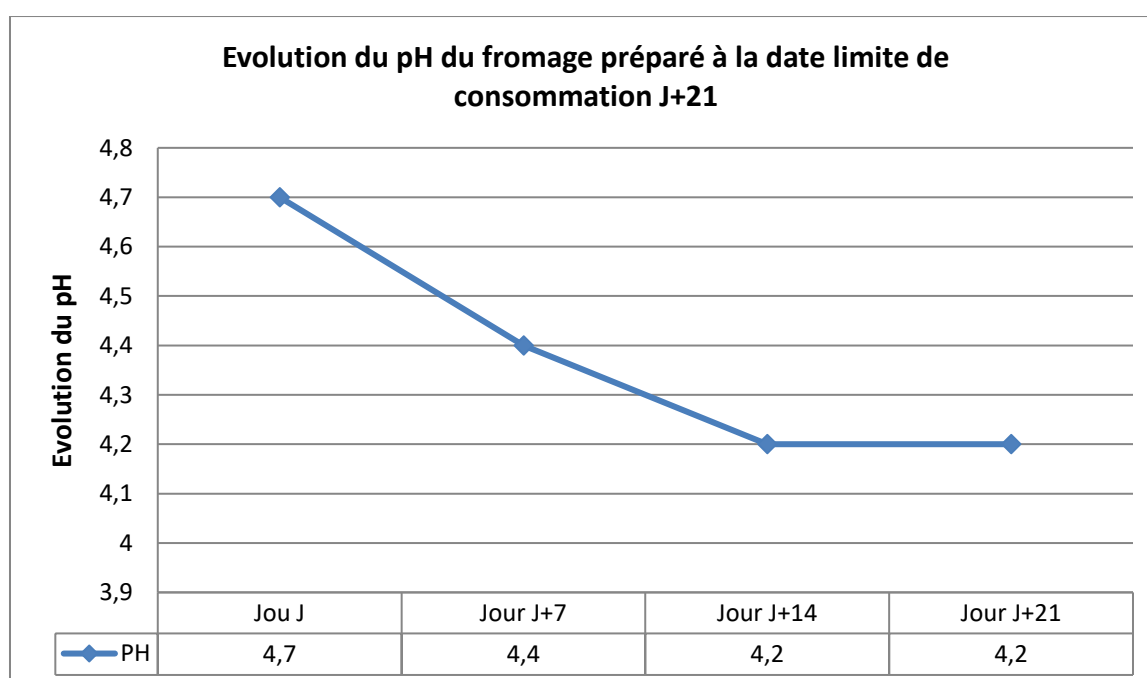


**Figure 7 : Evolution du rapport Ca/p du fromage préparé à la date limite de consommation J+21**

## Résultats et discussion

### Evolution du PH

Le pH de la matière première « le lait » était de 6,78 avant la fermentation pour atteindre le pH avoisinant l'isoélectrique au jour J soit 4,7 pour atteindre un pH de 4,2 au jour J+21 ; cette maîtrise du potentiel hydrogène témoigne du contrôle de la flore lactique nécessaire à l'obtention d'un caillé lactique sans post-acidification (Eck A et Gillis J.C. (2006))(voir figure 8).



**Figure 8: Evolution du pH du fromage préparé à la date limite de consommation J+21**

### Synthèse des caractéristiques physico-chimiques de l'essai de fromage frais

L'essai de fromage frais est caractérisé (Tableau 7) par un pH faible (4,2 en moyenne), ce qui témoigne de la présence d'une fermentation lactique active. La matière sèche totale du fromage est (24,4%). Ce taux en matière sèche du fromage a conféré à celui-ci une consistance lisse et ferme. Les deux constituants majeurs de cette matière sèche sont les matières grasses (en moyenne 5%) et les protéines (en moyenne 1,8%). Les autres composants sont le lactose (en moyenne 0,8%) et les matières minérales (en moyenne 80

## Résultats et discussion

---

mg/100 g pour le calcium et 37 mg/100 g de fromage pour le phosphore) . Tous nos résultats concordent avec ceux déjà établis dans ce sens de Jeantet R et al.,2017 ; Mahaut et al., 2000 et Mietton, B., 1995.

### 1.2 Qualité microbiologique

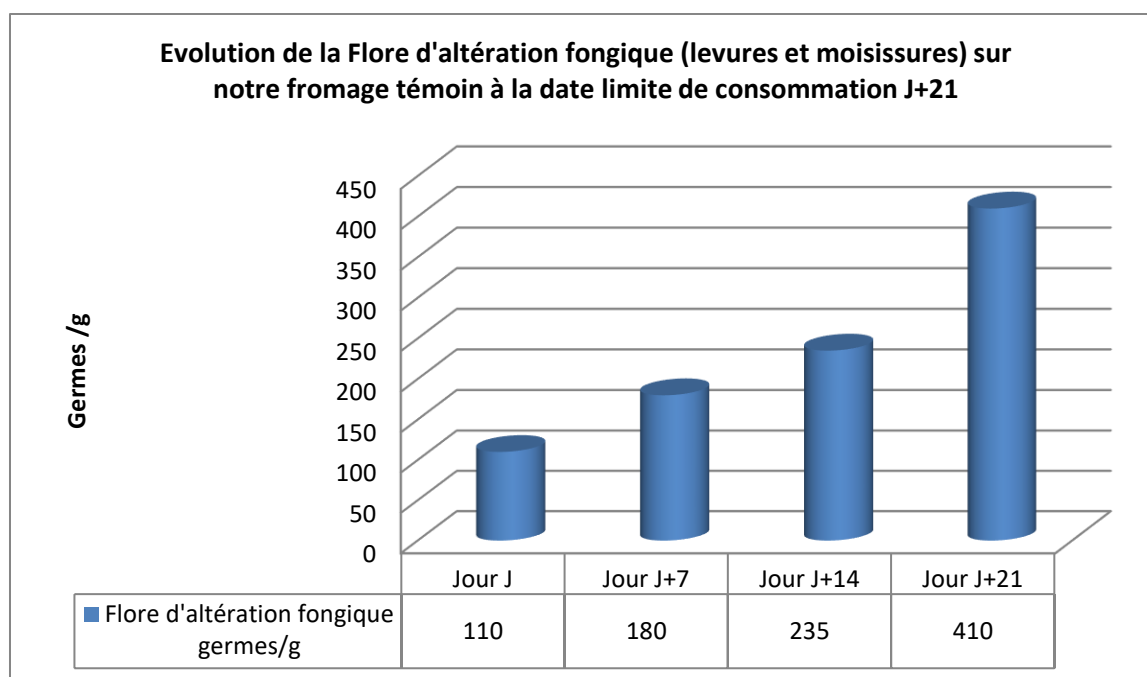
Les fromageries travaillant au lait cru , au lait standardisé et au lait reconstitué procèdent à des analyses permettant de qualifier et quantifier les flores présentes. Ce sont des contrôles quotidiens qui ont une valeur légale. Ces analyses réalisées et interprétées chaque jour permettent de mettre en évidence des problèmes de qualité de lait à prendre en charge au niveau de la transformation par l'application des procédés adéquats à la maîtrise de la fabrication et à l'obtention des produits finis conformes.

Dans notre cas , le lait reconstitué utilisé pasteurisé à basse température n'a pas présenté de contaminant pathogène mais a présenté une flore totale pour un lait de classe A ne dépassant pas les 150000 germes /ml mais avec une légère présence de la flore fongique d'altération des levures et moisissures soit 5 germes/ ml

Le fromage frais comme tout autre produit fermenté est caractérisé par sa grande richesse en micro-organismes. La flore mésophile aérobie totale est très importante dans notre produit témoin (85000 germes /g au jour J contre 72000 germes/g au jour J+21). La microbiologie du fromage frais est principalement dominée par la flore lactique mésophile.

La flore fongique est présente dans le fromage témoin au jour J (110 germes/g ) contre une multiplication pour atteindre au jour J+21 (410 germes/g).(voir figure 9). Cette richesse est liée à une exposition prolongée du fromage frais à l'air durant l'égouttage, ce qui favorise les contaminations par les spores de cette flore qui se développe, généralement bien, dans les produits fermentés. Ce développement excessive de cette flore fongique rend impropre à la consommation notre fromage témoin tenant compte des normes « F.I.L » Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 Normes définies pour les analyses microbiologiques et chimique des produits laitiers qui fixent la limite à 10 germes/g

## Résultats et discussion



**Figure 9 : Evolution de la Flore d'altération fongique (levures et moisissures) sur notre fromage témoin à la date limite de consommation J+21**

Le processus de fermentation favorise également la multiplication de certaines bactéries de pollution, notamment les micro-organismes d'origine fécale Tels que les coliformes et les entérocoques. Notre fromage ne contient aucun germe de cette catégorie tenant compte des conditions d'hygiène pratiquées dans le laboratoire pour la réussite du produit. La nature acide du fromage frais n'est pas une garantie contre la présence des germes pathogènes d'origine entérique (*Salmonella*) ou cutanée (*Staphylococcus aureus*) dans ce produit mais les règles strictes prescrites par l'encadreur quant à l'utilisation des mesures d'hygiène (port de la tenue réglementaire , gant de manipulation et solution hydro-alcoolique ...) a évité et a paré à tout risque de ce type

En effet, on note dans notre essai de fromage à matière première « le lait » contrôlé, l'absence des germes pathogènes (*S. aureus*; *Salmonella*)

La contamination du fromage frais par les germes pathogènes est souvent liée à l'utilisation du lait cru pour la préparation de ce produit et au non - respect des règles élémentaires d'hygiène au cours de la fabrication et de la conservation pour éviter ces aléas à la réussite de notre étude nous avons utilisé du lait reconstitué contrôlé d'une part d'une manière physico-chimique et d'autre part du côté microbiologique pour

## Résultats et discussion

---

l'atteinte des objectifs fixés à notre expérimentation (Srairi M. T et al., 2006 et Vignola C. 2002) .

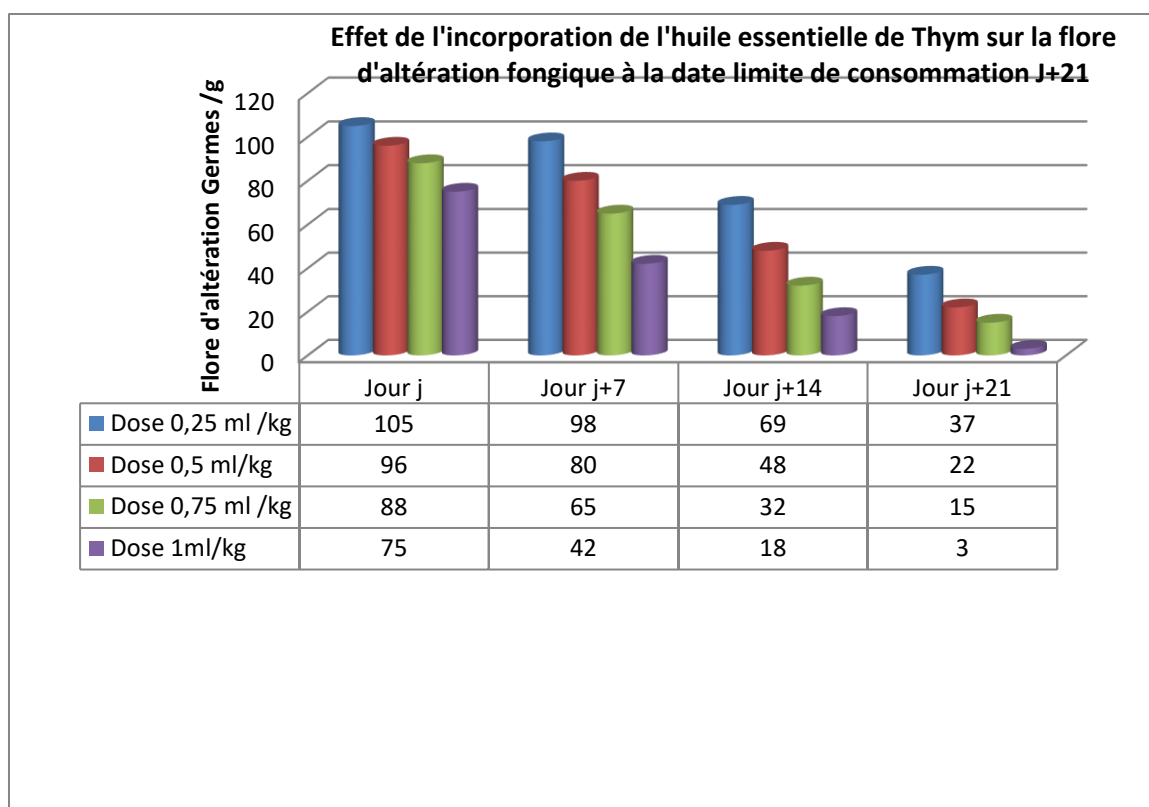
L'analyse microbiologique des échantillons de fromage frais préparés au laboratoire montre une amélioration très importante de la qualité hygiénique de ce produit par l'incorporation des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques et médicinales du romarin et du thym . Les taux en flore totale mésophile trouvés sont, généralement, similaires sur les 02 fromages avec huiles essentielles du Romarin et du Thym incorporées à des doses allant respectivement de 0,25 ml- 0,5 ml – 0,75 ml et 1 ml / kg de fromage contre un nombre plus élevé sur notre produit témoin sans huiles essentielles (tableaux 8).

La viabilité de notre flore totale mésophile témoigne ainsi la résistance de notre flore lactique utilisée dans la transformation de notre lait en fromage contre l'action inhibitrice des huiles essentielles constatées dans nos essais contre la flore fongique représentée par les levures – moisissures

L'incorporation de l'huile essentielle du thym à des doses allant de 0,25 ml-0,5ml-0,75 ml et 1ml/Kg de fromage (tableaux 13, 14,15, et16)a donné ce qui suit comme action inhibitrice sur la flore totale mésophile ; le dénombrement de la flore totale passe respectivement au jour J de 78000 germes /g sur le fromage à 0,25 ml d'HE /kg contre 76000 germes/g sur le fromage à 0,5 ml d'HE/kg , et 74800 germes/g pour le fromage à 0,75 ml d'HE/Kg et enfin 72300 germes/g pour le fromage à 1ml d'HE/kg .La flore totale a ainsi diminué de l'ordre de 20 à 25% au jour J+21 pour les doses d'incorporation de l'huile essentielle de Thym de 0,25 ml à 1ml d'HE /kg de fromage

La flore fongique représentée par les levures-moisissures est presque complètement éradiquée en utilisant l'huile de Thym au taux de 1ml d'HE/kg avec une présence de seulement de 3 germes /g au jour J+21 contre respectivement 15 -22 et 37 germes/g pour les fromages dosés avec de l'HE aux doses respectives de 0,25-0,5 et 0,75 ml d'HE /kg de fromage(voir figure 10).

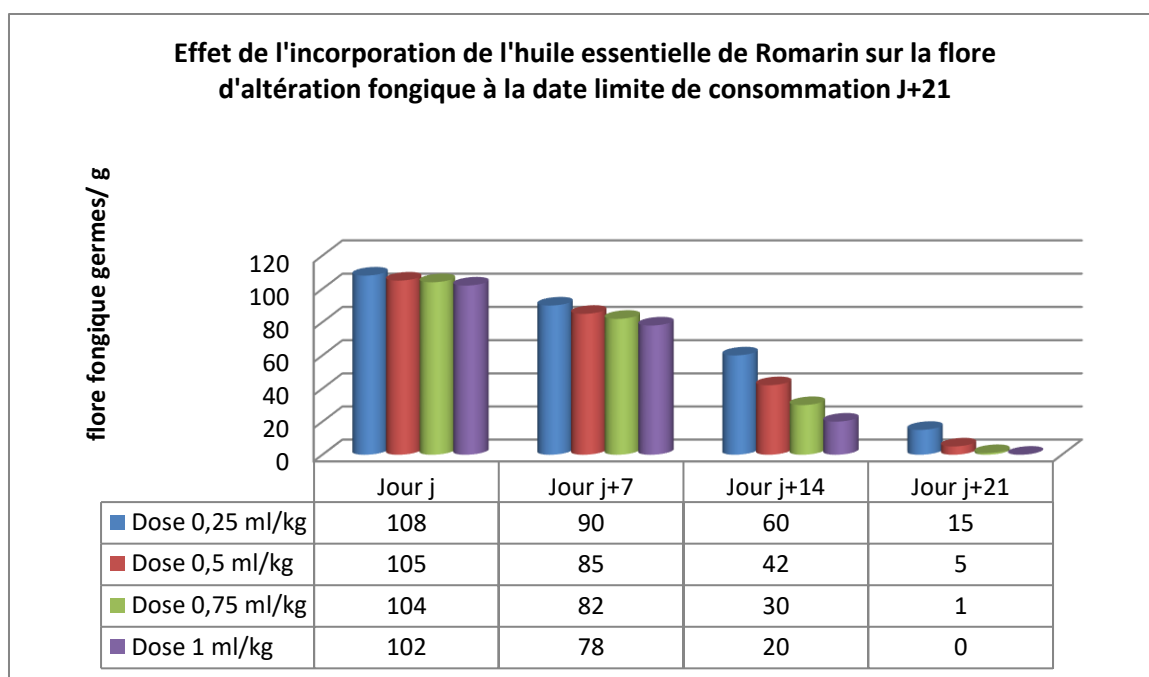
## Résultats et discussion



**Figure 10 : Effet de l'incorporation de l'huile essentielle de Thym sur la flore d'altération fongique à la date limite de consommation J+21**

L'huile essentielle de Romarin a donné les résultats attendus en inhibant à large spectre la flore fongique ; en effet le nombre de levures-moisissures (tableaux 9,10,11,et12.) passe de 15 germes à 5 germes , à 1 germe et 0 germe/g du jour J au jour J+21 pour les doses respectives de 0,25 ml-0,5ml-0,75 ml et 1ml d'HE/kg de fromage (voir figure 11).

## Résultats et discussion



**Figure 11 : Effet de l'incorporation de l'huile essentielle de Romarin sur la flore d'altération fongique à la date limite de consommation J+21**

Avec l'huile essentielle de Romarin la flore totale est toujours viable mais touchée de 20 à 40% au jour J+21 par une diminution de l'ordre de 58000 germes/g pour la dose de 0,25 ml d'HE/kg à 41000 germes/g pour la dose de 1ml d'HE/kg de fromage contre 72000 germes/g pour le fromage frais témoin sans huile essentielle

### **Synthèse des caractéristiques microbiologiques de nos essais**

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudomycelium alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures (Hilmarsson Fernández., 2011).

## Résultats et discussion

---

### **2- Analyse sensorielle des fromages retenus**

La comparaison des échantillons de fromage frais fabriqués au laboratoire en incorporant des doses létales (1ml d'HE /kg de fromage) de 02 huiles essentielles aromatiques contre les flores pathogènes et d'altération, montre que de point de vue qualité sensorielle:

- Les échantillons de fromage ont obtenu respectivement une appréciation générale /10 de 6,83/10 pour le fromage dosé à 1ml d'HE de Thym/ kg et une note de 5,08/10 pour le fromage dosé à 1ml d'HE de Romarin/ kg et enfin une note de 6,63 /10 pour le fromage témoin sans huile essentielle (Tableau 17)

La qualité organoleptique de nos essais de fromages testés par le jury de dégustation sur un ensemble de caractères, est cotée bonne pour le fromage à base d'huile essentielle de Thym , assez bonne pour le fromage témoin sans huile essentielle et passable pour le fromage à base de l'huile essentielle de Romarin. Les résultats indiquent une différence significative.

#### **L'analyse sensorielle a donné ce qui suit comme résultats :**

- **L'examen visuel**

Tous les échantillons de fromage ont eu une note de 6/10 pour l'état de la surface du produit fini

Une note de 6,75/10 pour l'aspect de la pâte du fromage frais témoin contre 6,5/10 pour celui à base de l'HE de Thym et 6/10 pour le fromage à base de l'HE de Romarin

- **L'examen olfactif**

Une note de 7,5/10 pour le caractère aromatique du thym et son fromage contre 7/10 pour le témoin et 4/10 pour celui dosé avec l'huile essentielle de Romarin

Une note de 7/10 pour l'intensité aromatique du fromage à base de l'HE de thym par rapport à 6,5/10 pour le témoin et enfin 4 ,5/10 pour celui fait avec de l'HE de Romarin

## Résultats et discussion

---

- **L'examen gustatif**

Une note respective de 7/10 pour la saveur -sensation apportées par l'HE de Thym au fromage frais contre 7/10 (saveur) et 6,5/10 (sensation) pour le fromage témoin et enfin 5/10 pour la saveur-sensation du fromage à base de l'HE du Romarin.

**N.B :** Voir fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages en annexes

D'après le suivi (microbiologique, physicochimique et organoleptique) et en adéquation avec Gillis JC. (2006), il apparaît que le fromage fabriqué à partir de l'incorporation de l'huile essentielle de Thym à 1ml/kg et avec microbiote initial sélectionné contrôlé de souches mésophiles composés essentiellement de Lactococcus présente des qualités supérieures

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et Perspectives

---

### Conclusion et Perspectives

Les résultats obtenus lors de cette étude, indiquent d'une façon nette, que l'adoption d'un processus de fabrication simple et contrôlée pour la préparation du fromage frais a permis d'une part de réduire les variations habituelles de composition physico-chimique du fromage, d'éviter les contaminations souvent massives de ce produit par les différents germes de pollution et d'obtenir un produit salubre conforme aux normes microbiologies internationales. D'autre part, l'utilisation de certains levains sélectionnés pour l'acidification des laits, la maturation des caillés fromagers lactiques et l'utilisation des bio-conservateurs à base d'huiles essentielles de plantes aromatiques aboutit à l'obtention de produits de qualité sensorielle supérieure et avec une date limite de consommation prolongée.

En effet notre étude a montré que la réussite d'un produit laitier et plus précisément un fromage passe par la maîtrise de la matière première en utilisant dans notre cas une poudre de lait pour la préparation de notre connaissant sa valeur marchande soit ses propriétés fonctionnelles et sa qualité microbiologique.

Cette démarche nous a permis de connaître notre flore initiale naturelle et technologique ainsi que celle d'altération et dans le cadre de notre problématique nous avons déterminé en respectant les normes des additifs alimentaires naturelles incorporés des huiles essentielles avec des doses d'inhibition et létales nécessaires à l'augmentation de la date limite de conservation de nos échantillons de fromages frais très sensibles à l'altération fongique par l'activité d'eau élevée dans ces produits de type fermenté à caillé lactique

Nos essais ont donné par rapport au témoin les résultats de la préparation faite avec l'huile essentielle de Romarin qui a un spectre large d'inhibition contre la flore fongique par rapport à celle faite avec l'huile essentielle de Thym qui a inhibé majoritairement les levures-moisissures ramenés initialement par la matière première à multiplication rapide sur les produits fermentés

le suivi microbiologique, physicochimique et organoleptique a sélectionné le fromage

fabriqué à partir de l'incorporation de l'huile essentielle de Thym à 1ml/kg et avec microbiote

initial sélectionné de souches mésophiles composés essentiellement de Lactococcus comme

produit fini semi-affiné ayant des qualités supérieures appréciables pour une éventuelle

application à échelle industrielle contrôlée.

## Conclusion et Perspectives

---

Les récentes études, pratiquées sur plus d'une centaine d'huiles essentielles et de composés d'arôme (dont ceux de Caillet *et al.*, 2007 ;Hilmarsson ., 2011 ; Oussalah *et al* ,2007) ont permis de sélectionner une trentaine d'huiles dirigées spécifiquement contre les flores d'altération et pathogènes les plus répandues et les plus couramment trouvées dans les aliments. Parmi les huiles testées certaines sont extraites d'herbes et épices d'usage commun en cuisine (thym, coriandre, romarin...)

En perspectives :

- IL convient de déterminer en mélange des 02 huiles essentielles connaître leur seuil d'efficacité (c'est à dire la plus faible concentration en huile capable d'inhiber les flores d'altération des fromages frais) sans altérer la qualité organoleptique du produit fini.
- Déterminer les propriétés antioxydantes, et antiradicalaires qui améliorent la durée de vie de nos produits alimentaires et en particuliers nos produits laitiers

## Conclusion et Perspectives

---

# **Annexes**

## Annexe A

### Milieu Chapman

| Ingrédients       | Quantités (g /L) |
|-------------------|------------------|
| Extrait de viande | 1                |
| Peptone           | 10               |
| Na Cl             | 75               |
| Mannitol          | 10               |
| Rouge de phénol   | 0.025            |
| Gélose            | 15               |

pH=7.4, Autoclave a 120°C/15 min.

### Milieu Sabouraud

| Ingrédients       | Quantités (g /L) |
|-------------------|------------------|
| Extrait de levure | 5                |
| glucose           | 20               |
| chloramphénicol   | 0.1              |
| Agar              | 11               |

pH=6.4, Autoclave à 120°C/15 min.

### Milieu PCA

| Ingrédients       | Quantités (g /L) |
|-------------------|------------------|
| Peptone           | 5                |
| Extrait de levure | 2.25             |
| Glucose           | 1                |
| Agar              | 15               |

pH=7.2, Autoclaver a 120°C/15 min.

### Milieu BCPL

| Ingrédients            | Quantités (g /L) |
|------------------------|------------------|
| Peptone                | 5                |
| Extrait de viande      | 3                |
| Lactose                | 10               |
| Pourpre de bromocrésol | 10.25            |
| Gélose                 | 15               |

pH=7, Autoclave a 120°C/20 min.

## Annexe A

---

Milieu Hektoen :

| <b>Composition</b>         | <b>La quantité pour 1L</b> |
|----------------------------|----------------------------|
| -Proteose-peptone          | 12g                        |
| -Lactose                   | 12g                        |
| -Extrait de levure         | 3g                         |
| -Sels biliaires            | 9g                         |
| -Saccharose                | 12g                        |
| -Chlorure de sodium        | 5g                         |
| -Salicine                  | 2g                         |
| -Thiosulfate de sodium     | 5g                         |
| -Citrate de fer ammoniacal | 1,5g                       |
| -Fushine acide             | 0,1g                       |
| -Bleu de bromothymol       | 0,065g                     |
| -Gélose                    | 15g                        |
| pH 7,5 +/-0,2              |                            |

**Ci-joint le dispositif utilisé pour la récupération des huiles essentielles (de Thym et du Romarin) utilisé par le laboratoire de synthèse pétrochimique « du département de Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques de l'université M'hamed BOUGARA de BOUMERDES**

**Extraction des huiles essentielles**

Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger (Figure). Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile et enfin conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5 C°). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.

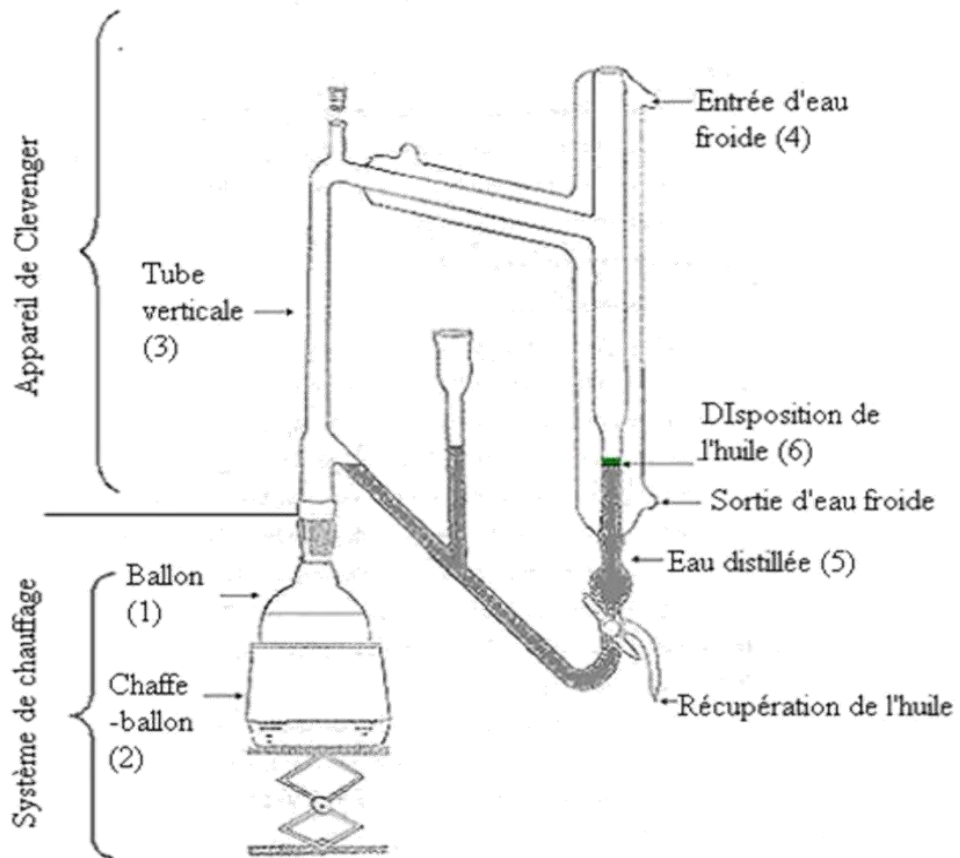


Figure : Dispositif d'extraction Clevenger

## Annexe C

### Fiche d'analyse sensorielle comparative des fromages (F.I.L 2018)

Date :

Nom du dégustateur :    Fonction :  
type du fromage :

Lieu :

| Examen      | Nom du produit | Points à examiner  | Vocabulaire   |
|-------------|----------------|--------------------|---|
| 1/ Visuel   |                | Etat de la surface | Surface : lisse, sèche, humide<br>Couleur : blanche, crème, jaune   |
|             |                | Pâte               | Elasticité : Souple, ferme, cassante<br>Homogénéité : homogène, crevasse  |
| 2/ Olfactif |                | Arômes             | Lactique : lait frais, naturel,<br>Autres : diacétyl, fermenté, synthétique   |
|             |                | Intensité          | Forte, fade, typée, piquante  |
| 3/ Gustatif |                | Saveurs            | Description de la saveur : Sucrée, acide, salée, amer<br>Description des sensations : Douceur, piquant, crémeux, fondant, onctueux<br>Description de la finale bouche : Agréable, très typique, riche en arôme, intense et persistante, plutôt courte |

**Observation aux dégustateurs** : Mettre une croix sur l'appréciation (vocabulaire) accordée au produit dégusté

**Note d'appréciation sur 10 points** : à noter sur la base des résultats formulés par les dégustateurs

**A/ Etat de la Surface :**

**Surface** / lisse : 1,5 , sèche : 0 , humide : 0,25

**Couleur** / blanche : 1 , crème : 0,5 , jaune : 0

**B/ Pâte :**

**Elasticité** / Souple : 1 , ferme : 0,25 , cassante : 0

**Homogénéité** / homogène : 1, crevasse : 0

**C/ Arômes :**

Lactique / lait frais : 1 , naturel : 0,5

Autres/ diacétyl : 1 , fermenté : 0,5 , synthétique : 0

Intensité/ forte : 0,25 , fade : 0 , typée : 1 , piquante : 0

**D/ Saveurs :**

Description de la Saveur / Sucrée : 0 , acide : 0,5 , salée : 0 , amer : 0

Description des sensations / Douceur : 1 , crémeux : 0,5 , piquant : 0 , fondant : 0,15 , onctueux : 0,25

Description de la finale à la bouche / Agréable : 1 , très typique : 0,5 , riche en arôme : 0,25 , intense et persistante : 0,15 , plutôt courte : 0

# DEPTAL MDS

Liquide concentré à usage exclusivement professionnel

**HYGIENE DES SURFACES**

**DÉTERGENT-DÉSINFECTANT**

**DETERGENT DOUX NON CHLORE POUR APPLICATION MOUSSE**

PRODUIT BIOCIDE - N° MEDOTL : 7990

Substance(s) active(s) pour 100g de produit : N-(3-aminopropyl)-N-dodécyl-propane-1,3-diamine 2,4g

GRUPE 1 : Désinfectants et produits biocides généraux; Type de produits 4 : Désinfectants pour les surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux.

Homologation bactéricide n° 9700481 délivrée par le Ministère de l'Ecologie : Locaux de stockage (P.O.A), Matériel de transport (P.O.A), Matériel de literie, Locaux de stockage (P.O.V), Matériel de stockage (P.O.V), Matériel de transport (P.O.V), à la concentration de 2 % pour 5 min de temps de contact

## PRESENTATION

- . Liquide limpide, Incolore
- . pH pur : 13,4/- 0,3
- . pH à 10 g/l : 10,9/- 0,5
- . Masse volumique à 20° C : 1,054/- 0,01 g/cm<sup>3</sup>
- . Point de gel : 0 °C

## PROPRIETES

- . Détergent moyennement alcalin

HYPRED SA au capital de 230 124 euros

RCS St Malo B 330 507 419 - SIRET 332527419 00019

55 Boulevard Jules VERGER B.P. 10180,35803 DINARD CEDEX,FRANCE - Tél : (33) (0)2 99 16 50 00 - Fax : (33) (0)2 99 16 50 20

## FICHE DE DONNÉES DE SÉCURITÉ

(Règlement REACH (CE) n° 1907/2006 - n° 453/2010)

### SECTION 1 : IDENTIFICATION DE LA SUBSTANCE/DU MÉLANGE ET DE LA SOCIÉTÉ/L'ENTREPRISE

#### 1.1. Identificateur de produit

Nom du produit : ASEPTANIOS OXY +  
Code du produit : 2121000

#### 1.2. Utilisations identifiées pertinentes de la substance ou du mélange et utilisations déconseillées

Désinfection par voie aérienne.  
Pour plus d'information sur l'indication du produit, se référer à l'étiquette.

#### 1.3. Renseignements concernant le fournisseur de la fiche de données de sécurité

Raison Sociale : Laboratoires ANIOS.  
Adresse : PAVE DU MOULIN .59260.LILLE - HELLEMES.FRANCE.  
Téléphone : + 33 (0)3 20 67 67 67. Fax : + 33 (0)3 20 67 67 68.  
e-mail : fds@anios.com  
www.anios.com

#### 1.4. Numéro d'appel d'urgence : + 33(0)1 45 42 59 59.

Société/Organisme : INRS.

### SECTION 2 : IDENTIFICATION DES DANGERS

#### 2.1. Classification de la substance ou du mélange

Conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 et ses adaptations.

Irritation cutanée, Catégorie 2 (Skin Irrit. 2, H315).  
Irritation oculaire, Catégorie 2 (Eye Irrit. 2, H319).

Ce mélange ne présente pas de danger physique. Voir les préconisations concernant les autres produits présents dans le local.  
Ce mélange ne présente pas de danger pour l'environnement. Aucune atteinte à l'environnement n'est connue ou prévisible dans les conditions normales d'utilisation.

Conformément aux directives 67/548/CEE, 1999/45/CE et leurs adaptations.

Irritation cutanée (Xi, R 38).  
Irritation oculaire (Xi, R 36).

Ce mélange ne présente pas de danger physique. Voir les préconisations concernant les autres produits présents dans le local.  
Ce mélange ne présente pas de danger pour l'environnement. Aucune atteinte à l'environnement n'est connue ou prévisible dans les conditions normales d'utilisation.

#### 2.2. Éléments d'étiquetage

Conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 et ses adaptations.

Pictogrammes de danger :



GHS07

Mention d'avertissement :

ATTENTION

Mentions de danger et informations additionnelles sur les dangers :

H315 Provoque une irritation cutanée.  
H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

Conseils de prudence - Généraux :

P102 Tenir hors de portée des enfants.

Conseils de prudence - Prévention :

# Liste des références

## Références bibliographiques

---

### A

**Ait abdelouahab (2008).** Microbiologie alimentaire. 3ème Edition. Ben aknon (Alger). 22p.

**Agnihotri , Khatoon et Shanta (2003)** Pharmacognostical évaluation of an antioxidant plant-Acorus calamus linn. Nat. Prod. Sci. 9(4)264-269.

**Alviano , Alviano (2009)** Plant extracts: search for alternatives to treat microbial diseases. Curr PharmBiotech. 10: 106-21.

**Amzal (2010).** Etude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de doctorat. Université de Rabat, 67

### B

**Bahorun (1997)** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius. P 83-94

**Bastien (2008).** Effet larvicide des huiles essentielles sur Stomoxys calcitrans a la réunion. Thèse doctorat. Université Paul-Sabatier. Toulouse. P : 25-26.

**Bekhechi et Abdelouahid (2010).** Les huiles essentielles. Offices des publications Universitaires. ALGER. P : 55 - 56.

**Belaiche (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. L'aromatogramme Tome I, Edition Maloine.

**Borras-Linares Isabel, Almudena Perez-Sanchez, JesusLozano-Sanchez, Enrique Barrajon-Catalan, David Arraez-Roman, Alejandro Cifuentes, Vicente Micol, Antonio Segura Carretero. (2015).** A bioguided identification of the active compounds that contribute to the antiproliferative/cytotoxic effects of rosemary extract on coloncancer cells. Food and Chemical Toxicology. 80 N°, p215–222.

**Belhattab (2007).** Composition chimique et activité antioxydante, antifongique et antiaflatoxinogène d'extraits de Origanum glandulosum Desf et Marrubium vulgare L (Famille des Lamiaceae). Thèse de Doctorat d'état, UFA-Sétif, Algérie.

**Bourgeois, , Mescle, Zucca, , 1989.** Microbiologie alimentaire. Technique et documentation Lavoisier: APRIA.

**Bousbia Nabil (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Université d'Avignon. France. 127p

**Botineau (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC,

## Références bibliographiques

---

Lavoisier, Paris. 1021-1043p

**Brouillette , Grondin , Lefebvre , Talbot et Malouin (2004).** Mouse mastitis model of infection for antimicrobial compound efficacy studies against intracellular and extracellular forms of *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Microbiology*, 101: 253-262

**Brule , Lenoir et Ramet (1997).** Les mécanismes généraux de transformation du lait en fromage, chapitre I, la micelle de caséine et la coagulation du lait. Pp. 7 à 39. Dans le fromage. Coord. ECK A., et GILLIS J.C. 3ème édition Tec et Doc. Lavoisier. 875p

**Bruneton (1993).** *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.p: 915.

**Burt (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *Int. J. FoodMicrobiol.* 94: 223-253

**Burt et Reinders (2003)** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol.*36(3):162-7.

### C

**Caccionni , Guizzardi , Biondi , Agantio et Guisepe (1998).** Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *penicillium digitatum* and *penicillium italicum*. *International J. Food Microbiol.* 43(12), 73- 79.

**Caillet, Lacroix, 2007.** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA Université de Laval, Québec, Canada, 1-8.

**Choisy , Desmazeaud , Gripon , Lambert , et Lenoir (1997).** La biochimie de l'affinage dans le fromage. 3ème édition Tec et Doc Lavoisier, 86-153, 875p.

**C .I .P.C Lait /commission Interprofessionnelle des pratiques contractuelles (2011).**Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse physicochimiques des laits et des produits laitiers (méthodes de référence AFNOR/Lait n°2011-02).

**Clarisse , Vincent ,Isabelle (2006).** Syndicat National des Industries Aromatiques Alimentaires. (S.N.I.A.A.) Article paru dans la revue « Industries Alimentaires et Ag ricales », Juin 2006 18 rue de la Pépinière, 75008 PARIS

**Cosentino , Tuberoso , et al (1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol.* 29(2): 130-5.

## Références bibliographiques

---

**Cox , Mann , Markham , Bell , Gustafson , Warmington and Wyllie . 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. 88: 170-175.

**Crète (1962)** Précis de botanique. Tome I.

### D

**Daroui-Mokaddem (2011).** Etude phytochimique et biologique des especes : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolobos olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). Thèse de Doctorat. Option : *Biochimie appliquée*. Université Badji-Mokhtar, Annaba.

**David et Forte (1998).** Guide nationale des bonnes pratiques en production fromagères fermiers. 2<sup>éd</sup>. Institut de l'élevage. Paris. 135p.

**De Buyser , Dufour , Maire et Lafarge (2001).** Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67: 1-17.

**Derzelle , Dilasser , Duquenne et Deperrois (2009).** Differential temporal expression of the staphylococcal enterotoxins genes during cell growth. *Food Microbiology*, 26: 896–904.

**Didry , Dubreuil et al (1993).** Activité antibactérienne du thymol, du carvacrol et de l'aldehyde cinnamique seuls ou associés. *Pharmacize* ; 48: 301-4.

**Dongmo P.M.J, Tchoumboungang , Ndongson , Agwanande , Sandjon , Zollo P.H.A, & Menut (2010).** Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea klaineana* (Burseraceae) growing in Cameroon. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1 (4): pp. 606-611

**Dorman et Deans (2000)** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* ; 88(2): 308-16.

**Duraffourd , D'Hervicourt , Lappraz (1990).** Cahiers de phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galénique. Elements thérapeutiques synergiques. 2<sup>ème</sup> édition Masson (Paris); 87 pp

### E

**Eck et Gillis (2006).** Le fromage. 3<sup>ème</sup> Edition . Tec et doc. Lavoisier. Paris. 891p.

**Eck (1987).** Le fromage. Edition. Tec et Doc Lavoisier. Paris. 539p.

## Références bibliographiques

---

**El Kamli Taha, Faouzi Errachidi, Nouredine Eloutassi, Houmane Majid, Rachida Chabir, Abdellatif Bour (2017).** Edition European Scientific Journal. Vol.13, No.21, p 180.

### F

**Fadili Kamal, Smail Amalich, Soro K. N’dedianhoua, Mohammed Bouachrine, Malika Mahjoubi, Fatima El hilali, and Touria Zair. (2015).** Teneurs en polyphénols et évaluation de l’activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: Rosmarinus Officinalis et Thymus Satureioides. Vol. 17 No. pp. 24-33

**FAO/OMS. (1996). Codex Alimentarius. N°A-6-1978.** Code de principes concernant le lait et les produits laitiers. Rome, 258p.

**Fauchere et Avriljean. Loup., (2002).** Bactériologie générale et médicale, ELLIPES édition Marketing S.A-paris, 365 pages

« **F.I.L** » Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018 Normes définies pour les analyses microbiologiques et chimique des produits laitiers

**Fine , Furgang , Barnett .(2001).** Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of actinobacillus actinomycet emcomitans. J Clin Periodontol.28: 697-700.

**Floegel , Kim , Chung , Koo and Chun . (2011).** Comparison of ABTS/ DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, pp: 1043-1048.

**Fox , et Mc Sweeney (2004).** Cheese an overview. In Cheese: Chemistry Physics and Microbiology, general aspects, third édition. 1: 1 -8p.

### G

**Gabriel , Alleman , Dufourcq , Perrin et Gabarrou . (2013).** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. Hypothèses sur les modes d’action impliqués dans les effets observés.INRA Productions Animales. 26 (1) : 13 - 24.

**Garnero , 1996 :** Huiles essentielles. Techniques de l’ingénieur K345 pp 1-45.

**Gausсен , Deuroy et Ozenda . (1982).** Précis de botanique végétaux supérieurs. Edition : Masson. Pp 215-408

**Gayda . (2013).** Thèse de doctorat etude des principales huiles essentielles utilisées en

## Références bibliographiques

---

rhumatologie . Université toulouse III Paul sabatier, 60 ,p

**Get, (2002).** Transformation de produit laitiers frais à la ferme. 1er Edition 2002 Educagire  
Edition. 232p

**Gillis . (2006).** Définition du fromage et normalisation. In: fromage. Eck A et Gillis JC.

**Ginseng. (2013).** mr-ginseng.com /thym/.

**Giordani et Kaloustian . (2006).** Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques, *Phytopharmacologie*, 3 : 121124.

**Gonzalez-Trujano , E.I. Pena, Martinez, Moreno, Guevara-Fefer , Deciga-Campos, Lopez-Munoz, (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Edition Journal of Ethnopharmacology*. P 476-482.

**Gounelle , Astier-Dumas . (1980).** Les additifs alimentaires et le consommateur, 17p.

**Guerin-Faubleee et Carret . (1999).** L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées Nationales GTV- INRA, 5-12.

**Guignard , Dupont . (2004).** Botanique: Systématique moléculaire. 13ème éd. Masson, pp237

**Guinoiseau . (2010).** Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie-Biologie moléculaire, France. 50p.

**Guiraud . (2003).** Microbiologie alimentaire. Ed. Paris : DUNOD, 651, 653p.

**Guiraud et Galzy . (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires Edition l'usine. 119p.

**Guiraud et Rosec , (2004) .** Pratique des normes en microbiologie alimentaire.

Edition AFNOR. 95p.

### H

**Haddouchi , Lazouni , Ahammer , Carson et Riley . (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 985-990.

**Hammer , Carson , Riley . (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86: 985-990.

**Hazzit , Baaliouamer , Verissimo , Faleiro , Miguel . (2009).** Chemical composition and

## Références bibliographiques

---

biological activities of Algerian Thymus oils. Food chemistry 116: 714-721

**Hilmarrsson Fernández, 2011.** Antibacterial and Antifungal Activities of Essential Oils in Thormar H. Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents., Ltd ed, United Kingdom

**Holley, Patel, , (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology 22, 273-292.

### J

**Jaouen et Mouillot , (1985).** Fromage à partir de lait de chèvre. In : Luquet FM. (Eds.), Laites et produits laitiers vache brebis chèvre. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp. 295- 336.

**Jeantet, Croguennec, Schuck et Brule. (2006).** Science des aliments. Volume 2, Technologies des produits alimentaires, Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 4055, 456p

**Jeantet Romain , Garric Gilles, Brulé Gérard, 2017.** INITIATION A LA TECHNOLOGIE FROMAGERE, lavoisier TEC & DOC ed.

### K

**Kalemba , Kunicka . (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Med Chem. 10(10): 813-29.

**Kaur and Kapoor . (2002).** Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables .Food. Sci.Technol. 37, pp : 153-161

**Kone . (2001).** Extraction des huiles essentielles par distillation. Gate Information Service. Eschbom. P: 1-2.

**Knobloch , Pauli , Iberl , Weigand , Weis. (1989).** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J. of Ess. Oil Res. 1: 119-123.

**Kurita , Koike . (1982).** Synergetic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. Agric. Bil. Chem. 46: 159-165.

### L

**Lahlou . (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytother Res; 18: 435-48.

## Références bibliographiques

---

**Lambert** , Skandamis P. N., et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J App Microbiol 2001; 91(3): 453-62.

**Larpent** ,( 1997).Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 1073P.

**Leveau et Bouix** , (1993). Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 612p.

**Lorrain** . (2013). 100 questions sur la phytothérapie. Ed. La boétie, Italie.

**Loziene , Venskutonis , Sipailiene , Labokas** .(2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different Thymus pulegioides L. chemotypes - Food Chemistry; Vol. 103; pp 546-559.

**Luquet** , (1990). Lait et produit laitiers. Vache brebis et chèvres. Tome 2.Les produit laitiers transformation et technologie. 2émeédition. Tec et Doc Lavoisier. Paris. 637p.

### M

**Mahaut , Janetet , Brulé et Scheck** , (2000). Les produits industriels laitiers. Ed tec et Doc. Lavoisier. Paris.178p

**Mann et Markham** . (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. Journal of Applied Microbiology, 84, 538-544

**Mathieu** , (1998). Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la RocheSur-Foron. Initiation à la physico-chimie du lait. Ed. Tec & Doc : Lavoisier, Paris. P : 12-210.

**Mélanie , Chimiste** . (2001). Profil des produits forestiers première transformation « huiles essentielles» Ministre des ressources naturelles.21p

**Mietton** , 1995. Incidence de la composition des fromages au démoulage et des paramètres d'environnement sur l'activité des agents de l'affinage. Revue des ENIL 189, 19-27.

**Morales** . (1997). Synopsis of the genus Thymus L. in the mediterranean area. Logascalia, 19:249-262.

**Moshtaghi , Mohamadpour** , (2007). Incidence of Listeria spp. In raw milk in Shahrekord, Iran. Foodborne Pathogens Diseases. 4 :107-110.

## Références bibliographiques

---

### N

**Naghdi , Yazdani , Mohammad Ali , Nazari , (2004)** Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L-Industrial Crops and Products; Vol. 19; pp 231-236.

**Nicole . (2008)**. Les huiles essentielles. Cercles naturalistes de Belgique. Section les sources. pp: 1-3.

### O

**Ormeno , Fernandez , Mévy . (2007)** Plant coexistence alters terpene emission and content of Mediterranean species- Phytochemistry; Vol. 68; pp 840852.

**Osman . (2011)**. Multiple pathways of the reaction of 2, 2-diphenyl-1- picrylhydrazyl radical (DPPH\*) with (+)-catechin: Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH\* and the oxidized form of the polyphenol. BiochemicalandBiophysicalResearch Communications 412, pp : 473-478

**Ouraiïni , Agoumi , Ismaïli-Alaoui , Alaoui , Cherrah , Amrani , Belabbas. (2005)**. Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. pp 147-157

**Oussalah, Caillet, Saucier, Lacroix, 2007**. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food control 18, 414-420.

### P

**Padrini , Lucheroni . (1996)**. Le grand livre des huiles essentielles: Guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et l'aromomassage énergétique avec plus de 100 photographies. Ed. De Vecchi, pp 15.

**Pedersen . (2000)**. Distribution and taxonomie implications of some phenolics in the' family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. Biochem. Syst. Ecol., 28 : 229 - 253.

**Peron , Richard .(1992)**. Epices et aromates, techniques et documentations Lavoisier.

**PEYRON . (1992)**. Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 - 238. Cité In : Les arômes alimentaires.Coordinateurs

## Références bibliographiques

---

RICHARD H. et MULTON J.-L. Ed. Tec & Doc Lavoisier et Apria.438 p.

**Pibiri . (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systems de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, 161p.

**Pierre Van de Weghe. (2012).** Equipe produits naturels, synthèse, chimie médicinale (bat5, rdc)  
pi erre.van-de-weghe@univ-rennes1.fr. 15-17p

**Pierron,( 2014)..** Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services

**Popovici , Saykova et Tylkowski . (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel 4, pp : 25-39.

### Q

**Quezel , Santa . (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Tome II. Edition du centre national de la Recherche Scientifique.15,quai Antole-France- Paris 7e.

### R

**Rasooli , Rezaei , Allameh .(2006).** Ultra-structural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*- International Journal of Infectious Diseases; Vol. 10; pp 236-241. 2006

**Ribeiro-Santos Regiane, Denise Carvalho-Costa, Carlos Cavaleiro,Helena S. Costa, TaniaGonçalves Albuquerque, Maria Conceição Castilho, Fernando Ramos, Nath\_alia.Melo, Ana Sanches-Silva.(2015)** A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Trends in Food Science & Technology 45, p355-368.

**Richonnet Céline. (2015)** Caractéristiques nutritionnelles des fromages fondus. Edition Elsevier Masson., p 9.

### S

**Saidj . (2006).** Extraction de l'huile essentielle de thym: *Thymus numidicus kabylica*- Thèse de magistère en Technologie des hydrocarbures, Département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques; université M'Hamed Bougara - Boumerdes.

**Santos F S R, Novales M G M. (2012).**Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. Curr Opin Biotech. 23:136-41.

**Sharing . (2005).** Cultures à haute valeur commerciale. Le centre technique de cooperation agricole et rurale. Pay Bas. 39p

## Références bibliographiques

---

**Simionatto , Bonani , Morel , Poppi , Junior , Stuker , Peruzzo , Peres and Hess (2007).** Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) Stem Bark. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 18, N°5, pp. 879-885.

**Srairi et Hamama . (2006).** Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. *Transfert de technologie en agriculture*, 2006, 137. pp : 1-4.

**Spiro et Chen .(1994).** Kinetics of Solvent Extraction of Essential Oil from Rosemary Leaves. *Flavor and Fragrance Journal*. 9, 187-200. 1994.

St-Gelais D., Tirard-Coller P., Bélanger G., Couture R. et Drapeau R., (2002). Fromage. In : *Science et technologie du lait : transformation du lait* (Vignola C.L.). Presses. Int. Polytechnique. 349-407

**St-Gelais , Tirard-Coller , Bélanger , Couture et Drapeau , (2002).** Fromage. In : *Science et technologie du lait : transformation du lait* (Vignola C.L.). Presses. Int. Polytechnique. 349-407

**Streit , Jones , Toleman , Strachounski et Fritsche . (2006).** Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and *Salmonella* isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 2003. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 27: 378-386

### T

**Thompson , Chalchat , Michet A, Linhart , Ehlers .(2003).** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes- *Journal of Chemical Ecology*; Vol. 29; N°4.

**Tormo , (2010).** Diversité des flores microbiennes du lait crus de chèvre et facteurs de variabilité. 238 pages

**Tsuchiya , Sato , Miyazaki , Fujiwara , Tanigaki , Ohyama , Tanaka , Linuma . (1996).** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J.Ethnopharmacol.* 50: 27-34.

### V

**Van Kessel , Karns , Gorski ., Mcluskey et Perdue , (2004).** Prevalence of *Salmonellae*,

## Références bibliographiques

---

Listeria monocytogenes, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Sciences*, 87:2822-2830.

**Veirling , (2008)**. Aliments et boisson filières et produits. 3<sup>ème</sup> édition biosciences et techniques. Paris. pp 15-16.

**Veisseyre,1975** ;Technologie du lait Edition la maison Rusique paris,698p

**Vignola . (2002)**. Sciences et technologies du lait, transformation de lait. Ecole Polytechnique de Montréal, 599p.

**Vivek , Bajpai , Kwang-Hyun Baek et Sun Chul Kang . (2012)**. Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. Dans : Food Research International, 45, Issue 2, pp. 722-734

**Von Eiff , Peters et Becker , (2006)**. The small colony variant (SCV) concept: the role of staphylococcal SCVs in persistent infections. *Injury*, 37: 26-33.

### W

**Walther , Schmid , Sieber et Wehrmuller , (2008)**. Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci. Technol.* 88, 389–405.

**Wichtl et Anton . (2003)**.Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2<sup>ème</sup> édition, édition TEC et DOC. Pp523-524-525

**Wendakoon , Sakaguchi . (1995)**. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of Enterobacter aerogenes by active components in spices. *J. of Food Protection.* 58: 280- 283

**Wootton-Beard , Moran A and Ryan . (2011)**. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenols content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods.*Food Research International* 44, pp : 217-224.

### Y

**Yang , Guo and Yuan . (2008)**. In vitro antioxidant properties of rutin .*LWT.*41, pp: 1060-1066.

## Références bibliographiques

---

**Yanishlieva and Marinova (1995)**. Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. *Food Chemistry*. 54, pp : 337-382.

### Z

**Zaika . (1988)**. Spices and Herbs - Their antimicrobial activity and its determination. *J Food Safety*. 9(2): 97-118.