



DEPARTEMENT D' AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mlle ABDALLAH Ahlem

Pour obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

Spécialité CONTROLE DE QUALITÉ DES ALIMENTS

THÈME

**Contribution à l'étude de l'effet antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. (Romarin) sur la qualité de la viande ovine de race Ouled Djellal au cours de la conservation au froid à 4°C.**

Soutenue publiquement le :

Devant le Jury

Président	M. BEKADA.A.M.A	Professeur	C.U. Tissemsilt
Encadreur	M. AIT SAADA. D	MCA	U. Mostaganem
Examineur	Mme. AIT CHABANE. O	MCB	U. Mostaganem
Invité	Melle. BABADJI. K	Doctorante	U. Mostaganem

Le thème a été réalisé au niveau du laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition Université de Mostaganem.

Année universitaire : 2019 /2020.

# REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, je remercie Allah le tout puissant qui m'a donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.*

*J'exprime ma reconnaissance aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail.*

*Je remercie vivement Mr. **AIT SAADA.D**, Maître de conférences classe A à l'université Abdelhamid ibn Badis-Mostaganem pour avoir accepté de m'encadrer et de m'avoir accordé sa confiance tout au long de ce travail.*

*J'exprime mes sincères gratitudes à Mr. **BEKADA. A. M. A** professeur à l'université de TISSEMSILT de l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de soutenance.*

*J'exprime ma gratitude à Mme. **AIT CHABANE. O** Maître de conférences classe B à l'université de Mostaganem, de m'avoir honoré en acceptant d'examiner mon travail. Ses remarques et critiques seront certainement très bénéfiques ; merci vivement.*

*Je tiens à remercier plus particulièrement Mlle **BABADJI. Khadidja** pour l'attention et l'aide qu'elle m'a apporté au quotidien pendant toute la durée de réalisation de ce modeste mémoire.*

*Enfin, je remercie toutes les personnes ; enseignants « es » et collègues que j'ai côtoyées et qui ont contribué de près ou de loin à l'avancement de mon expérimentation.*

# Dédicaces

*« Si vous mettez votre cœur dans la réalisation de vos projets,  
si la passion vous dévore et que rien ne vous arrête succès il y aura. »*

*Mathieu Thomas*

*Je dédie ce travail en premier lieu,*

*A mes parents qui me sont très chers en témoignage à leur soutien pendant toute ma vie car aucun mot ne pourra exprimer ma haute gratitude et profonde affection.*

*A mes frères Mohammed et Noufel, et à mes grands-parents*

*A toute ma famille,*

*A mes chers amis : Maroua, Chahra-zed, Rahma, Yassamina, Razika, Sarah, Abdelkader, Abdelmalek, Farouk,*

*A tous mes collègues.*

*A ma deuxième famille l'organisation algérienne de protection et d'orientation du consommateur et leur environnement « APOCE »*

*Et à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.*

## Résumé :

Cette présente étude a pour objectif de suivre l'effet antimicrobien de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis*.L poussant à l'état spontané dans la région de Naama-Algérie (Djebel sidi Aissa) vis-à-vis de certains germes de contamination de la viande ovine au cours de sa conservation au froid positif à 4°C. L'extraction des composés phénoliques de romarin a été effectuée par macération de 10 g de matière végétale de la plante dans une solution hydro-éthanolique. Le solvant du filtrat récupéré a été évaporé et l'extrait brut a été enfin dilué à l'eau distillée à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. 18 échantillons de 300 g de gigot de viande ovine de race Ouled Djellel provenant de la région de Bougtob wilaya d'El Bayadh ont été prélevés aseptiquement après saignée et ressuyage de 24 heures des carcasses d'animaux. Des lots de 3 morceaux de viande de 300g ont été constitués et entreposés individuellement dans une barquette en polystyrène. Chaque échantillon de chaque lot a été additionné par pulvérisation à raison de 6 ml avec l'une des concentrations d'extrait de romarin et conservés au froid à 4°C pendant 9 jours. Les mesures et contrôles ont concerné le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes de l'extrait et de la matière végétale de romarin, le dénombrement des principaux germes de contamination de la viande (flore totale aérobie mésophile, Coliforme thermotolérants, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, flore psychrotrophe) et les tests antimicrobiens des deux germes (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) responsables de toxi-infections alimentaires dont : méthode de contact direct, méthode des disques, Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides (CMI et CMB). Les résultats ont subi une analyse de la variance et une comparaison des moyennes selon le test de Newman et Keuls.

L'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* L est riche en composés phénoliques 431.65 mgEAG/g MS et moins bien riche en flavonoïdes 2.167 mgEQ/g MS.

Cet extrait de romarin a présenté une activité antimicrobienne intéressante particulièrement vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* impliqués dans les toxi-infections alimentaires des viandes avariées.

Par ailleurs, le niveau de contamination aux germes (flore totale aérobie mésophile, Coliforme thermotolérants, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, flore psychrotrophe) de la viande ovine traitée notamment à de fortes concentrations de 80 et 100% d'extrait de la plante s'est avéré très faible par rapport à la viande témoin non traitée.

L'ajout d'extrait pur non dilué de romarin comme additif naturel a permis de prolonger la durée de conservation de la viande jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour à 4°C.

**Mot clé :** *Rosmarinus officinalis*.L, viande ovine, conservation, extrait, hydro-éthanolique, antimicrobien,

## **Abstract:**

The objective of this present study is to follow the antimicrobial effect of the hydro-ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis*.L growing spontaneously in the region of Naama-Algeria (Djebel sidi Aissa) against some meat alteration microorganisms during storage at 4°C. The phenolic extraction compounds from rosemary were carried out by macerating 10 g of plant material from the plant in a hydro-ethanolic solution. The solvent of the filtrate collected was evaporated and the crude extract was finally diluted with distilled water to 0, 20, 40, 60, 80 and 100%. Each batch, composed of 3 pieces of meat, was stored in a polystyrene tray and treated with one to the previous concentrations of *Rosmarinus* extract and kept cold at 4 ° C for 9 days. The measurements and controls concerned the dosage of total polyphenols and flavonoids in the extract and plant material of rosemary, the enumeration of the main germs of contamination of meat (total aerobic mesophilic flora, thermotolerant coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, psychrotrophic flora) and antimicrobial tests for the two germs (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) responsible for food poisoning including: direct contact method, disc method, Minimum Inhibitory and Bactericidal Concentrations (MIC and CMB). The results underwent analysis of variance and comparison of means according to the Newman and Keuls test.

The hydro-ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L is rich in phenolic compounds 431.65 mgEAG / g DM and less rich in flavonoids 2.167 mgEQ / g DM.

This rosemary extract exhibited an interesting antimicrobial activity particularly against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* involved in food poisoning of rotten meats.

In addition, the level of contamination by germs (total aerobic mesophilic flora, thermotolerant coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, psychrotrophic flora) of meat treated in particular at high concentrations of 80 and 100% of plant extract. Was found to be very low compared to the untreated control meat.

Adding undiluted pure rosemary extract as a natural additive extended the shelf life of the meat up to day 9 at 4 ° C.

**Keyword:** *Rosmarinus officinalis*.L, sheep meat, preservation, extracts, hydro-ethanolic, antimicrobial,

## Liste des abréviations :

**Na Cl:** Chlorure de Sodium.

**CMB :** Concentration minimale bactéricide.

**CMI :** Concentration minimale inhibitrice.

**OMS :** Organisation mondiale de la santé.

**SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

**UFC :** Unité formant colonie.

**Aw :** Activité de l'eau.

**Mb :** Myoglobine.

**pH :** Potentiel hydrogène.

**ISO 8402 :** Management et assurance de la qualité.

**WHC:** Water Holding Capacity.

**PRE :** pouvoir de rétention d'eau

**MEC :** Matrice extracellulaire.

**M.G :** Matière grasse.

**Mcg :** Microgramme.

**ATP :** Adénosine triphosphate

**UFC :** Unité formant colonie.

**p :** Seuil de probabilité.

**JORA :** Journal Officiel de la République Algérienne.

**PCA :** Plate Count Agar.

**VRBL :** Milieu Lactosé Biliée Au Cristal Violet Et Au Rouge Neutre.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Evolution de la dureté du muscle post mortem au cours du temps .....	4
<b>Figure 2.</b> Organisation générale du muscle .....	5
<b>Figure 3.</b> Structure d'un sarcomère observé en microscopie électronique (en haut) et schématisé (en bas) .....	6
<b>Figure 4.</b> Rosmarinus officinalis-L.....	23
<b>Figure 5.</b> Etape d'extraction des composés bioactifs de Rosmarinus officinalus.L .....	35
<b>Figure 6.</b> Préparation des différentes solutions expérimentales. ....	36
<b>Figure 7.</b> Préparation des différentes solutions expérimentales .....	38
<b>Figure 8.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	44
<b>Figure 9.</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine .....	45

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Composition biochimique moyenne de la viande rouge .....	7
<b>Tableau 2.</b> Germes d'altération de la viande .....	13
<b>Tableau 3.</b> Germes pathogènes de la viande .....	14
<b>Tableau 4.</b> Composition des éléments nutritifs de romarin séché .....	26
<b>Tableau 5.</b> Classification des polyphénols. ....	27
<b>Tableau 6.</b> Classification des polyphénols. ....	33
<b>Tableau 7.</b> Préparation des différentes dilutions de l'extrait hydro-éthanolique de Rosmarinus officinalis.L .....	36
<b>Tableau 8</b> .Teneurs en Composés phénoliques et flavonoïdes de l'extrait hydroéthanolique et de la matière végétale de Rosmarinus officinalis L .....	45
<b>Tableau 9.</b> Effet de l'extrait hydro-éthanolique de Rosmarinus officinalis L sur quelques germes responsables de toxi-infection alimentaire. ....	46
<b>Tableau 10.</b> Effet de l'extrait hydroéthanolique de Rosmarinus officinalis sur la qualité de la viande durant 9 jours de conservation au froid. ....	47

# Table des matières

---

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Introduction.....	1

## **Partie 01 : Etude bibliographique**

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

1. Définition de la viande.....	3
2. Races ovines algérienne .....	3
3. Phase de la transformation du muscle en viande après abattage .....	3
3.1. Etat pantelant .....	4
3.2. Etat rigide .....	4
4. Structure de la viande .....	5
5. Composition et valeur nutritionnelle de la viande .....	7
6. Qualités de la viande rouge .....	7
6.1. Qualités sensorielles de la viande .....	7
a. Couleur .....	7
b-flaveur .....	8
c- Jutosité .....	8
d-Tendreté .....	8
6.2. Qualité technologique .....	9

a. Capacité de rétention d'eau .....	9
b. pH .....	9
6. 3. Qualité hygiénique .....	9
7. Facteurs influençant la qualité de la viande.....	10
a. Dépôt adipeux .....	10
b. Age .....	10
c. Génétique .....	10
d. Alimentation .....	11
8. Détermination de la couleur de la viande .....	11
8.1. Problèmes de couleur liés au pH .....	11
9. Méthodes de conservation de la viande .....	12
9.1. Réfrigération.....	12
9.1.1. Objectifs.....	13
9.1.2. Incidences microbiologiques du stockage de la via.....	13
9.1.3. Influence des paramètres de réfrigération (température, vitesse de réfrigération) .....	14
9.1.4. Influence sur la flore superficielle de contamination .....	15
9.1.5. Influence sur les germes anaérobies profonds .....	16
9.1.6. Techniques de réfrigération .....	16
9.2. Congélation .....	16
9.2.1. Influence de la congélation sur les microorganismes .....	17
9.4. Utilisation des antioxydants dans la viande .....	19
10. Impact de la conservation sur la qualité de la viande .....	19
10.1. Flore bactérienne des viandes .....	19
10.1.1. Flore bactérienne saprophyte .....	20
10.1.2. Flore bactérienne pathogène .....	20

10.2. Altérations de la viande .....	20
11. Désinfection par UV .....	20

## **Chapitre II : Aperçu sur *Rosmarinus officinalis***

1. Généralité .....	22
2. Historique .....	22
3. Définition.....	22
4. Description .....	23
4.1. Autres appellations .....	23
4.2. Genre Romarin .....	24
5. Systématique botanique de la plante .....	24
6. Propriétés biologiques et pharmacologiques .....	24
7. Répartition géographique .....	25
8. Récolte du Romarin .....	25
9. Ecologie .....	25
10. Saveur, arôme et valeur nutritionnelle .....	26
11. Composés phénoliques .....	26
11.1. Généralité .....	26
11.2. Classification des polyphénols .....	27
12. Propriétés du Romarin .....	28
12.1. Activité antibactérienne .....	28
12.2. Activité antioxydant .....	28
13.1. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques .....	29

## Partie 02 : Méthodologie

1. Objectifs .....	30
2. Matériel et méthodes .....	30
2.1. Matériel .....	30
a. Matériel biologique .....	30
b. Matériel du laboratoire .....	30
c. Solvants, réactifs et milieux de culture .....	31
2. Méthode .....	32
2.1. Méthode d'extraction .....	32
a. Préparation de la poudre végétale .....	32
b. réparation de l'extrait .....	32
c. Stérilisation du matériel .....	33
d. Préparation des dilutions .....	33
2.3. Etude des effets antimicrobiens des extraits de <i>osmarinus officinalis L.</i> .....	35
2.3.1. Activation d'inocula microbiens .....	35
2.3.2. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leeau, 1980) .....	35
2.3.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose .....	35
2.3.4. Concentration minimale inhibitrice : CM .....	37
2.3.5. Concentration minimale bactéricide : CB .....	38
2.4. Effets de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalus.L</i> sur la qualité de la viande ovine.....	38
2.4.1. Echantillons de viande .....	38
2.4.2. Traitement de la viande .....	39
2.4.3. Dénombrement des germes de contamination .....	39

2.4.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
a. Technique de dénombrement .....	40
b. Lecture .....	40
c. Expression des résultats .....	40
2.4.3.4. Dénombrement de la Flore psychrotrophe .....	41
2.4.3.5. Dénombrement de <i>Pseudomonas</i> .....	41
Lecture .....	41
2.6. Traitement statistique .....	42

### **Partie 03 : Résultats et Discussion**

<b>1. Résultats</b> .....	43
1.1. Composés phénoliques et flavonoïdes .....	43
1.2. Effet antimicrobien .....	44
1.3. Effet sur la conservation de la viande .....	46
<b>2. Discussion</b> .....	47
<b>Conclusion</b> .....	52

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

# Introduction

## Introduction

La viande occupe une place de choix dans notre alimentation en raison de son niveau de consommation dans le monde qui reste très important et, sa composition permettant de couvrir une proportion importante des apports nutritionnels conseillés en certains nutriments : vitamines B 3, B 6 et B 12, fer, zinc (**Bauchart et Gandemer, 2010**), protéines de haute qualité, et des matières grasses tel que les oméga-3 (**Williams, 2007**). Sa richesse en eau et en protéines fait d'elle un aliment hautement périssable et un milieu favorable à la prolifération microbienne.

En général, la contamination de la viande a lieu juste après l'abattage, dès les premières étapes de dépeçage et d'éviscération. En effet, les micro-organismes présents sur le cuir et dans le tractus digestif constituent la source principale de contamination de la surface des muscles, les étapes ultérieures de découpe et de transformation révéleront autant d'étapes de contamination possibles par les microorganismes présents dans l'environnement des ateliers : l'air, les surfaces, les équipements et les manipulateurs (**Vergès et al., 2010**). Pour cela, l'homme depuis longtemps a cherché d'appliquer des méthodes de conservation basée sur l'inhibition de la croissance des microorganismes pathogènes, en agissant sur les différents facteurs qui influent leur développement, y compris les températures de réfrigération et congélation, salage, fumaison ou l'addition des agents conservateurs afin de prolonger la durée de sa consommation et éviter toutes éventuelles intoxications alimentaires.

Ainsi, ces dernières années les études ont été orientées à la recherche de nouvelles méthodes biologiques pour la conservation de certains aliments fragiles dont la viande, le lait et dérivés. Parmi ces méthodes figure l'utilisation de pro biotiques et des composés bioactifs de certaines plantes médicinales comme le *Rosmarinus officinalis* L. (**Bourgeois et Larpent, 1989**).

Les métabolites secondaires ont fait et restent à ce jour l'objet de nombreuses recherches in vivo comme in vitro ayant permis de découvrir de nouvelles molécules naturelles à effets santé et de nature très diversifiées :composés phénoliques, flavonoïdes, huiles essentielles, alcaloïdes...etc. (**Hamidi, 2013**). Une grande partie des recherches actuelles ont porté ainsi sur l'étude des composés bioactifs des plantes comme surtout les composés phénoliques et les flavonoïdes a vertu santé qui constituent un groupe de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, largement représentés dans la quasi-totalité des plantes et faisant partie intégrante de notre nourriture quotidienne (**Atik bekkaraet al.2007**).

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis*) fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique appartenant à la famille des lamiacées, très appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anti-tumorales. (Atik bekkaraet *al.*, 2007). Il est souvent utilisé comme additifs aromatiques dans les aliments. Ses composés bioactifs sont utilisés en médecine comme agents antibactériens, cytostatiques, antimutagènes, antioxydants et anti-inflammatoires (Elyemni *et al.*, 2019). Plusieurs travaux de recherches ont été aussi portés sur l'étude de l'activité antimicrobienne de *Rosmarinus officinalis* sur les germes responsable de toxi-infections alimentaire. (Yesil *et al.*, 2005).

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* L., riche en composés phénoliques vis-à-vis de certains germes de contamination microbienne d'une viande ovine de gigot aux cours 9 jours de conservation au froid positif de 4°C.

Le manuscrit est scindé en trois parties :

- Une première partie bibliographique où nous allons aborder succinctement les différentes connaissances sur la viande ovine et l'espèce végétale *Rosmarinus officinalis*. L.
- Une deuxième partie, retraçant le protocole expérimental et les méthodes utilisées dans cette étude.
- La dernière partie a été consacrée à la discussion des résultats obtenus et différentes perspectives de recherche ont été évoquées.

# **Partie 01:**

## **Etude bibliographique**

# **Chapitre I:**

## **Généralités sur la viande**

## Chapitre I : Généralités sur la viande ovine

### 1. Définition de la viande

La viande est un aliment constitué de tissus musculaires de certains animaux, notamment les mammifères, les oiseaux, les reptiles, mais aussi certains poissons (*Donzo, 2016*).

Le terme viande désigne toutes les parties comestibles en provenance des animaux mammifères et certains types des oiseaux, celle-ci peuvent inclure essentiellement le tissu musculaire puis le tissu adipeux et quelques organes internes (*Belitz et al., 2009*).

### 2. Races ovines algérienne

L'élevage ovin algérien est en priorité destiné à la production de viande rouge, il est le principal fournisseur de viande rouge en Algérie. Les habitudes culinaires et religieuses font que la consommation en viande ovine, par an et par habitant précède celle du bovin (2614092 vs 1321433)Qx (**MADR 2012**).

L'importance de l'élevage ovin en Algérie (2.688.0000 têtes (**MADR 2013**)), réside dans la richesse de ses ressources génétiques. Actuellement, ce cheptel est constitué d'au moins 9 «races» (OuledDjellal, Rembi, Hamra, Berbère, Barbarine, D'Man, Sidaou, Tâadmit, Tazegzawt) présentant diverses caractéristiques de résistance, de prolificité, de productivité de viande, de lait et de laine ainsi qu'une bonne adaptabilité en milieu aride ; steppique et saharien.

La race Ouled-Djellal représente la race typique de la steppe et des hautes plaines. Son effectif total est d'environ 12 millions de têtes, représente 63% de l'effectif ovin total (**ANGR, 2003**). Les performances de reproduction ne sont pas supérieures à celles des autres races algériennes, cependant, la rusticité dans les différentes conditions et la productivité pondérale de cette race expliquent sa rapide diffusion sur l'ensemble du pays sauf dans le sud, où elle tend à remplacer certaines races dans leur propre berceau, c'est le cas de la race Hamra.

### 3. Phase de la transformation du muscle en viande après abattage

La viande est le produit de transformation du muscle après la mort de l'animal, donc c'est le résultat de l'évolution post mortem du tissu musculaire squelettique (ou strié) et du tissu

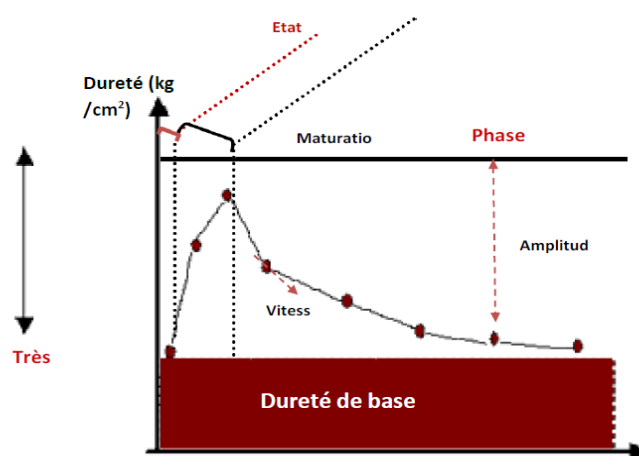
adipeux. Après l'abattage, le muscle est souple et extensible, il est le siège de nombreuses réactions biochimiques. Il est considéré généralement que l'évolution de la viande passe par trois phases successives : l'état pantelant, la phase de rigidité cadavérique et la phase de maturation, c'est à ce stade que la viande peut être consommée (Salifou et al., 2013).

### 3.1. Etat pantelant

Selon Ouali (1991), juste après l'abattage, l'animal se trouve dans un état pantelant, ce dernier se traduit par des contractions persistantes de la musculature probablement causées par des excitations nerveuses. Sa durée est liée à la durée de survie du système nerveux et n'excède pas 20 à 30 minutes. Son installation survient entre 2 à 4 heures après la mort et dure de 24 à 48 heures après l'abattage. Les muscles deviennent progressivement raides et inextensibles.

### 3.2. Etat rigide

Le terme *Rigormortis* vient du latin et signifie la rigidité de la mort, l'évolution temporelle de la *rigormortis* est liée aux modifications du métabolite dans le muscle et son achèvement correspond au point d'épuisement de l'adénosine triphosphate (ATP) (Greaseret Guo, 2012). Sur le plan biochimique l'arrêt de la circulation sanguine traduit par un arrêt de l'apport d'oxygène et de substrat énergétiques exogènes tels que le glucose, les acides amines et les acides, ce qui provoque une diminution très rapide du pouvoir d'oxydation cellulaire et les réactions anaérobiques (glycolyse) persistent. L'acidification progressive du muscle résultant de la transformation du glycogène en acide lactique sera associée avec un durcissement de ce dernier (Figure 3) (Dognon et al., 2018).



**Figure 1.** Evolution de la dureté du muscle *post mortem* au cours du temps (Ouali, 1991).

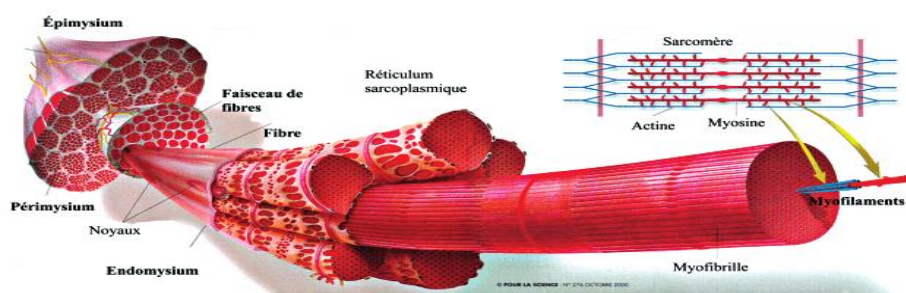
### 3.3. Etat mûri

Selon **Sentandreu et al. (2002)**, la plupart des changements dans la texture de la viande *post-rigor* résultent principalement d'un affaiblissement de la structure myofibrillaire. La concentration en collagène et son degré de réticulation. C'est une phase qui diffère en longueur par les conditions de refroidissement, de l'animal et de son espèce. Une tendresse optimale peut donc être atteinte en quelques heures dans les muscles de poitrines de poulet et de dinde, mais le même processus nécessiterait jusqu'à 4-6 jours dans les muscles du porc et de l'agneau, et 10-15 jours chez les muscles de bovins. Une des causes possibles de cette variabilité pourrait être la différence de teneur en enzyme et plus probablement dans le rapport enzyme / inhibiteur, un paramètre reflétant l'efficacité des systèmes protéolytiques (**Goll et al., 1989**).

## 4. Structure de la viande

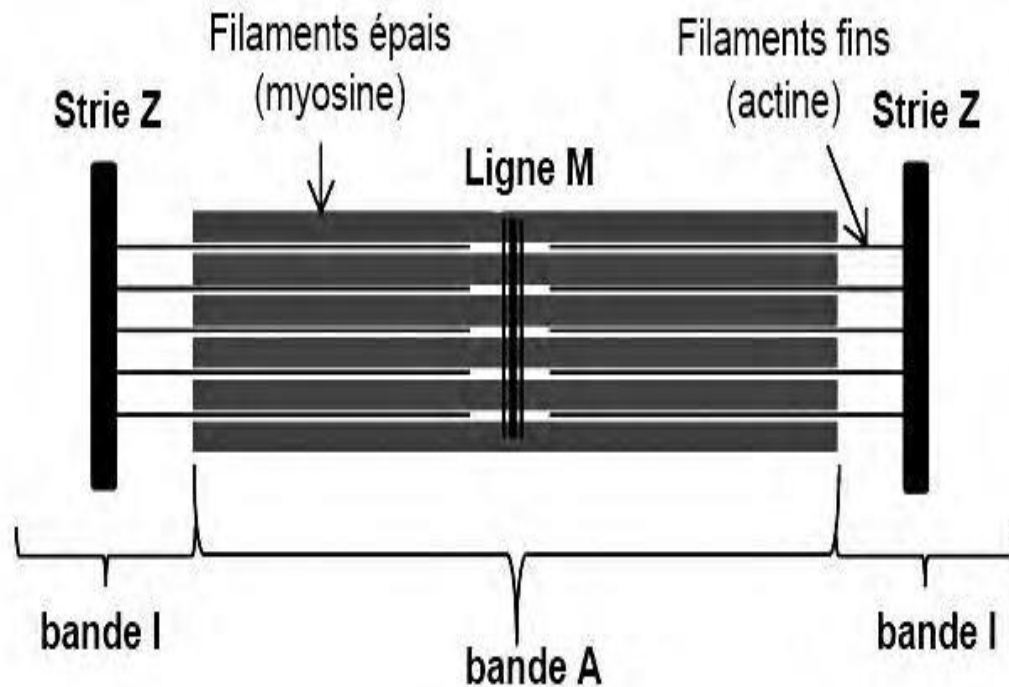
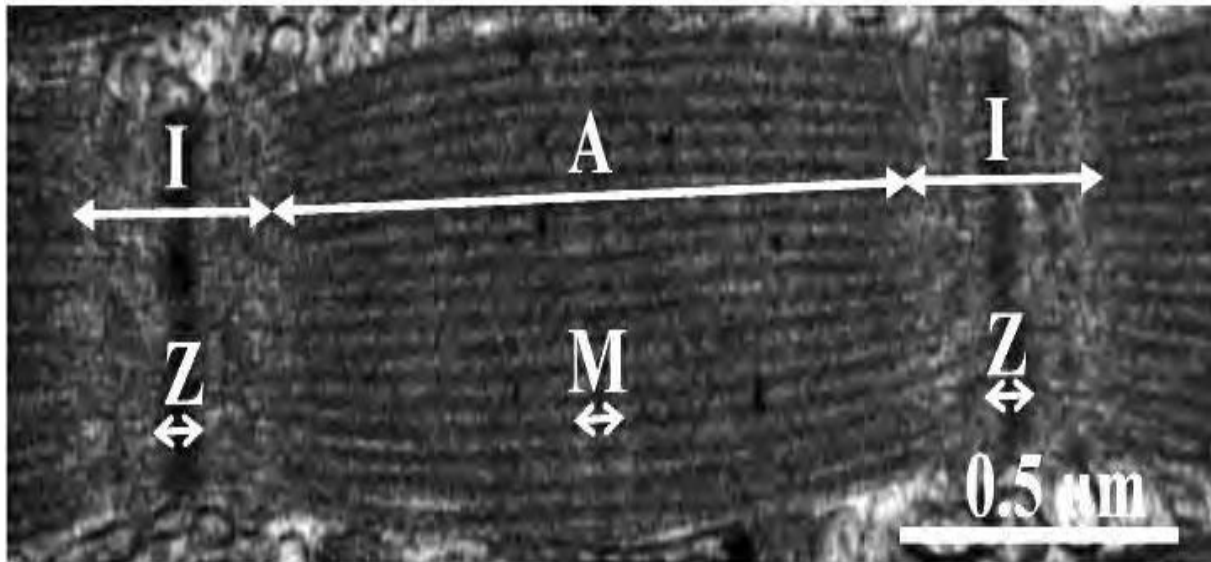
D'après **Listrat et al. (2015)**, sur le plan structural le muscle squelettique est composé de plusieurs milliers de fibres musculaires groupées parallèlement en faisceaux. L'enveloppe qui soutient et protège le tissu musculaire est formée par du tissu conjonctif. Il est distingué ainsi, du centre du muscle vers la périphérie, l'endomysium qui enveloppe chaque fibre musculaire, le périmysium organise de 10 à 100 fibres musculaires en faisceaux et l'épimysium, qui est la couche externe enveloppe tout le muscle, comme le montre la (**Figure 2**).

Le muscle squelettique contient également du tissu adipeux, des tissus vasculaires et nerveux à un niveau moins important. Les myofibrilles occupent presque la totalité du volume intracellulaire au niveau des fibres, L'unité contractile de la fibre musculaire est le sarcomère.



**Figure 2** .Organisation générale du muscle (**Bénédicte et al.,2015**).

La Structure d'un sarcomère est la plus petite unité contractile du muscle, elle est délimitée par les stries Z. On observe dans la (**Figure 3**) que la bande A (pour Anisotrope) est composée de filaments fins et épais et que la bande I (Isotrope) ne contient que des filaments fins. La myosine et l'actine sont les protéines les plus abondantes parmi les protéines constituantes du sarcomère.



**Figure 3.** Structure d'un sarcomère observé en microscopie électronique (en haut) et schématisé (en bas) (Listrat *et al.*, 2015).

## 5. Composition et valeur nutritionnelle de la viande

La composition du muscle est variable entre les animaux et chez un même animal d'un muscle à l'autre. Mais il y a une composition moyenne qui est retenue indiquée dans le **Tableau 01**(*Coibion, 2008*).

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

Composants	Moyennes (%)
Eau	75
Protéines	15.5
Lipides	3
Substances azotées non protéique	1.5
Glucides et catabolites	1
Minéraux	1

## 6. Qualités de la viande rouge

La notion de qualité de la viande est une notion complexe à définir. Pour le consommateur, la qualité d'une viande sera traduite par sa couleur, sa tendreté, sa jutosité et sa saveur.

Ainsi, pour répondre aux attentes des consommateurs, les industriels doivent s'inscrire dans une démarche de qualité qui englobe toute la chaîne de production

### 6.1. Qualités sensorielles de la viande

Les principales caractéristiques sensorielles de la viande sont: la couleur, la tendreté, la jutosité et la flaveur (*Grunertetal., 2004*).

#### a. Couleur

La couleur est la première caractéristique perçue par le consommateur. C'est souvent la seule dont il dispose pour choisir la viande au moment de l'achat. Car la couleur de la viande influence les décisions d'achat plus que tout autre facteur de qualité. De plus, les consommateurs utilisent à tort ou à raison la décoloration comme un indicateur de la nature et de la détérioration éventuelle de la qualité du produit (*Smith et al., 2000*). La couleur rouge de la viande lui est conférée par un pigment musculaire, la myoglobine, dont le rôle est de capter l'oxygène véhiculé par l'hémoglobine sanguine et de le transporter dans le muscle (*Monin, 1991*).

**b-flaveur**

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

**c- Jutosité**

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

La jutosité varie avec le pouvoir de rétention d'eau (PRE) de la viande, les pertes à la cuisson et la présence de lipides. Aussi le pH est déterminant pour la jutosité, car il affecte la structure musculaire. Une viande à pH très bas a tendance à perdre son eau (viande exsudative à l'œil) et à être sèche en bouche et les viandes à pH élevé ont une très bonne rétention d'eau et présentent une jutosité supérieure (Coibion, 2008).

**d-Tendreté**

La tendreté correspond à une somme de sensations perçues lors de la mastication de la viande et désigne la facilité avec laquelle celle-ci se laisse trancher ou mastiquer. À l'inverse, la dureté désigne la résistance que la viande présente au tranchage ou à la mastication. La tendreté est influencée par différents facteurs et elle dépend de deux composantes protéiques structurales.

La première correspond aux myofibrilles, plus particulièrement aux protéines constitutives des myofibrilles et aux différentes protéines qui leur sont associées et qui en assurent l'intégrité structurale. Les myofibrilles jouent un rôle important après l'abattage, au cours de la transformation du muscle en viande (phase de maturation de la viande), car c'est leur évolution qui est à l'origine de l'attendrissage de la viande. En effet, la protéolyse ménagée qui a lieu après la mort de l'animal favorisera la fragilisation de la structure myofibrillaire sous l'action de différents systèmes protéolytiques. La seconde composante musculaire correspond au tissu conjonctif et plus précisément le collagène qui est la protéine la plus abondante de la

matrice extracellulaire (MEC). Elle représente, selon le muscle, jusqu'à 15% de la matière sèche (*Evrat- Georgel, 2008*).

## 6.2. Qualité technologique

L'objectivisation de la qualité technologique de la viande est un enjeu important pour la définition des besoins des transformateurs vers l'amont de la filière mais aussi pour l'orientation des viandes vers les transformations les mieux adaptées.

### a. Capacité de rétention d'eau

Indiquée communément avec le terme anglais Water Holding Capacity ou avec le sigle WHC elle dépend de l'humidité libre (qui constitue plus du 95% du contenu hydrique total du muscle) c'est-à-dire celle non liée chimiquement aux protéines, mais plutôt retenue physiquement par elles, en relation de continuité avec celle liée chimiquement. Une basse capacité de rétention d'eau signifie une plus grande quantité d'eau expulsée pendant la mastication, donc une plus grande jutosité (*Gaddini, 2000*), et est corrélée positivement avec la tendreté (*Gigli et al., 1994*).

### b. pH

Le pH est déterminé à l'abattage (pH0) et après 24 heures (pH24), il est le premier indicateur de la qualité de la viande et nous permet d'évaluer la potentialité du muscle animal à devenir de la bonne viande ; ce paramètre donne même une mesure de l'aptitude à la conservation de tel aliment : en effet des basses valeurs de pH limitent la croissance microbienne et préviennent par conséquent des possibles altérations (*Dell'Orto et al., 2000*).

Pour avoir une viande de bonne qualité, le pH doit diminuer, après l'abattage, pour l'augmentation dans le muscle de l'acide lactique, provoqué par la glycolyse post mortem du glycogène : cette chute doit être graduelle parce que, si elle fut trop rapide, on vérifierait la dénaturation des protéines et la chute de la capacité de rétention d'eau (*Lanza et al., 1990*).

Le pH est modifié même par les modalités de conservation : la congélation détermine une diminution de pH par rapport à la simple réfrigération (*Moore et al., 1998*).

## 6. 3. Qualité hygiénique

L'aliment doit garantir une totale innocuité et de ce fait préserver la santé du consommateur. De ce fait, il ne doit contenir aucun résidu toxique, aucun parasite, ni être le siège d'un développement bactérien susceptible de produire des éléments nocifs.

La contamination est due au fait que l'essentiel des germes est apporté au cours de l'abattage et au cours de la préparation des carcasses. Certains germes pathogènes, saprophytes du tube

digestif peuvent contaminer les muscles, d'où la nécessité de l'éviscération précoce et des mesures limitant le stress d'abattage qui favorise ce passage.

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

## 7. Facteurs influençant la qualité de la viande :

### a. Dépôt adipeux

Les lipides influent sur les qualités organoleptiques de la viande, ce qui gêne à étudier chacune indépendamment pour le même paramètre qui est le dépôt adipeux.

### b. Age

Les phases d'évolution des caractéristiques des carcasses des vaches en fonction de leur âge à l'abattage sont relativement identiques qu'elle soit la race : de 3 à 6 ans, les poids des carcasses augmentent alors que la conformation et l'état d'engraissement sont relativement stables (*Bauchart et al., 2002*).

Au cours de la croissance et du vieillissement, la structure et la composition des muscles évoluent en augmentant la dureté, l'intensité de la saveur et de la couleur, variable selon les muscles, en fonction de leur position anatomique et de leur physiologiques (*pierre et al., 2002*).

### c. Génétique

**Geay et Renard en 1994**, et au cours de différentes études ont démontré que la génétique était partie responsable de ce dépôt adipeux et des qualités organoleptiques qui en découlent.

Les dépôts adipeux visibles peuvent être intramusculaires et leurs proportions varient non seulement entre les races, mais aussi au sein d'une même race. En effet, à même conditions d'élevage, il existe une grande variabilité entre animaux.

Généralement, on retrouve à un extrême les races de viande britanniques, caractérisées par les viandes les plus grasses, qui s'opposent aux races culardes aux viandes particulièrement maigres. Les races à viande continentales et les races mixtes se situent entre ces deux extrêmes. Il est à noter que les races mixtes sont plus grasses que les races à viande continentales. (**Gandemer et al., 1996**).

Une variabilité génétique intrarace élevée pour l'adiposité des carcasses et pour la teneur en muscles en lipides. Par ailleurs, des animaux de différentes races élevés ou engraisés dans

des conditions identiques présentent des différences significatives de poids et de composition de carcasse. Cependant, peu de différences marquées se retrouvent au niveau des caractéristiques des muscles de ces animaux. (Geay *et al.*, 1994).

#### **d. Alimentation**

L'alimentation se diffère d'un type d'élevage à un autre et même d'une exploitation à une autre selon la nature des ressources alimentaires disponibles, la région, et aussi selon la saison. Dont les aliments doivent apporter aux animaux les composants utiles à leurs fonctions vitales et leur croissance ; ce sont les nutriments : l'eau, les glucides, les protéides, les lipides, les minéraux et les vitamines.

### **8. Détermination de la couleur de la viande**

Au moment de l'achat, le consommateur, en général, anticipe la dépense qu'il est prêt à engager pour le produit dont la viande d'après sa couleur. Cependant, il tient aussi de la fraîcheur, évaluée en fonction de l'humidité de surface et de la quantité de graisse dans le produit (Mancini et Hunt, 2005).

La couleur de la viande est déterminée par la quantité de myoglobine. Lorsque l'animal atteint l'âge adulte, la concentration de myoglobine augmente et la chair devient rouge. La couleur peut être classée subjectivement par comparaison avec une grille de cartes de couleur, mais peut également être mesurée objectivement et de façon reproductible par colorimétrie avec des spectrophotomètres.(Albertiet *al.*, 2017).

Enfin, quelques millimètres sous la surface, là où les pressions partielles en oxygène sont faibles, mais pas nulles, se trouvent une troisième forme du pigment : la myoglobine oxydée, encore appelée metmyoglobine (MetMb), dont la couleur brune est peu attractive (Moëvi,2006).

#### **8.1. Problèmes de couleur liés au pH**

Plusieurs types de problèmes peuvent se rencontrer, liés à la vitesse de chute du pH ou au pH atteint en finale dans la viande : le pH ultime. Dans certaines conditions, la chute du pH peut être hétérogène au sein du muscle et conduire à l'apparition momentanée d'une double coloration de viande. Ce phénomène est connu sous le nom de « heat ring », ce qui signifie «anneau de chaleur ». Il apparaît suite à une réfrigération rapide des carcasses et se caractérise par une zone sombre en périphérie de certains muscles. La coloration spécifique de cette zone provient d'un pH plus élevé qu'à cœur du muscle. Les problèmes de couleur relatifs au pH

ultime concernent les viandes insuffisamment acidifiées, à pH élevé, appelées viandes à coupe sombre ou encore viandes D.F.D. : sombres, fermes, sèches (de l'Anglais « Dark, Firm, Dry») (Moëvi, 2006).

## 9. Méthodes de conservation de la viande

La conservation de la viande est devenue essentielle pour le transport de la viande pour longues distances sans altérer la texture, la couleur et la valeur nutritive après le développement et la croissance rapide des supermarchés (Nychaset *al.*, 2008). Les viandes sont des denrées très périssables ; leur production industrielle n'est envisageable que si elle est associée à des méthodes de conservation fiables et de durée convenable. La conservation est le procédé de traiter et manipuler les nourritures d'une manière telle qu'elle arrête ou ralentit la croissance des bactéries, champignons et autres microorganismes ainsi que de retarder l'oxydation des graisses qui provoque le rancissement.

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

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

### 9.1. Réfrigération

C'est le développement progressif de la chaîne du froid qui a donné à l'industrie de la viande son ampleur actuelle. Elle consiste à abaisser la température de la viande à une température légèrement supérieure à son point de congélation ( $-0.4^{\circ}\text{C}$  pour les carcasses).

Il est employé par deux méthodes : refroidissement par immersion, dans lequel le produit est plongé dans un liquide de refroidissement ( $4^{\circ}\text{C}$ ) et refroidissement de l'air, dans lequel les carcasses sont vaporisées d'eau dans une pièce avec circulation d'air frais (Carroll *etal.*, 2008).

La durée de la réfrigération de la viande est influencée par les espèces d'origine, la charge microbienne initiale, l'emballage et la température ainsi que le taux d'humidité pendant le stockage. Le porc et la volaille commencent par une charge microbienne comparativement

élevée. Indépendamment des espèces d'origine, un soin maximum doit être pris lors de la manipulation de la viande afin de vérifier la contamination microbienne supplémentaire. La température de réfrigération favorise la croissance des organismes psychrophiles responsables de la détérioration de la viande en temps voulu (Mahendra, 2018).

Généralement, la viande fraîche reste en bon état pendant une période de 5 à 7 jours si elle est conservée à une température de réfrigération de  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ . Raccourcissement à froid et le durcissement peut résulter du refroidissement ultrarapide de la viande pré-rigor (Ockerman et al., 2004). Il est souligné que la viande transformée doit être stockée sous condition réfrigérée jusqu'à ce qu'elle soit finalement consommée. La viande bien conservée a une durée de conservation améliorée par rapport à la viande fraîche (Mahendra Pal, 2018).

### 9.1.1. Objectifs

Les objectifs de la conservation de la viande par le froid sont multiples dont : Contrôler les infections d'origine alimentaire et les intoxications ; Assurer la sécurité des aliments des microbes ; Empêcher la détérioration des aliments ; Prolonger la durée de vie des aliments ; Améliorer la qualité de conservation des aliments et réduire les pertes financière (Pal, 2014).

### 9.1.2. Incidences microbiologiques du stockage de la viande

Pratiquement seules les germes superficiels peuvent évoluer (Chougui, 2015).

#### 9.1.2.1 Germes d'altération

La croissance des germes psychrophiles aérobies Grams négatifs responsables d'altérations (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Staphylococcus*...) des viandes est en général ralentie entre 0 et  $4^\circ\text{C}$  et des  $A_w$  inférieur à 0.96.

**Tableau 2.** Germes d'altération de la viande (Chougui, 2015).

Types d'altération	Bactéries	Mécanismes
<b>Putréfaction profonde</b>	<i>Clostridium perfringens</i>	Protéolyse
<b>Putréfaction superficielle</b>	<i>Pseudomonas</i> ; <i>Acinetobacter</i>	Protéolyse
<b>Production d'odeurs: acide fromage soufrée</b>	Bactérie lactiques ; <i>Brochotrixthermosphacta</i> <i>S.liquefaciens</i> / ; <i>Alteromonas</i>	Glucidolyse AG volatils AA soufrés
<b>Altération de couleur Verdissement</b>	<i>Pseudomonas</i> ; <i>Brochotrix</i> <i>Thermosphacta</i> ; <i>Lactobacilles</i>	Production H <sub>2</sub> S Production H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

**9.1.2.2 Germes pathogènes**

La réfrigération limite l'activité des germes susceptibles de provoquer des intoxications alimentaires. Leur multiplication s'effectue surtout au voisinage de 37°C.

**Tableau 3.** Germes pathogènes de la viande (Chougui, 2015)

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

L'arrêt de la croissance des microorganismes est observé :

- Pour les germes pathogènes vers 7°C (3°C pour *Clostridium botulinum*E)
- Pour l'ensemble des bactéries vers -8°C, pour les levures vers -10°C
- Pour les moisissures vers -12°C

**9.1.3. Influence des paramètres de réfrigération (température, vitesse de réfrigération)**

Pendant le refroidissement il y a un échange de chaleur entre une ambiance froide et le produit.

Si la teneur en eau de l'environnement et de surface du produit n'est pas en équilibre, il se produira aussi un transfert de masse à l'interface provoquant une dessiccation en surface, des changements de poids dus à l'évaporation, migration de l'eau dans le produit.

La viande chaude dans une ambiance froide va donc perdre à la fois de la chaleur et de la vapeur d'eau. La température de la viande va ainsi baisser progressivement et sa masse va diminuer avec le temps jusqu'à obtention d'un équilibre.

La vitesse de refroidissement est très variable selon les conditions appliquées (température de l'air, vitesse de l'air, humidité relative, durée) et selon les caractères du produit (composition en matière grasse, géométrie, dimension, épaisseur). Le refroidissement est d'autant plus rapide que la température est plus basse et la vitesse de l'air est plus grande (**Chougui Nadia 2015**).

#### ***9.1.3.1. Température de stockage en réfrigération***

Les altérations que la viande va subir après la mort dépendront du niveau de la température. La température a un effet sélectif: le type de bactérie se développant sur la viande est différent selon la température de stockage **Chougui Nadia 2015**.

#### ***9.1.3.2. Vitesse de réfrigération***

Une carcasse chaude (35-40°C) introduit dans une chambre à -1°C se refroidit rapidement en surface. Il faudrait 2 h30 à 3 h pour qu'une épaisseur de ½ cm atteigne une température de 0°C.

Le refroidissement en profondeur est beaucoup lent. Pour atteindre une température de 5°C, il faudrait 60 h en réfrigération lente et 24 h en réfrigération rapide. Cette durée peut être réduite jusqu'à 8 h mais avec risque de congélation de la surface de la carcasse. Plus la vitesse de refroidissement est rapide plus le temps de conservation est plus long (**Chougui, 2015**).

#### **9.1.4. Influence sur la flore superficielle de contamination**

La vitesse de réfrigération et la vitesse de l'air conditionnent la dessiccation de la viande. Il a été montré que la vitesse de dessiccation est un facteur aussi important que la vitesse de refroidissement dans la limitation du développement microbien.

Pour obtenir un meilleur résultat, il est préférable que la dessiccation des tissus superficiels se produise au moins pendant les premières 24 h de réfrigération (plus la vitesse de l'air est rapide plus la teneur en eau de la viande est faible et plus le développement microbien est réduit).

Pour réduire les pertes d'eau il faut maintenir une humidité élevée dans les chambres de réfrigération (80-95 %) et de préférence augmenter la vitesse de refroidissement en début de refroidissement, pendant un temps réduit, puis diminuer la vitesse une fois la température de surface atteint une température basse **Chougui Nadia 2015**.

### 9.1.5. Influence sur les germes anaérobies profonds

Pendant les 10 premières heures *post-mortem*, les éventuels contaminants anaérobies profonds ne peuvent se multiplier en raison de la réserve en oxygène. Quand celui-ci est épuisé, la prolifération microbienne des anaérobies commence si la carcasse n'a pas refroidi rapidement (Chougui, 2015).

### 9.1.6. Techniques de réfrigération

#### Cas de grosses carcasses

- **Réfrigération lente** : Procédé traditionnel de refroidissement à l'air ambiant à une température voisine de 15°C.
- **Refroidissement rapide** : Dans une chambre moderne de réfrigération avec circulation forcée d'air à des températures voisines de 5°C ; c'est la technique la plus utilisée actuellement (Chougui Nadia 2015).

## 9.2. Congélation

La congélation est une méthode idéale pour conserver les caractéristiques d'origine de viande fraîche. Elle consiste à abaisser suffisamment la température du produit de façon à transformer une grande partie de son eau en glace et à maintenir cet état pendant toute la durée de la conservation.

La viande contient environ 50-75% en poids d'eau, selon l'espèce, et le processus de congélation convertit la majeure partie de l'eau en glace (Heinz et al., 2007). Elle arrête la charge microbienne et retarde l'action des enzymes (Mahendra, 2018).

L'avantage le plus important de la congélation est la rétention de la plupart des valeurs nutritives de la viande pendant le stockage, avec une très faible perte de nutriments présents dans le goutte-à-goutte au cours du processus de décongélation. C'est important d'emballer la viande fraîche dans un film d'emballage approprié avant de congeler autrement la viande subit une brûlure par congélation. Cette condition anormale se produit en raison de déshydratation progressive de la surface entraînant la concentration des pigments de la viande sur la surface (Mahendra, 2018).

La qualité de la viande congelée est également influencée par son taux de congélation. Dans la congélation lente, il y a formation de gros cristaux de glace, ce qui peut causer des dommages physiques aux tissus musculaires, ce qui lui donne un aspect déformé. En congélation rapide, de nombreux petits cristaux de glace sont formés uniformément dans tout le tissu de la viande. Le taux de congélation est augmenté avec des baisses de température, près de 98% de l'eau gèle à -20 °C et la formation complète de cristaux se produit à 65 °C (Rosmini et al., 2004).

Ainsi, le problème du rétrécissement de la fibre musculaire et de l'apparence distendue n'est pas présent dans le tissu de la viande. Les pertes par égouttement pendant la décongélation sont considérablement basses que l'eau gèle dans la fibre musculaire elle-même, nombreuses petites glaces cristaux à la surface de la viande surgelée sont également importants ; ils donnent une couleur claire désirable comparée à la viande congelée lente (**Mahendra, 2018**). La croissance microbienne s'arrête à -12 °C et l'inhibition totale du métabolisme cellulaire dans les tissus animaux s'opère à des températures inférieure à - 18 °C (**Perez-Chabela et al.,2004**). Cependant, les réactions enzymatiques, le rancissement oxydatif et la cristallisation de la glace joue un rôle important dans la détérioration de la viande (**Zhou et al., 2010**). Pendant la congélation, environ 60% de la population microbienne viable meurt, mais la population restante peut augmenter progressivement pendant la congélation (**Mahendra, 2018**).

### 9.2.1. Influence de la congélation sur les microorganismes

#### 9.2.1.1. Action du procédé de congélation

La congélation empêche les microorganismes (bactéries, champignons microscopiques) de se multiplier.

La congélation agit sur la flore microbienne de plusieurs manières : abaisse la température (réduit la vitesse de multiplication), transforme l'eau en glace (réduit l'Aw), altère la structure ou le métabolisme des germes (lésions des membranes et dénaturation des protéines par les cristaux d'eau) (**Chougui, 2015**).

#### a. Influence de la température de congélation

Les températures de congélation élevées sont plus létales que les basses températures (de -4°C à -10°C), un plus grand nombre de microorganismes sont inactivés jusqu'à -15°C, et à -30°C l'inactivation est nulle. La survivance des Salmonelles sur le poulet est plus grande à -20°C qu'à -2°C. Il semble qu'aux températures de congélation élevées un grand nombre de protéines (enzymes) sont détruites. La vitesse de destruction des germes est rapide aux hautes températures et lente à basse température d'où l'utilisation de la conservation des souches de bactéries à très basse température (**Chougui, 2015**).

#### b. Influence de la vitesse de congélation

La congélation très lente (0,05°C/min) favorise la formation de gros cristaux de glace de ce fait elle a un effet plus néfaste que la congélation rapide (1 à 10°C/min) sur les pertes d'eau lors de la décongélation (augmentation de la concentration des cellules en soluté) et sur la

survie des bactéries. Cet effet est plus marqué dans les premières minutes de la descente en température.

C'est pourquoi la congélation ultra rapide est utilisée pour la conservation des germes car la pénétration rapide du froid maintient l'eau sous forme de cristaux de tailles très fines.

De plus certains constituants de la viande ont un effet protecteur vis-à-vis de l'action létale de la congélation (NaCl, glycérol, glucose..).

La congélation rapide préserve mieux l'intégrité des tissus de la viande et même celle des microorganismes (**Chougui, 2015**).

#### **9.2.1.2. Action du stockage en congélation**

La destruction des microorganismes est d'autant plus importante que le stockage est long. La destruction des germes est graduelle, touchant plus les cellules les plus sensibles. Les plus résistantes persistent et survivent à la congélation le long de la durée de stockage (**Chougui, 2015**).

### **9.3. Produits chimiques**

La congélation est le meilleur moyen de préserver la carcasse, la viande et les produits à base de viande pendant plus longtemps, ce qui inhibe la croissance bactérienne, mais pas les psychrophiles et les spores. La plupart de ceux-ci survivent à la congélation et se développent pendant la décongélation (**Neumeyer et al., 1997**).

Ils existent des produits chimiques ont été utilisés comme additifs alimentaires pour la conservation de la viande, mais chaque pays a établi ses règles et règlements et des limites afin de prévenir les effets nocifs pour l'homme (**Cassens, 1994**). La conservation par congélation ne peut pas empêcher l'oxydation et l'altération microbienne et enzymatique (**Jay et al., 2005**).

Les conservateurs antimicrobiens sont des substances qui sont utilisées pour prolonger la durée de conservation de viande en réduisant la prolifération microbienne lors de l'abattage, transport, traitement et stockage (**Rahman, 1999**). Les composés antimicrobiens ajoutés durant le traitement ne doivent pas être utilisés comme un substitut à de mauvaises conditions de traitement ou de couvrir un produit déjà gâté (**Ray, 2004**). Ils offrent une bonne protection pour la viande en combinaison avec la réfrigération (**Cassens, 1994**).

Plusieurs acides organiques ont généralement été reconnus comme sûrs. L'acide benzoïque, l'acide citrique, l'acide propionique, l'acide sorbique et leurs sels sont des inhibiteurs de moisissures efficaces. L'acide acétique et l'acide lactique empêchent la croissance bactérienne

alors que le sorbate et l'acétate sont capables d'arrêter la croissance des levures dans l'aliment. L'acide ascorbique (vitamine C), l'ascorbate de sodium et le D-isoascorbate (érythorbate) ont été utilisés comme des conservateurs de la viande. Leurs propriétés antioxydantes peuvent oxyder les espèces réactives d'oxygène produisant de l'eau. L'acide ascorbique a montré une bonne aptitude à améliorer l'activité antimicrobienne des sulfites et des nitrites (Mahendra, 2018).

#### 9.4. Utilisation des antioxydants dans la viande

L'utilisation d'antioxydants est une action primordiale de l'industrie de la viande augmenté la durée de conservation de leurs produits (Lorenzo et al., 2018).

En raison des effets toxiques potentiels des antioxydants synthétiques, les sources naturelles d'antioxydants, en particulier les fruits, sont actuellement préférés pour une utilisation dans différents produits carnés.

Les antioxydants naturels sont généralement classés comme composés phénoliques tels que les flavonoïdes et l'acide phénolique, les vitamines et les composés volatils trouvés dans différents fruits, plantes, herbes et épices.

Plusieurs types d'antioxydants d'origine végétale ont été étudiés, notamment des extraits de pépins de raisin, de sauge, de thym, de son de riz, de pivoine blanche, de pivoine rouge, de saphir, de pivoine de Moutan, de Rehmania ou d'angélique, de carex, de marjolaine, de marjolaine sauvage, de carvi, d'extrait de basilic, de gingembre, de concentrés de prunes, d'aloevera, de moutarde, de catéchines de thé et d'extrait de romarin. (Namiki, 1990; El-Alim et al., 1999; Han and Rhee, 2004; Fiorentino et al., 2008; Nunez et al., 2008).

Les composants actifs des antioxydants naturels dérivés des plantes sont des composés polyphénoliques. Les antioxydants les plus efficaces sont ceux qui contiennent deux groupes hydroxyle phénoliques ou plus (Dziedzic et Hudson, 1984; Shahidi et al., 1992). Les composés phénoliques végétaux peuvent agir comme agents réducteurs, (Ahmed eyal., 2013); chélatant les métaux de transition et piégeant les radicaux libres et réactifs espèces (Augustyniak et al., 2010) en empêchant l'activité microbienne.

## 10. Impact de la conservation sur la qualité de la viande

### 10.1. Flore bactérienne des viandes

Il est distingué deux différents groupes de germes microbiens présents au niveau de la viande, selon leurs effets au niveau du produit ou du consommateur (Nkolo, 2007) :

- la flore bactérienne saprophyte ;
- et la flore bactérienne pathogène.

### 10.1.1. Flore bactérienne saprophyte

Selon **Belco et al. (2017)**, il y'a une grande possibilité que les germes saprophyte sont transférés lors des différentes étapes de l'abattage comme le dépouillement et l'éviscération, provoquant la putréfaction par sa présence massive, dont *Pseudomonas* et *Acinetobacteren* font parties.

### 10.1.2. Flore bactérienne pathogène

La viande peut être contaminée par des germes pathogènes et pouvant provoquer des Toxi-infections et d'autres maladies infectieuses. Parmi ces pathogènes sont souvent cités : *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens* et *Bacillus cereus* (**Figure 4**) (**Belco et al., 2017**).

## 10.2. Altérations de la viande

Selon **Bouillet et al. (1982)**, la maturation comme étant un processus complexe entraîne la perte de toute résistance organisée aux facteurs d'altération et s'accompagne presque inévitablement de l'action toujours néfaste des microorganismes.

Vu la richesse de la viande en éléments biochimiques fermentescibles, elle devient l'aliment le plus périssables. Le froid à un effet bénéfique sur la qualité hygiénique néanmoins il a un effet préjudiciable sur l'évolution de sa qualité organoleptique (coloration due à l'oxydation, acidité, goût désagréable).

## 11. Désinfection par UV

Dans l'industrie alimentaire, il est très important de maintenir des niveaux maximaux d'hygiène et de sécurité contre les germes qui peuvent endommager les produits. La législation devient de plus en plus sévère, mais les bactéries, les champignons et les levures ont tendance à croître dans tous les coins.

La stérilisation par rayonnement ultraviolet est une méthode de stérilisation reposant sur la sensibilité des microorganismes à l'exposition aux basses longueurs d'onde des ultraviolets.

Cette méthode est utilisée dans les laboratoires de recherche pour préparer les plans de travail stériles, pour la conservation des aliments, ou encore la purification de l'air ou l'eau. Les ultraviolets sont connus pour leur caractère mutagène depuis le début du XXe siècle.

L'utilisation des basses longueurs d'onde des ultraviolets affecte l'intégrité des génomes des organismes exposés par l'accumulation de dommages tels que l'apparition de dimères de pyrimidines. L'accumulation de ces dommages conduit à la mort des organismes exposés.

Contrairement aux méthodes de désinfection de l'eau par les produits chimiques, l'irradiation par lumière UV inactive rapidement et efficacement les microorganismes par un processus physique. Lorsque les bactéries, les virus et les protozoaires sont exposés aux longueurs d'ondes germicides de la lumière UV, ils deviennent incapables de se reproduire et perdent leur pouvoir d'infection.

La lumière UV a démontré son efficacité contre les organismes pathogènes, notamment ceux qui sont responsables du choléra, de la polio, de la typhoïde, de l'hépatite et d'autres maladies d'origine bactérienne, virale et parasitaire. En outre, trojan exploite la lumière UV (seule ou associée au peroxyde d'hydrogène) pour détruire les contaminants chimiques tels que pesticides, solvants industriels et produits pharmaceutiques par un procédé nommé l'oxydation par UV (**Trojan Technologies, 2019**).

**Chapitre II:**  
**Généralités sur le romarin**  
**(*Rosmarinus officinalis* L.)**

## Chapitre II : Aperçu sur *Rosmarinus officinalis* L.

### 1. Généralité

Un grand nombre des plantes, aromatiques, médicinales, épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent plusieurs applications dans divers domaines d'intérêt à savoir : en médecine, pharmacie, cosmétologie et EN agriculture.

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (Mailhebiau, 1994).

### 2. Historique

Le romarin, chargé de symboles chez les anciens qui en faisait des couronnes, a servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat ; à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes (Botineau, 2010). Les médecins arabes utilisaient beaucoup le romarin et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle (Fuinel, 2003).

### 3. Définition

Il appartient à la famille des Lamiaceae, il est très commun dans tous le bassin méditerranéen (Bruneton, 1999). Selon Gonzalez-Trujano *et al.* (2007) le romarin est un petit arbuste aromatique, mesurant environ 0,8- 2m. Ses fleurs sont violettes avec des bouts violet-bleus. Cette plante possède des feuilles touffus, persistantes et qui sont sessiles, opposées, linéaires et coriaces, enroulées sur les bords (Bruneton, 1999 ; Zegura *et al.*,2011). Elle est riche en métabolites actives, et utilisée en médecine traditionnelle (Abutbulet *et al.*,2004). Le romarin ou romarin officinal (*Rosmarinus officinalis* L) est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état sauvage, en particulier dans les garrigues arides et rocailleuses, sur terrains calcaires. On le reconnaît aisément, toute l'année. Ce sont les feuilles, les sommités fleuries, qu'on aura pris le soin de sécher, qui souvent utilisées en phytothérapie. Le romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques (Gianmario *et al.* ,2007), et une action sur le système nerveux (Gonzalez *et al.*, 2007 ; Suzana *et al.* ,2007). Le romarin possède d'excellentes propriétés anti-oxydante et

antimicrobienne (Jones, 1998 ; Thoresen et Hildebrand, 2003). Le romarin, comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, contient des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes.

#### 4. Description

Le romarin est un arbrisseau de la famille des Lamiacées originaire des pourtours de la Méditerranée. Il possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire et une plante mellifère, ainsi qu'un produit fréquemment utilisé en parfumerie. Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur.

Il possède des feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, légèrement enroulés aux bords, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous, avec une odeur très camphrée. Les fleurs varient du bleu pâle au violet (Williams, 1996).



Figure 04. *Rosmarinus officinalis*-L (Quézel et Santa, 1963).

##### 4.1. Autres appellations

De part le monde le romarin est connu sous de nombreuses appellations. En Algérie, Maroc et Tunisie : azir, barkella, haselban, Aklil, ikliljabal, klile (Bellakhdar, 2006). En France : Herbe-aux-courounnes, rosée de mer, rose marine, romarin des troubadours, bouquet de la vierge (Botanica, 2011; Monod, 1978). En Allemagne: Folia Anthos, Folia Rorisarini, Encensier, Rosemary (Angl.), Rosmarin blatter, Krankkraut blatter, Kranzenkraut blatter, Rosmarein (Botanica, 2011; Monod, 1978).

## 4.2. Genre Romarin

Le genre *Rosmarinus* ne regroupe que trois espèces:

- *Rosmarinus Officinalis* l'espèce la plus aromatique et importante,
- *Rosmarinus eriocalix*Jord. &Fourr,
- *Rosmarinus tomentosus*Huber-Morath et Maire, morphologiquement très proche de *R.eriocalyx*(**Bartels, 1997**).

## 5. Systématique botanique de la plante

La systématique botanique est pour un chercheur la carte d'identification de la plante et sans cette dernière, il est très difficile d'entamer un travail de recherche. On peut résumer la systématique botanique de la plante comme suit :

- ✓ Règne : Plantes
- ✓ Embranchement : Spermaphytes
- ✓ Classe : Dicotylédones
- ✓ Ordre : Lamiales (Labiales)
- ✓ Famille : Lamiacées
- ✓ Genre : *Rosmarinus*
- ✓ Espèce : *Rosmarinus officinalis* (**Quezel et Santa, 1963**)

## 6. Propriétés biologiques et pharmacologiques

*Rosmarinus officinalis* a fait l'objet de plusieurs études validant ses effets hépato protecteurs (**Sotelo-Félix et al., 2002**), antibactériens (**Gachkar et al., 2007**), anti-thrombotique (**Yamamoto et al., 2005**), antiulcéreux ( **Dias et al.,2000**), diurétique(**Haloui et al., 2007**), antioxydant (**Bakiral et al., 2008**), anti nociceptique( **González-Trujano et al.,2007**) et anti-inflammatoire (**Altineir et al., 2007**). Les extraits du *Rosmarinus officinalis* L.

Sont utilisés également pour traiter quelques désordres psychologiques comme la dépression (**Heinrich et al., 2006 ; Machado et al., 2009**). Il est également insecticide (**Pavela, 2006; Traboulci et al., 2002; Rozman et al., 2007**),et anti parasitaire(**Moon et al., 2000**).

L'administration de l'huile essentielle de romarin par voie orale et inhalation, stimule l'activité respiratoire et locomotrice du Système nerveux central chez la souris, suggérant une action directe d'un ou plusieurs de ses constituants.

## 7. Répartition géographique

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (**Quezel et Santa, 1963**), le *Rosmarinus officinalis* est originaire du bassin méditerranéen (**Iserin, 2001**). Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (**Schauenberg et Paris, 1977**).

## 8. Récolte du Romarin

De manière générale, la récolte d'une plante (Romarin) est réalisée quand les principes actifs sont à leur maximum. Les feuilles et tiges herbacées sont récoltées lorsque la fleur commence à se développer, 12 à 18 mois après plantation (**Reclu, 2004**). Les feuilles se récoltent toute l'année mais sont plus parfumées au printemps. Il faut donc les cueillir à cette période. La récolte se fait par temps chaud et sec soit deux ou trois heures après le lever du soleil quand la rosée s'est dissipée (**Reclu, 2004 ; Gilly, 2005 et Harding, 2011**).

Quant aux fleurs et sommités fleuries (partie supérieure du végétal), elles sont récoltées au même moment de la journée que les feuilles quand les fleurs commencent à s'épanouir.

L'odeur résidant principalement dans le calice, celui-ci doit être pris délicatement et séché. La récolte des sommités fleuries a lieu au mois de juillet (**Reclu, 2004**). Séchée est passée au crible afin de n'obtenir plus que des feuilles et des fleurs (**Gilly, 2005**). Afin de ne pas abîmer les plantes sauvages, les récoltes seront modestes (**Scherf, 2012**).

Pour le séchage des feuilles et tiges herbacées : étalées sur des châssis de toile à larges mailles ou sur de la paille bien sèche, et séchées dans une pièce exposée aux rayons du soleil. Il faut les brasser régulièrement afin que l'air pénètre uniformément. A conserver dans une pièce non humide (**Reclu, 2004**). Les feuilles séchées sont ensuite séparées des tiges (**Scherf, 2012**).

Fleurs et sommités fleuries sont espacées sur des claies garnies de papier, remuées de temps en temps, dans une pièce ensoleillée ou à l'étuve. Une fois sec, conserver le Romarin environ une année dans des bocaux ou boîtes garnis de papier et bouchés ou en petites bottes enveloppées dans du papier et gardées au sec. (**Reclu, 2004**)

## 9. Ecologie

Le romarin est retrouvé à l'état sauvage. Il peut être cultivé. C'est la plante la plus populaire dans le bassin méditerranéen, en Algérie nous la trouvons dans les jardins, les parcs des sociétés, des écoles et les zones cultivées à l'entrée (**Emberger, 1960**).

Elle se trouve toujours en bordure sous forme d'une bande odorante. Les fleurs bleues s'épanouissent tout au long de l'année ce qui attire de nombreux insectes. Nous pouvons rencontrer le romarin à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques (**Quezel et Medail ,1995**).

## 10. Saveur, arôme et valeur nutritionnelle

Le romarin possède une odeur légèrement camphrée et une saveur piquante et parfumé assez prononcée (**Mini-encyclopédie des aliments, 2008**), il contient plusieurs éléments nutritifs (**Tableau 4**).

**Tableau 04.** Composition des éléments nutritifs de romarin séché (**USDA National NutrientDatabase for Standard Reference, 2011**).

Nutriments	Unité	Valeurs par 100g
Eau	G	9.31
Energie	Kcal	331
Protéines	G	4.88
Lipides totaux	G	15.22
Glucides, par différence	G	64.06
Fibres	G	42.6
Calcium	mg	1.280
Vitamine C	Mg	61.2
Vitamine B6	Mg	1.740
Vitamine B12	Mg	00.00
Acides gras saturés	G	7.371
Acides gras mono saturés	G	3.041
Acides gras polyinsaturés	G	2.339

## 11. Composés phénoliques

### 11.1. Généralité

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes, mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (**Waksmundzka-**

*Hajnos et al., 2011*), allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (*Dai et al., 2010*). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, froid, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (*Visioli et al., 2000*). Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (*Bruneton, 1999*). Ils sont communément subdivisés en acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou dérivés de l'acide cinnamique), coumarines, stilbènes, flavonoïdes, lignanes, lignines, tanins (*Cheyrier, 2005*).

### 11.2. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 05) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées). Ensuite, par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation... etc.). Enfin, par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines... etc.) (*Macheix et al., 2005*).

## 12. Propriétés du Romarin

### 12.1. Activité antibactérienne

Le phénol fut le premier antiseptique et désinfectant largement utilisé pour réduire le risque d'infections durant les interventions chirurgicales. Il agit par dénaturation des protéines et altération des membranes cellulaires des bactéries (*Prescott et al., 2003*). Les flavonoïdes peuvent affecter la croissance et le métabolisme bactérien par inhibition de la synthèse de l'acide nucléique, inhibition des fonctions liées aux membranes cytoplasmiques et du métabolisme énergétique. Des études effectuées par *Rodriguez vaquero et al., (2006)* ont montré l'effet bactéricide de l'acide hydrocynamique sur *Listeria monocytogenes*. Cela est dû à la propriété de la chaîne latérale de l'acide hydrocynamique qui est moins polaire comparée aux autres composés phénoliques et peut ainsi facilement traverser la membrane cellulaire de la bactérie et se lier aux constituants cellulaires perturbant ainsi le métabolisme bactérien. D'autres études sur *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* ont montré que l'acide

coumarique, l'acide cinnamique, l'acide caféique, et l'acide ferulique provoquaient une inhibition à une concentration élevée (10mg.ml<sup>-1</sup>).

Le Romarin a été testé sous différentes formes contre différentes bactéries à Gram positif ou négatif responsables de différents types de pathologies. Depuis que l'imperméabilité de la membrane bactérienne est considérée comme un mécanisme de résistance, il est clair que compromettre cette barrière par sa perméabilisation serait une approche efficace pour la lutte contre la résistance aux antimicrobiens.

L'activité antimicrobienne et la modification de la résistance des constituants du Romarin ont été démontrées. Bien que l'activité antimicrobienne puisse ne pas être d'une importance clinique, l'action de modification de la résistance est intéressante puisqu'il n'existe pas d'agent modifiant la résistance connu dans l'utilisation clinique actuelle (**Oluwatuyiet al.,2004**).

**Tableau 05.** Classification des polyphénols.

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénol simple	Catéchol	
C6-C3	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïques	Épices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamique Coumarines	Acide céféique, acide Férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre, Pomme Citrus
<b>C6-C2-C6</b>	Silènes	Resvératrol	Vigne
<b>C6-C3-C6</b>	Flavonoïdes • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavonones • Isoflavonols	Kamphérol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pommes, raisin Citrus Soja
<b>(C6-C3)2</b>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
<b>(C6-C3)n</b>	Lignines		Bois, noyau de fruits
<b>(C15)n</b>	Tanins Raisin		rouge, kaki

## 12. Propriétés du Romarin

### 12.1. Activité antibactérienne

Le phénol fut le premier antiseptique et désinfectant largement utilisé pour réduire le risque d'infections durant les interventions chirurgicales .Il agit par dénaturation des protéines et altération des membranes cellulaires des bactéries (**Prescott et al.,2003**). Les flavonoïdes peuvent affecter la croissance et le métabolisme bactérien par inhibition de la synthèse de l'acide nucléique, inhibition des fonctions liées aux membranes cytoplasmiques et du métabolisme énergétique. Des études effectuées par **Rodriguez vaquero et al.,(2006)** ont montré l'effet bactéricide de l'acide hydrocynamique sur *Listeria monocytogenes*. Cela est dû à la propriété de la chaîne latérale de l'acide hydrocynamique qui est moins polaire comparée aux autres composés phénoliques et peut ainsi facilement traverser la membrane cellulaire de la bactérie et se lier aux constituants cellulaires perturbant ainsi le métabolisme bactérien. D'autres études sur *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* ont montré que l'acide coumarique, l'acide cinnamique, l'acide caféique, et l'acide ferulique provoquaient une inhibition à une concentration élevée (10mg.ml<sup>-1</sup>).

Le Romarin a été testé sous différentes formes contre différentes bactéries à Gram positif ou négatif responsables de différents types de pathologies. Depuis que l'imperméabilité de la membrane bactérienne est considérée comme un mécanisme de résistance, il est clair que compromettre cette barrière par sa perméabilisation serait une approche efficace pour la lutte contre la résistance aux antimicrobiens.

L'activité antimicrobienne et la modification de la résistance des constituants du Romarin ont été démontrées. Bien que l'activité antimicrobienne puisse ne pas être d'une importance clinique, l'action de modification de la résistance est intéressante puisqu'il n'existe pas d'agent modifiant la résistance connu dans l'utilisation clinique actuelle (**Oluwatuyiet al.,2004**).

### 12.2. Activité antioxydant

L'activité anti-oxydante du Romarin est connue depuis environ 30 années. En raison de ses propriétés anti-oxydantes élevée, le Romarin est largement utilisé en tant qu'épices dont (**Wang et al.,2008**). Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du Romarin comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande (**Balentine et al.,2006**);(**Fernandez-lopez et al.,2005**); (**Sebrotyneket al., 2005**).

### 13. Utilisations du romarin « *Rosmarinus officinalis* »

Le romarin est à la fois une plante ornementale, aromatique et médicinale. Les feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées en tant que condiment et rentrent dans la composition des thés et infusions. *Rosmarinus officinalis* sous forme de feuille séchées ou d'huile essentielle, trouve sa principale utilisation pour la fabrication de produits cosmétiques (parfums, savons, crèmes, tonifiants de cheveux, shampooings et autres préparations). *Rosmarinus officinalis* sert aussi pour produire les antioxydants naturels qui ont plusieurs utilisations dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et en pharmaceutiques. (ChafaiElalaouiet al., 2014).

#### 13.1. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques

Depuis l'antiquité, le romarin est employé pour améliorer et stimuler la mémoire. Encore aujourd'hui, en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens. Le romarin est en effet considéré comme une plante tonique, revigorante, stimulante: autant de vertus que reflète sa saveur aromatique bien particulière. Il agit sur le système nerveux central comme stimulant et pour usage externe, comme cicatrisant. L'infusion des feuilles ont plusieurs actions physiologiques: stimulant générale, cholagogue, antiseptique, diurétique, emménagogue. Le romarin stimule la circulation cérébrale, améliore mémoire. Il soulage également céphalées et migraines. Il favorise la pousse des cheveux en stimulant l'irrigation du cuir chevelu (Iserinetal.,2001).

En Tunisie, les feuilles de *R.officinalis* sont utilisées comme antispasmodiques pour les voies digestive et comme vermifuges. Les feuilles séchées, moulues et mélangées avec de l'huile d'olive sont mises sur la circoncision due à une récente blessure (Okamuraet al.,1994). Les feuilles de la plante sont utilisées généralement comme épices et comme source de composés antioxydants susceptible d'améliorer la conservation des nourritures. La décoction de romarin des feuilles peut être utilisée contre l'eczéma et d'autres maladies cutanées (Altinieret al.,2007).

Le romarin est utilisé dans la médecine traditionnelle pour guérir contre plusieurs maladies parmi lesquelles on a : l'Asthme, Bronchites, Migraines, Artériosclérose, Anémie et convalescence, Congestion et insuffisance hépatiques, frigidité, et pour régulariser et calmer les règles. (Youcef. 1980).

# **Partie 02:**

## **Méthodologie expérimentale**

## 1. Objectifs

L'étude a porté sur la détermination de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus Officinalus.L* sur l'évolution de certains germes responsables de toxi-infections alimentaires et l'impact de son incorporation comme additif naturel sur la qualité microbiologique d'une viande ovine de gigot de race Ouled Djellal issue de pâturage steppique au cours de neuf (09) jours de stockage au froid positif à +4°C.

## 2. Matériel et méthodes

Cette étude a été menée au niveau du laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) sise au site II (ex : INES de chimie) relevant de l'université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

### 2.1. Matériel

#### a. Matériel biologique

Le matériel biologique ayant servi à l'étude a porté :

- 15 morceaux de viande ovine de gigot de 300 g chacun, de race Ouled Djellal issue de pâturage steppique à Bougtob El biadh-Algérie.
- 1.5 kg de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L* récolté au mois de Mars à Naama.
- et les Souches référentielles impliquées dans les toxi-infections alimentaires : *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

#### b. Matériel du laboratoire

Le matériel utilisé dans cette étude a concerné :

- Une étuve de laboratoire ;
- Un rota vapeur ;
- Pompe à vide ;
- Plaque chauffante avec agitation ;
- Spectrophotomètre ;
- Vortex ;
- Balance électronique de précision ;
- Autoclave ;

- Bain-marie ;
- Micropipette ;
- Verrerie : flacons, pipettes, béchers, erlenmeyers, tubes a essais, fioles, entonnoir et erre de montre.
- Autres matériel** : Sachets stomacher, ciseaux, bec Bunsen, papiers filtres, papiers aluminium, spatules et boites de Pétri ;

**c. Solvants, réactifs et milieux de culture**

Les solvants, réactifs et milieux de culture utilisés dans l'étude figurent dans le (**Tableau 6**).

**Tableau 6.** Solvants, réactifs et milieux de culture microbiologique utilisés.

<b>Désignation</b>	<b>Usages</b>
Ethanol	Extraction des composés phénoliques
Eau distillée	Préparation d'eau physiologique
NaCl	Préparation d'eau physiologique
Milieu Chapman	Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .
Milieu PCA	Recherche et dénombrement de la flore psychrotrophe et des germes totaux.
Bouillon Schubert muni d'une cloche de Durham	Confirmation de la présence d' <i>E. coli</i> .
Milieu VRBL	Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants.
Milieu King A	Recherche et dénombrement de <i>Pseudomonas</i> .
Milieu Muller Hinton gélosé	Méthode de contacte directe et CMB chez <i>Staphylococcus aureus</i> et de <i>Pseudomonas</i> .
Milieu Muller Hinton gélosé	CMI

**2. Méthode**

**2.1. Méthode d'extraction**

Les parties aériennes de *Rosmarinus officinalus.L.* ont été récoltés au stade de la floraison au début du mois de mars dans la région de NAAMA à djebel Aissa situé à Ain Safra au sud-ouest de l'Algérie, situé à 32° 54' 43" nord, 0° 28' 05" ouest à une altitude de 2236m.

### **a. Préparation de la poudre végétale**

Au laboratoire, les échantillons frais de romarin ont été étalés et laissés sécher à l'air libre, à la température ambiante et à l'abri de la lumière.

Après séchage, le matériel végétal constitué surtout de (feuilles) a été broyé séparément en poudre fine à l'aide d'un broyeur à lames électriques. Ce broyage a permis de rompre les membranes cellulaires et la matrice extracellulaires ; plus la matière est divisée finement, plus la surface d'échanges (ou interface) est grande et plus le parcours moyen du soluté est élevée (**Gaucher et Lusson, 2001**).

La poudre préparée est stockée dans des bocaux étanches à l'abri de la lumière et de l'humidité afin de protéger les composés actifs de la poudre.

### **b. réparation de l'extrait**

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les composés phénoliques contenus dans la plantes testées on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par (**Sultana et al.,2009**). Cette méthode d'extraction consiste à la mise de 10 g de poudre du romarin en macération dans un solvant d'extraction aqueux (eau distillée 20 ml et éthanol 80ml). Le mélange est soumis à une agitation magnétique durant 6 h à la température ambiante et à l'abri de la lumière. Le filtrat obtenu est ensuite évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait concentré riche en composés phénoliques bioactifs récupéré a été enfin conservé au réfrigérateur (4°C) pour des utilisations ultérieures (**Figure 5**).

### **c. Stérilisation du matériel**

Tout le matériel de travail (les tubes à essai, verreries, papier wattman....) et les milieux de culture et l'eau distillée ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Les barquettes et le film plastique ayant servi à la conservation des viandes ont été stérilisés avec les rayons UV.

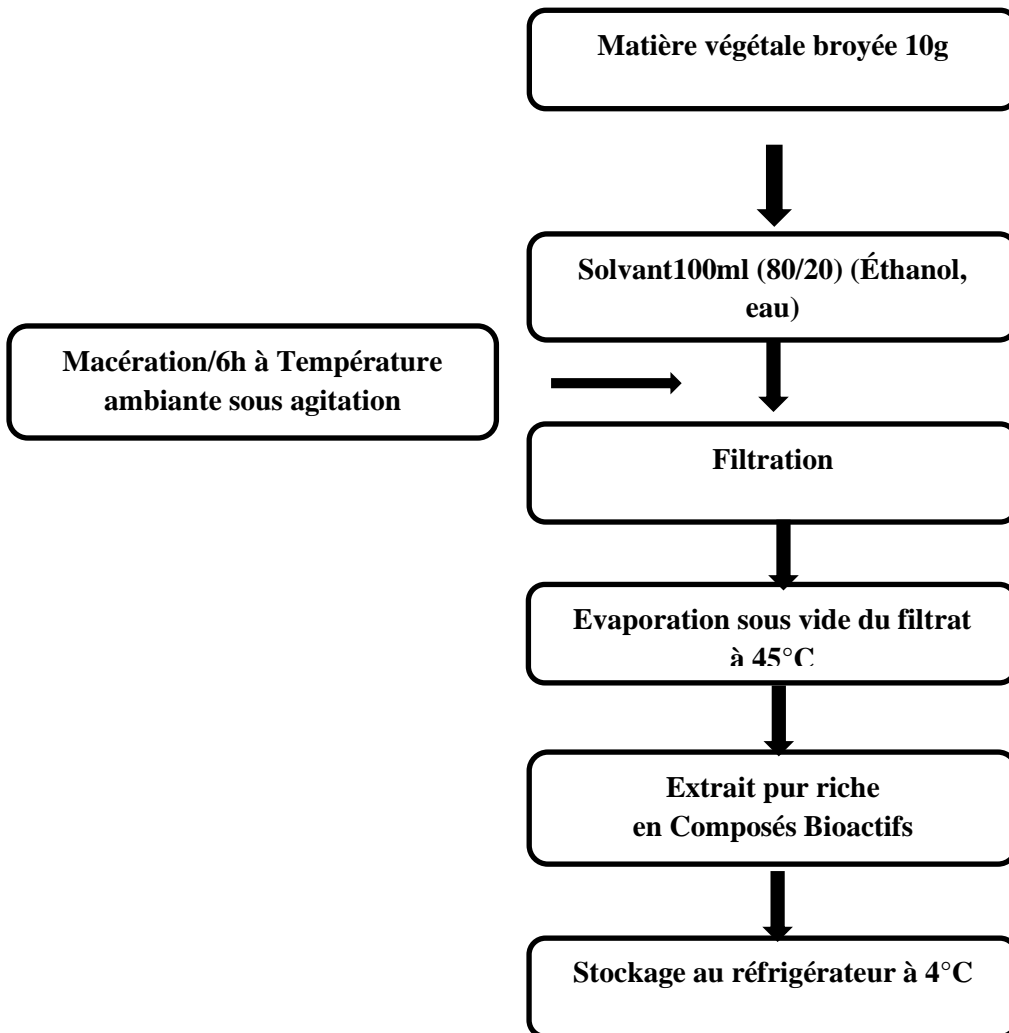
### **d. Préparation des dilutions**

Des concentrations de l'extrait à des taux variables de 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement ont été effectuées avec de l'eau distillée stérile (**Tableau 7 ; Figure 6**)

### **c. Stérilisation du matériel**

Tout le matériel de travail (les tubes à essai, verreries, papier wattman....) et les milieux de culture et l'eau distillée ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Les

barquettes et le film plastique ayant servi à la conservation des viandes ont été stérilisés avec les rayons UV.



**Figure 5.** Etape d'extraction des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis.L* selon le protocole de (Sultana et al., 2009).

### c. Stérilisation du matériel

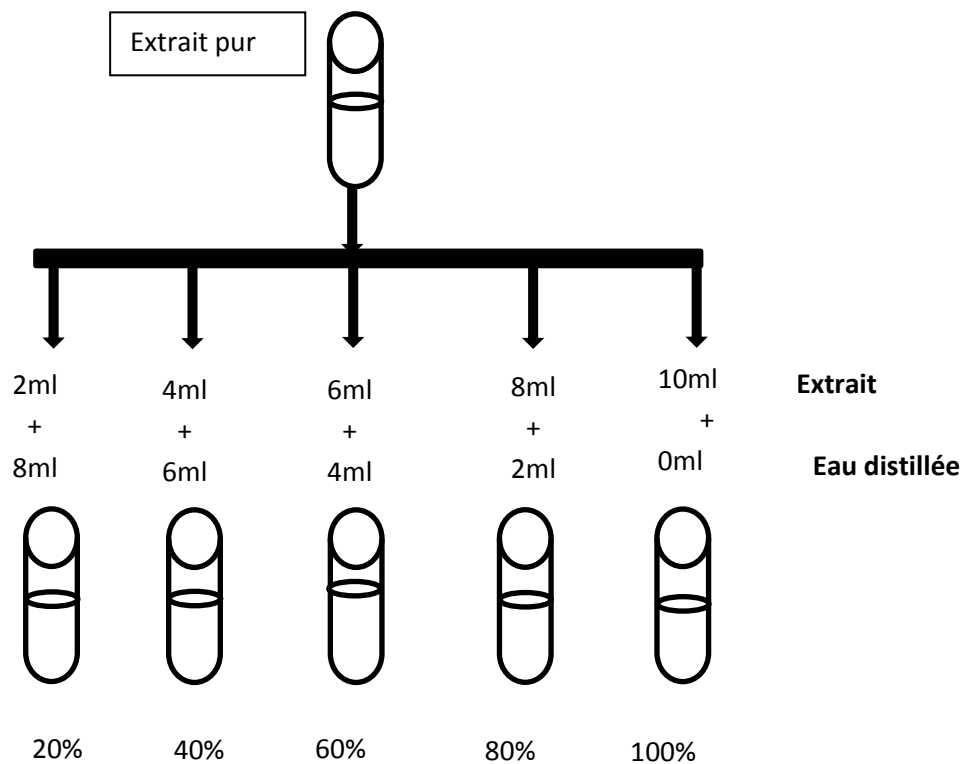
Tout le matériel de travail (les tubes à essai, verreries, papier wattman....) et les milieux de culture et l'eau distillée ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Les barquettes et le film plastique ayant servi à la conservation des viandes ont été stérilisés avec les rayons UV.

#### d. Préparation des dilutions

Des concentrations de l'extrait à des taux variables de 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement ont été effectuées avec de l'eau distillée stérile (**Tableau 7 ; Figure 6**)

**Tableau 7.** Préparation des différentes dilutions de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis.L*

Solution mère (ml)	Eau distillée (ml)	Dilutions (%)
0	10	0
2	8	20
4	6	40
6	4	60
8	2	80
10	0	100



**Figure 06.** Préparation des différentes solutions expérimentales.

## 2.3. Etude des effets antimicrobiens des extraits de *Rosmarinus officinalis L.*

### 2.3.1. Activation d'inocula microbiens

L'étude a concerné deux souches pures de *Staphylococcus aureus* de référence (ATCC : 25923) et *Pseudomonas aeruginosa* de référence connues comme étant parmi les espèces microbiennes impliquées dans les *Toxi-infections alimentaires*.

Les espèces bactériennes ont été tout d'abord activées. Une prise de 0.25 g de chaque souche lyophilisée conservée au froid à 4 °C a été, tout d'abordensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures, au moins jusqu'à avoir une densité optique d'environ 0.9 de l'inoculum qui s'affiche après lecture au Spectrophotomètre réglé à 560 nm.

Un volume de 0.1 ml de cette dernière solution constituant la solution mère a été pris pour êtreensemencée en surface dans une boîte de Pétri contenant un milieu gélosé MH spécifique à la croissance de *Staphylococcus aureus* et d'autre boîte de Pétri contenant un milieu gélosé King A spécifique à la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

### 2.3.2. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980)

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, elle a été ensuiteensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant trois heures.

Des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique allant jusqu'à  $10^{-5}$  ont été effectuées à partir de la précédente dilution constituant l'inoculum microbien.

Des prélèvements de 01 ml de la dernière dilution décimale a été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait de plante teste concentré à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions ont été enfin ensemencés chacune en triple essais (03 boîtes de Pétri) en profondeur à raison de 1 ml sur le milieu gélose MH pour *Staphylococcus aureus* et sur le milieu gélosé King A pour *Pseudomonas aeruginosa*. La lecture du nombre des colonies développées a été effectuée après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures (**Figure 07**).

### 2.3.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

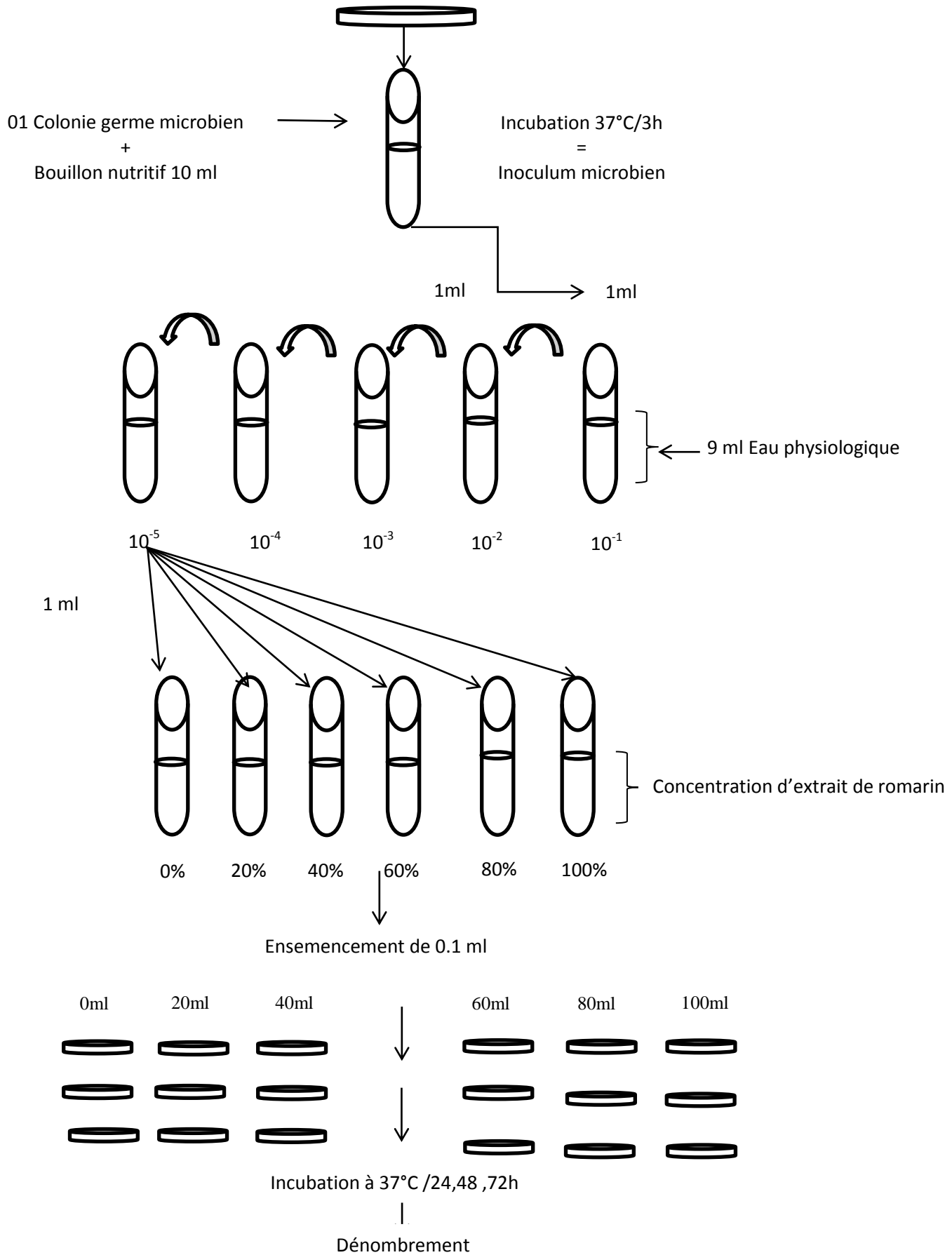


Figure 1. Préparation des différentes solutions expérimentales.

Après activation de l'espèce bactérienne, une colonie a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif.

Des prises de volume de 0.2 ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Petri contenant le milieu Muller Hinton, et d'autres contenant le milieu King A.

Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque concentration d'extrait hydroéthanolique, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Petri.

La lecture des diamètres d'inhibitions a été effectuée à l'aide d'un pied à coulisse après incubation des boîtes de Petri à 37°C pendant 24 heures (**Guignar, 1998**).

#### **2.3.4. Concentration minimale inhibitrice : CMI**

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique, en antifongique et /ou en principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Denis et al, 2011**).

Une colonie jeune de l'espèce *Staphylococcus aureus* et/ou de *Pseudomonas aeruginosa*, a été prélevée à l'aide d'une anse à platine et activée dans 10 ml de bouillon nutritif pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir l'inoculum.

Des prises de 0,2 ml de l'inoculum ont été introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau ; mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Les mélanges des tubes contenant séparément chaque extrait préparé à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 24 heures (**Moroh et al, 2008**).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI a été effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance de *Staphylococcus aureus*.

La CMI correspond donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité ; par conséquent c'est le premier tube où la valeur di est égale à df.

Le taux de survie du microorganisme a été mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

$$S = df - di / Df - Di * 100$$

Où S : Taux de survie du microorganisme en %.

**df-di** : Différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

**Df-Di** : Différence de densité optique de la solution témoin sans extraits de Romarinensemencée avec l'inoculum microbien avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

### **2.3.5. Concentration minimale bactéricide : CMB**

La concentration minimale bactéricide d'une espèce microbienne représente la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (Moroh et al., 2008).

Pour sa détermination, les tubes témoins (inoculum de *Staphylococcus aureus* et inoculum de *Pseudomonas aeruginosa*) ont été dilués à l'eau physiologique jusqu'à  $10^{-4}$ . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme.

Elles ont été ensemencées par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton pour *Staphylococcus aureus* et sur une gélose King A pour *Pseudomonas aeruginosa* puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution  $10^{-4}$  est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution  $10^{-4}$  correspond à la CMB.

## **2.4. Effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalus.L* sur la qualité de la viande ovine**

### **2.4.1. Echantillons de viande**

15 morceaux de 300g de viande de gigot ont été prélevés aléatoirement des carcasses au terme de ressuyage en respectant toutes les règles d'hygiène ; utilisation d'un couteau propre, port de gant stériles, et découpe des morceaux de la viande sur une surface couverte d'un papier propre. Enfin, les échantillons ont été transportés immédiatement à moins de 10 minutes au laboratoire dans une glacière isotherme.

### **2.4.2. Traitement de la viande**

Des échantillons de 200 g de viande ovine de gigot, ont été tout d'abord déposés dans des barquettes de polystyrène, ensuite vaporisés avec 6 ml d'extrait préparé à différentes concentrations (20, 40, 60,80 et100%), enfin ils ont été couverts par un film alimentaire stérile, et conservés à 4C° au réfrigérateur.

Chaque traitement a été effectué en triples essais sur un nombre de 03 morceaux de viande. Il est important de noter la série de 3 morceaux de 200 g chacune d'échantillon témoin et qui n'ont subi aucun traitement.

Les contrôles microbiologiques ont été effectués périodiquement au 1er ,3ème ,5ème, 7ème et 9ème jour de stockage des échantillons expérimentaux au froid positif de 4°C.

### **2.4.3. Dénombrement des germes de contamination**

#### **2.4.3.1. Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)**

La Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit ou sur une surface.

Le dénombrement de la *FTAM* peut être effectué selon les étapes suivantes :

Agiter les dilutions ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) avant chaque contrôle à l'aide d'un vortex ; Pour chaque prélèvement, 1ml de chaque dilution estensemencé en profondeur dans une boîte de Pétri avec 12ml du milieu PCA spécifique.

L'inoculum une fois mélangé à la gélose est et laissé se solidifier, suivi d'une incubation à 30° C, pendant 72h.

#### **2.4.3.2. Coliformes thermotolérants**

Leurs présences dans un aliment est une preuve indiscutable d'une contamination fécales, indiquant par conséquent un risque de présence de germes pathogènes dont : *Escherichia coli*, de bactéries anaérobies sulfito-réductrices, Streptocoques fécaux, Coliformes et d'entérobactéries. Ces germes présentent l'aptitude à se multiplier à 44°C.

Le dénombrement des coliformes fécaux a été réalisé par la méthode d'ensemencement d'une prise de dilution d'échantillon de viande à analyser en profondeur sur une gélose (VRBL) en double couche. L'incubation de la culture microbienne a été effectuée à une température de 44°C pendant 24 heures.

La technique de dénombrement consiste à :

- Déposer 1 ml de chaque dilution décimale ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ ) dans des boîtes de Petri ;
- Mettre ensuite au-dessus environ 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 47°C,
- Mélanger les boîtes couvercles fermés en faisant des mouvements en forme de 8 ;
- Laisser solidifier le milieu de culture puis ajouter une deuxième couche de gélose VRBL ;
- Laisser Solidifier le milieu une seconde fois et procéder à l'étuvage des boîtes à 44°C pendant 24 heures.

### 2.4.3.3. *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement microbiologique des *Staphylococcus aureus* a été effectué sur tous les échantillons expérimentaux, chaque 2 jour à partir du troisième jour de l'étude et pendant toute la période de 10 jours d'entreposage des prélèvements de viande à 4 °C.

Des prises de poids de 25 g de chaque échantillon de viande ont été mélangées à 225ml d'eau physiologique stérile. Le mélange de chaque prélèvement a été broyé (malaxe) dans un sachet de stomacher à l'aide d'un mortier en porcelaine grâce à un pilon. La solution mère de chaque échantillon récupérée a été diluée respectivement à  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$ .

#### a. Technique de dénombrement

Porter 1ml de chaque dilution ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$ ) en profondeur des boîtes de Petri contenant le milieu Chapman préalablement coulé et refroidi. Etaler, ensuite, soigneusement l'inoculum le plus rapidement à la surface de la gélose en essayant de ne pas toucher les bords de la boîte avec un étaloir confectionné à partir d'une pipette pasteur sous bec bunsen. Incuber enfin les boîtes couvercle en bas à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent enfin de lecture, de couleur noire brillante, d'aspect bombée et entourées d'un halo clair.

#### b. Lecture

- Dénombrer les colonies de formes lenticulaires qui poussent en masse et noter la dilution correspondante.
- Tenir compte des boîtes ayant un nombre compris entre 15 et 300
- Retenir 2 dilutions successives.

#### c. Expression des résultats

$$N = C / 1.1 * d$$

C :  $c_1 + c_2$  ( $c_1$  = nombre de colonies de la 1er dilution et  $c_2$  = nombre de colonies de la 2eme dilution)

d : le taux de dilution de la 1er boîte retenue.

### 2.4.3.4. Dénombrement de la Flore psychrotrophe

La flore psychrotrophe est responsable des toxi-infections alimentaires et d'altération de la qualité marchande des denrées, elle se caractérise par sa tolérance de croissance aux températures de 3°C et 5°C.

Son dénombrement est effectué après culture sur un milieu PCA et une incubation à 4°C pendant 10 jours.

#### 2.4.3.5. Dénombrement de *Pseudomonas*

Le dénombrement des *Pseudomonas* a été réalisé suite à un ensemencement d'une prise de dilution d'échantillon microbien en profondeur sur une gélose (King A), accompagnée d'une incubation à une température de 37°C pendant 24 heures.

Le dénombrement s'opère comme suit :

- Prélever 0,1ml de chaque dilution avec une micropipette et la mettre dans une boîte de Petri,
- Verser environ 15 ml de gélose refroidie à 45°C et laisser solidifier ;
- Incuber à 37°C le mélange des boîtes pendant 24 heures.

#### • Lecture

Une première lecture est effectuée après 24 h. Si la croissance n'est pas importante, les boîtes sont remises pour incubation jusqu'au terme des 48 h ; à ce moment le dénombrement est alors réalisé.

Le comptage du nombre des colonies sur les boîtes est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Nombre de colonie} = \frac{\sum (\text{nombre de colonie} \times \text{l'inverse de la dilution})}{\text{Nombre de dilutions}}$$

#### 2.6. Traitement statistique

Les résultats exprimés en moyennes accompagnés des écarts types respectifs ont été traités statistiquement par un logiciel Software à savoir le **Stat Box 6.4**. Les données de chaque variable mesurée ont été traitées statistiquement par une analyse de variance monofactorielle en randomisation, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls. Les groupes homogènes de comparaison des moyennes ont été révélés aux deux seuils de probabilité : à  $p < 0.05$  et à  $p < 0.01$ .

# **Partie 03:**

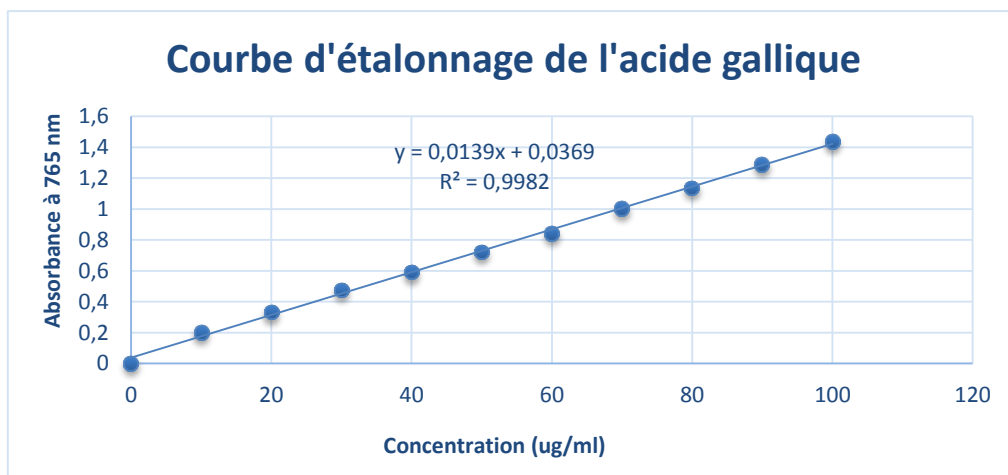
## **Résultats et discussion**

## 1. Résultats

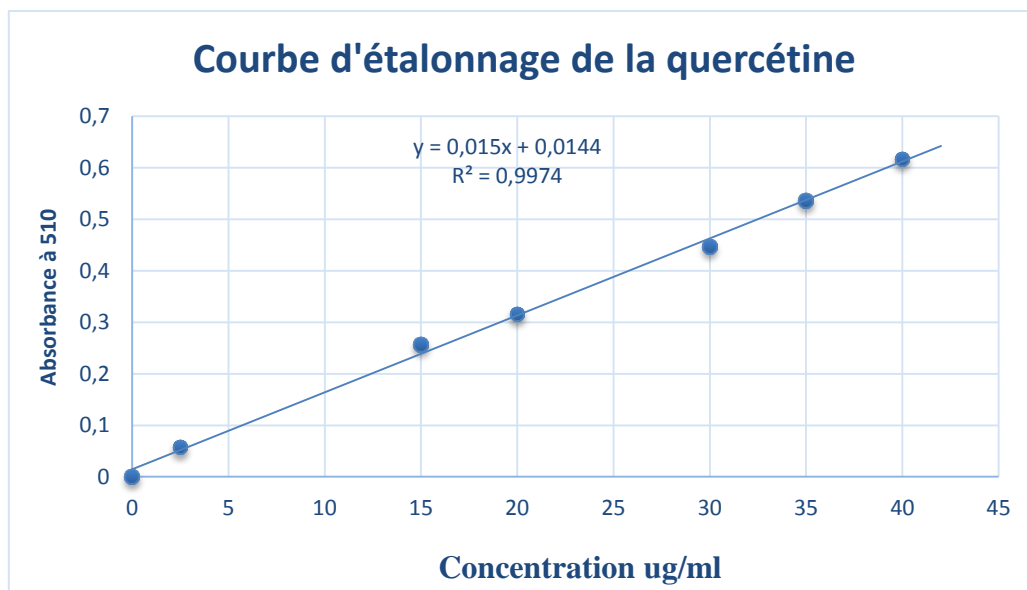
### 1.1. Composés phénoliques et flavonoïdes

Les résultats des teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes contenus dans l'extrait hydroéthanolique et la matière végétale de *Rosmarinus officinalis* L. sont mentionnés dans le (Tableau 08 ; figures 07 et 08).

L'extrait éthanolique de romarin est riche en composés phénoliques (43.17 mgEAG/ml) et faiblement représenté en falvanoïdes (0.22 mgEQ/ml). Les proportions en ces principaux composés actifs secondaires dans la plante ont été estimées à environ 431.65 mgEAG/g MS et 2.167 mgEQ/gMS, respectivement.



**Figure 1.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure 2.** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

**Tableau 08.** Teneurs en Composés phénoliques et flavonoïdes de l'extrait hydroéthanolique et de la matière végétale de *Rosmarinus officinalis* L.

	Polyphénols		Flavonoïdes	
	mgEAG/ml	mgEAG/g MS	mgEQ/ml	mgEQ/gMS
<b>Extrait éthanolique</b>	43.165±0.161	431.65	0.2167±0.146	2.167

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n égal à 03 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; EQ : équivalent quercetine ; MS : Matière sèche.

## 1.2. Effet antimicrobien

Les résultats de l'effet inhibiteur l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* L sur les germes responsables de toxi-infection alimentaire sont illustrés dans le (Tableau).

Aucune croissance du germe *Staphylococcus aureus* n'a été observée à partir de l'extrait hydro-éthanolique concentré à 60% et contenant une quantité de composés phénoliques de (17.27 mg EAG/ml). L'élévation de la concentration d'extrait de *Rosmarinus officinalis* L de 20 à 100% a induit une augmentation hautement significative ( $p < 0.01$ ) du diamètre d'inhibition du germe ; avec un taux d'inhibition d'environ 48.38% par rapport à la gentamicine.

La CMI de *Staphylococcus aureus* a été remarquée avec l'extrait préparé à 60% et renfermant une quantité de polyphénols de 17.27 mg EAG/ml. En revanche la CMB a été enregistrée avec l'extrait concentré à 80% et contenant une quantité en composés phénoliques plus importante de 23.02 mg EAG/ml. Cet extrait semble exercer un effet inhibiteur de type bactéricide vis-à-vis du germe étudié.

Concernant *Pseudomonas aeruginosa* la croissance du germe a été totalement arrêtée avec l'extrait préparé à 20% et contenant une teneur de 5.76 mg EAG/ml en composés phénoliques.

L'extrait pur a accusé un diamètre d'inhibition du germe *Pseudomonas aeruginosa* comparable ( $p > 0.05$ ) à la gentamicine (30.4 vs 30.7 mm) ; avec un taux d'inhibition d'environ 98.92%.

Par ailleurs, la CMI de cette bactérie a été obtenue avec l'extrait préparé à 60% (17.27 mg EAG/ml) ; alors que la CMB a été notée à 80% (23.02 mg EAG/ml). L'extrait hydro-

éthanolique de *Rosmarinus officinalis* L s'avère exercer un effet inhibiteur de type aussi bactéricide contre *Pseudomonas aeruginosa*.

**Tableau 09.** Effet de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* L sur quelques germes responsables de toxi-infection alimentaire.

		Concentrations en extrait phénoliques hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i>					
Tests d'inhibitions		Témoin (0 mg EAG/ml)	20% (5.76 mg EAG/ml)	40% (11.51 mg EAG/ml)	60% (17.27 mg EAG/ml)	80% (23.02 mg EAG/ml)	100% (43.17 mg EAG/ml)
		0	5.755	11.510	17.266	23.021	43.165
<i>Staphylococcus aureus</i>	Test de croissance	60x10 <sup>5a</sup>	31x10 <sup>5b</sup>	31x10 <sup>4c</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>
	Diamètre d'inhibition (mm)	31 <sup>a</sup> ± 0,173	7 <sup>b</sup> ± 0,66	10,3 <sup>b</sup> ± 0,493	12 <sup>b</sup> ± 0,5	12,7 <sup>b</sup> ± 0,462	15 <sup>b</sup> ± 0,5
	Taux d'inhibition %	100 <sup>a</sup>	22,59 <sup>b</sup>	33,34 <sup>b</sup>	38,71 <sup>b</sup>	40,86 <sup>b</sup>	48,39 <sup>b</sup>
	CMI	60%					
	CMB	80%					
	Rapport CMB/CMI	1					
	Type d'inhibition	Bactéricide					
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Test de croissance	33x10 <sup>5a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
Diamètre d'inhibition (mm)		30,7 <sup>a</sup> ± 0,115	19,4 <sup>b</sup> ± 0,115	20,4 <sup>b</sup> ± 0,643	19,7 <sup>b</sup> ± 0,416	24,8 <sup>ab</sup> ± 0,924	30,4 <sup>a</sup> ± 0,503
Taux d'inhibition %		100 <sup>a</sup>	63,05 <sup>b</sup>	66,31 <sup>b</sup>	64,13 <sup>b</sup>	80,44 <sup>ab</sup>	98,92 <sup>a</sup>
CMB		80%					
CMI		60%					
Rapport CMB/CMI		1					
Type d'inhibition		Bactéricide					

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions n égal à 05 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; Témoin : Eau (0MEAG/ml) ou Gentamicine ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

### 1.3. Effet sur la conservation de la viande

Durant les 9 jours de conservation au froid positif de 4°C, les échantillons de viande ovine Bio issue des pâturages steppiques de bougtob à El bayadh-Algérie et ayant été traités avec l'additif naturel à base d'extrait phénolique de *Rosmarinus officinalis* L. concentré à 80 et 100% ont présentés une meilleure qualité microbiologique ( $p < 0.01$ ) par comparaison à la viande témoin non traitée ; 554 10<sup>2</sup> vs 404 10<sup>2</sup> vs 56610<sup>2</sup> UFC/g en flore totale aérobie mésophile, 17 vs 9 vs 159 10 UFC/g en coliformes thermotolérants, 41 vs 19 vs 127 10 UFC/g en *Staphylococcus aureus*, 52 10 vs 87 10 vs 532 10 en *Pseudomonas* et 27 10 vs 13 10 et 188 10 UFC/g en flore psychrotrophe (**Tableau 10** ).

**Tableau 10.** Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur la qualité de la viande durant 9 jours de conservation au froid.

Germes	Concentrations en extrait phenolique hydroethanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L						Norme JORA 2017	
	0	20%	40%	60%	80%	100%	M (UFC/g)	M (UFC/g)
	0	5.755	11.510	17.266	23.021	43.165		
<i>FTAM</i>	566.10 <sup>2a</sup>	409.10 <sup>2b</sup>	403.10 <sup>2b</sup>	328.10 <sup>2c</sup>	554.10 <sup>2a</sup>	404.10 <sup>2b</sup>	<b>5.10<sup>5</sup></b>	<b>5.10<sup>6</sup></b>
<i>Coliformes thermotolérants</i>	159.10 <sup>a</sup>	126.10 <sup>b</sup>	78.10 <sup>b</sup>	37.10 <sup>c</sup>	17 <sup>c</sup>	9 <sup>c</sup>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	127.10 <sup>a</sup>	125.10 <sup>a</sup>	116.10 <sup>b</sup>	39.10 <sup>c</sup>	41 <sup>d</sup>	19 <sup>d</sup>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>
<i>Pseudomonas</i>	532.10 <sup>b</sup>	562.10 <sup>b</sup>	233.10 <sup>c</sup>	11.10 <sup>2c</sup>	52.10 <sup>c</sup>	87.10 <sup>c</sup>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>
<i>Flore psychrotrophe</i>	188.10 <sup>b</sup>	225.10 <sup>a</sup>	209.10 <sup>a</sup>	31.10 <sup>c</sup>	27.10 <sup>c</sup>	13.10 <sup>c</sup>	-	-

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes , avec un nombre de répétitions n égal à 03 ; mg EAG : milligramme équivalent acide gallique ; FTAM : Flore totale aérobie mésophile ; UFC : Unité formant colonie ; m : nombre minimal de germes tolérés dans la viande ; M : nombre maximal de germes tolérés dans la viande ; JORA : Journal Officiel de la République ; a,b,c,d,e : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

## 2. Discussion

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. Ces composés participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle dans les signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie) ou bien en lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. D'un point de vue chimique, ces molécules constituent la base des principaux composés bioactifs que l'on trouve chez les plantes médicinales (**Brahimi et al., 2018**).

Les denrées alimentaires peuvent être contaminés par divers, agents pathogènes, micro-organismes et nuisibles au cours du traitement, de stockage et de la distribution, entraînant de graves problèmes de santé et des pertes économiques considérables (**Heredia et al., 2001**).

Les composés bioactifs extraits de la matrice des végétaux dont notamment les huiles essentielles et les composés phénoliques ont été considérés depuis longtemps comme des inhibiteurs de croissance des agents pathogènes tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Vibriovulnificus*, et autres (**Mouas et al., 2017**).

L'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis.L* (romarin) riche en composés phénolique 431.65 mgEAG/g MS et pauvre en flavonoïdes 2.167 mgEQ/g MS a montré une bonne activité antimicrobienne vis-à-vis des deux germes de référence étudiées *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* connues comme étant parmi les principales bactéries responsables d'intoxications alimentaires. En effet, Le genre *Staphylococci* est un parasite saprophyte de l'homme et de l'animal. Son principal habitat est la muqueuse nasale, la bouche, la gorge et la peau d'individus sains. Cette bactérie peut être disséminée facilement dans l'environnement et peut ainsi contaminer les aliments (**Loir et al., 2003**).

Par ailleurs, la croissance microbienne obtenue par l'ajout de l'extrait hydro-éthanolique de la plante a montré clairement que le nombre de ces deux germes diminuent significativement avec l'augmentation de la concentration d'extrait hydroéthanolique appliqué. Ainsi, l'extrait à 80 et 100% ont réduit totalement leur prolifération.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (**ponce et al., 2003**). Ils ont classé les diamètres de zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 4 classes:

·Extrêmement sensible +++ : plus de 20mm

·Très sensibles ++ : de 15mm à 19mm

.Sensibles + : 7 mm à 14mm

.Non sensibles - : moins de 6mm.

Selon les résultats de l'effet de l'extrait éthanolique du romarin on a remarqué que *Staphylococcus aureus* donne un diamètre de la zone d'inhibition de 15mm pour la solution d'extrait pure, 10.3 mm avec l'extrait à 40% et 12.7 mm avec l'extrait à 80%. Donc *Staphylococcus aureus* est très sensible (++) pour la solution mère et sensible(+) dans les autres solutions d'extrait préparées à 40% et 80%. Quant à *Pseudomonas aeruginosa* elle a enregistré un diamètre de la zone d'inhibition de 30.4mm pour la solution d'extrait pure non diluée, 20.4 mm avec l'extrait à 40% et 24.8 mm avec l'extrait à 80%. Ainsi, *Pseudomonas aeruginosa* semble extrêmement sensible (+++) pour la solution mère et les solutions d'extrait préparées à 40 et 80%.

Par ailleurs, l'extrait pure et celle concentré à 80% a exercé un fort pouvoir antimicrobien sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* par rapport au *Staphylococcus aureus* estimé comparativement à la gentamicine à 48.39 et 40.86% respectivement pour *Staphylococcus aureus* et à 98.92 et 80.44% chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces résultats sont certainement dus aux composés phénoliques contenues dans l'extrait hydroéthanolique et dont l'efficacité antimicrobienne vis-à-vis du germe étudié s'avère s'accroître en fonction de la concentration en extrait de la plante et donc en composés bioactifs contenus dans la solution inhibitrice testée (Aissaoui.,2019).

D'après, **Faiscuva et Faise (2008)**, l'activité antimicrobienne du romarin contre le germe testé peut être attribuée aux flavonoïdes et les acides phénoliques comme l'acide rosmarinique, l'acide caféique et l'acide chlorogénique présents à de fortes teneurs dans la plante et dont une grande partie de ces composés secondaires se sont retrouvés assurément en majorité dissout après extraction hydroéthanolique dans l'extrait expérimentale récupéré (Faiscoraz, 2008).

La sensibilité des micro-organismes peut varier selon le germe testé car un extrait peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches et bactériostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet (Hermal ,1993). Apparemment, l'extrait de romarin testé a prouvé un effet antimicrobien considérable contre *Staphylococcus aureus* qui est une coque à Gram +. A ce propos, il est bien connu que les bactéries à Gram- (*Pseudomonas aeruginosa*) sont plus résistantes aux extraits bioactifs des plantes que les Gram+ ; ceci est dû sans doute aux différences structurales de la proie microbienne (Burt, 2004). La susceptibilité des bactéries

est en effet indépendante du gram (**Dorman et Deans, 2000**), et dépendante aussi de la nature de l'extrait utilisées (**Deans et Ritchie, 1987**).

Selon (**Olivier 2007**), étant donnée le rapport CMB/CMI est inférieur ou égale à 2 l'extrait expérimental de *Rosmarinus officinalis* prélevé à Naama a exercé un effet antimicrobien de type bactéricide vis-à-vis des germes *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. A ce propos, plusieurs études antérieures (**Moreira et al., 2005; Santoyo et al., 2005; Billerbeck, 2007; Ouibrahim et al., 2013; Lograda et al., 2014 et Belkhiri, 2015**) effectuées sur des extraits alcooliques de *Rosmarinus officinalis* ont révélé aussi des activités antimicrobiennes de type bactéricide contre plusieurs microorganismes dont *Staphylococcus aureus* ; ce qui confirme les résultats obtenus dans la présente étude.

Les variations des taux d'incorporation des concentrations de l'extrait hydro-éthanolique du romarin de 0, 20, à 40, 60, à 80 et à 100% ont entraîné des baisses importantes du niveau de contamination aux germes totaux de la viande ovine conservée au froid positif de 4°C pendant 9 jours. Cette tendance est maintenue pour les *Coliformes thermotolérants*, les *Staphylococcus aureus*, les *Pseudomonas* et la *Flore psychrotrophe*.

En effet, le nombre de ces germes dans l'ensemble des échantillons expérimentaux de la viande traitée notamment à de fortes concentrations de 80 et 100% d'extrait hydroalcoolique de romarin reste conforme à la norme admise dans le journal officiel de la république Algérienne après même 9 jours de stockage au froid à 4°C (**JORA, 2017**).

A ce propos plusieurs auteurs ( **Mena 2016 ; Hernandez 2016**) rapportent l'existence dans l'extrait de *Rosmarinus officinalis* de nombreux composés bioactifs dont l'acide rosmarinique, l'acide carnosolique , le carnosol, le rosmanol exerçant un fort pouvoir antimicrobien sur certains germes pathogènes comme *clostridium perfringens*, *Salmonella* , *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* responsables de la détériorations fréquente des aliments au cours de la conservation.

D'autres auteurs ont également signalé un bon effet inhibiteur in vitro particulier de l'huile essentielle de romarin sur des micro-organismes pathogènes tels que *E. coli*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* (**Gómez-Estaca et al. ,2010**).

La présente étude expérimentale à bien montré aussi que l'ajout comme additif naturel d'extrait hydroéthanolique de romarin riche en composés phénoliques à la viande ovine à de faibles concentrations variables de 20 à 60% a amélioré sensiblement la qualité microbiologique de la viande durant le stockage au froid positif.

Par ailleurs, à des concentrations de 80 et 100% d'extrait de romarin additionnées dans la viande la croissance des germes *Staphylococcus aureus* et les coliformes thermotolérants a été presque inhibée.

Le mécanisme d'action des composés bioactifs des plantes dont les composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de la croissance d'un germe quelconque peut résulter :

- d'une augmentation de la perméabilité, puis à une perte des constituants cellulaires ;
- d'une acidification de l'intérieure de la bactérie en bloquant la production de l'énergie ainsi que de la synthèse des composants de structure ;
- et de la destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie. (**Caillet et Lacroix, 2007**).

D'après **Bouyahya et al (2017)**, ces mécanismes d'action sont attribués à l'interaction des composés phénoliques avec les constituants de la membrane cellulaire en inhibant les médiateurs des auto-inducteurs par modification du processus de transduction d'énergie couplée à la membrane et le transport de solutés, ainsi que la régulation métabolique.

Cependant d'autres auteurs (**Domadia et al., 2007 ; Turgis et al., 2009 ; Trosko ,2016** ) ont rapporté que l'action des extraits bioactifs vis-à-vis des germes peut se traduire simplement soit par une action sur les protéines présentes dans les bactéries et peuvent affecter ainsi la division cellulaire ou par une réduction significative d'ATP intracellulaire résultante de la perturbation de la chaîne respiratoire au niveau membranaire.

# Conclusion

## Conclusion

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il apparaît que l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. récolté dans la région de Djbel Aissa relevant de la Wilaya de Naama Algérie est riche en composés phénoliques 431.65 mgEAG/g MS exerçant un effet antimicrobien remarquable et susceptible d'être utilisé comme additif naturel pouvant prolonger la durée de conservation de la viande ovine au cours de la conservation au froid.

En effet, la qualité microbiologique des échantillons de la viande ovine traités notamment à des concentrations de 80 et 100% d'extrait de romarin restent conformes aux normes admises dans le journal officiel de république Algérienne (JORA) après 9 jours d'entreposage au froid.

La méthode des disques a bien justifié l'efficacité antimicrobienne de l'extrait de la plante préparé à 80 et 100% comparativement à la gentamicine qui est un antibiotique à large spectre; avec des taux d'inhibitions ( $P < 0.01$ ) respectives de 40.86 et 48.39% chez *Staphylococcus aureus* respectivement, et de 80.44 et 98.92% chez *Pseudomonas aeruginosa*.

En outre, la concentration minimale inhibitrice a été obtenue à 60% d'extrait de romarin ; alors que la concentration minimale bactéricide a été remarquée à une concentration plus importante de 80% chez ces deux germes étudiés.

D'après les résultats de dénombrement des *Staphylococcus aureus* et des coliformes thermotolérants, il s'avère que l'utilisation comme additif à des concentrations de 80 et 100% d'extrait de *Rosmarinus officinalis* a presque inhibé totalement la multiplication de ces deux germes durant 9 jours de stockage de la viande ovine au froid à 4°C.

Concernant la flore totale aérobie mésophile (FTAM), la flore psychrotrophe et les *Pseudomonas aeruginosa* la charge microbienne semble diminuer significativement ( $p < 0.01$ ) avec l'augmentation de la concentration d'extraits hydro-éthanolique de *Rosmarinus* ajouté à la viande. Au cours de toute la période de conservation des échantillons de viande de gigot, les forts pouvoirs antimicrobiens ont été remarqués surtout à des concentrations d'extrait de 80 et 100%.

Cette présente étude a permis de suivre l'effet antimicrobien de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis*.L et de déterminer la possibilité de son utilisation comme agent conservateur dans la viande ovine.

Cependant, d'autres études complémentaires doivent être entreprises et orientées surtout à l'étude sélective des principaux composés actifs de la plante vis-à-vis de la prolifération des germes et ses conséquences sur la qualité physicochimique, microbiologique, nutritionnelle, diététique et organoleptiques de la viande Bio ovine issue des pâturages steppiques d'Algérie au cours de la conservation. Comme il est possible de suivre les effets antimicrobiens d'extraits d'autres solvants d'extractions en utilisant la même plante ou d'autres plantes médicinales autochtones et leurs impacts sur la conservation soit de la viande ovine propre objet de cette étude ou d'autres aliments plus périssables (poissons, produits laitiers, viandes hachées...etc.).

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

## A

- **Aissaoui nor el houda (2019)**. Effet antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* (Romarin) chez *Staphylococcus aureus* au cours de la conservation de la viande ovine à 4°C. Mémoire de fin d'étude en Master contrôle de qualité des aliments. Université Abdelhamid Ben Badis Mostaganem. 2019. 60 p.
- **Albertí, G. Ripoll, C. Albertí, B. Panea (2017)**. Etude de la couleur des différents types de viande bovine vendus en Espagne, viandes et produits carnés ; 9 p.
- **Altinier, G., Sosa, S., Aquino, R.P., Mencherini, T., Loggia, R.D., Tubaro, A., (2007)**. Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. J. 1723.
- **AnGR, 2003**. Rapport National sur les ressources génétiques animales : Algérie. Octobre 2003.
- **Atik bekkara F, Bousmaha L, Taleb bendiab SA, Boti JB, Casanova J.(2007)**. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé, vol 7, 11 p.

## B

- **Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J (2004)**. Inhibitory effect of thyme and basileessential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and pcymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiol, vol 21, 22 p.
- **Bakirel, T., Bakirel, U., Keles, O.U., Ülgen, S.G., Yardibi, H., (2008)**. *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. J. Ethnopharmacol. Vol 116, 64–73 p.
- **Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006)**. The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science, vol 73: 413-421p.
- **Bartels M (1997)**. Guide des plantes du Bassin méditerranés, *Edition Ulmer*, page 6.
- **Bauchart. D et Thomas. A., (2002)**. Facteurs d'élevage et valeur de santé des acides gras des viandes. Edition Quae ; vol 10 : p131-142.
- **Bellakhdar, J., (2006)**. Plantes médicinales au Maghreb et soins de base : précis de phytothérapie moderne : Eds Le Fennec.

- **Belco L.A., Dramane G. Djegbe I., Adegbola A., Daouda O., Séydou I. and Ahyi V. (2017).** Étude de la contamination de surface des carcasses de bovins dans la zone d'abattage de Kandi, nord du Bénin *Journal of Applied Biosciences*, vol 114, 11392p.
- **Belitz H-D; Grosch W.& Schieberel P. (2009).** *Meat Food Chemistry*, vol 12, 616 p.
- **Bouillet A., Duchène M., and Deroanne C. (1982).** Frozen and chilled minced meat (beef and pork): microbial and physicochemical evolution during storage Vol 5 Butterworth & Co (Publishers) Ltd and IIR.
- **Botanica, T., (2011).** Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste par le réseau Tela botanica. Retrieved from [http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75333\\_synthese\\_referentiel=bdtfx&niveau=2&module=pdf-export&action=pdf\\_export&num\\_nom=75333](http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75333_synthese_referentiel=bdtfx&niveau=2&module=pdf-export&action=pdf_export&num_nom=75333)
- **Botineau, 2010.** botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec& Doc, Paris, 2010, 1335pp
- **BOURGEOIS C. M., LEVEAU S. Y., 1980.** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries alimentaires ; vol. 3 : le contrôle microbiologique.- Paris : Lavoisier-Tech et Doc ; APRIA ; 331p
- **Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charfi S., Abrini J. et Dakka N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries *Resistance to Antibiotics and Mechanisms of Action of Essential Oils against Bacteria*, *Phytothérapie* DOI 10.1007/s10298-017-1118-z.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, 575p.

## C

- **Caillet S. & Lacroix M., (2007).** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier RESALA, 1-8.
- **Carroll CD, Alvarado CZ (2008).** Comparison of air and immersion chilling on meat quality and shelf life of marinated broiler breast fillets. *Poultry Sci* 87: 368-372.
- **Cassens RG (1994).** *Meat Preservation, Preventing Losses and Assuring Safety*. 1<sup>st</sup> Edn., Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, USA, pp: 79-92.

- **Chougui N., (2015).** technologie et qualité des viandes. Thèse de magister. Université Abderrahmane Mira de BEJAIA.
- **CoibionL., (2008).** Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine adaptation à la demande du consommateur. p 7-25.

## D

- **Dai, J., Mumper, R. J. (2010).** Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Properties. *Molecules vol 15(10)*, 7352 p.
- **Deans S.G. & Ritchie G., (1987).** Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, vol 5 (2): 180 p.
- **DELL'ORTO V., SGOIFO ROSSI C.A. (2000).** Aspetti nutrizionali e gestionali per la produzione di carne bovina di qualità. *L'Informatore Agrario*, vol 14: 56 p.
- **Denis, F., E. Bingen, C. Martin, M.C. Ploy and R. Quentin, 2011.** Bacteriologie Medicale. 2nd Edn., Elsevier Masson, Paris, 640 p.
- **Djaout A<sup>1,2</sup>, Afri-Bouzebda F<sup>1</sup>, Chekal F<sup>3</sup>, El-Bouyahiaoui R<sup>2</sup>, Rabhi A<sup>4</sup>, Boubekeur A<sup>2</sup>, BENIDIR M<sup>2</sup> et Gaouar S.B.S<sup>4,5</sup>** Etat de la biodiversité des «races» ovines algériennes, *Genetic and biodiversity journal*. Vol(1), 26 p.
- **Dias, P.C., Foglio, M.A., Possenti, A., Carvalho, J.E., (2000).** Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extracts of *Rosmarinus officinalis* L. *J. Ethnopharmacol.* Vol 69, 62 p.
- **Dognon S., Salifou C., Dognon J., Dahouda M., Scippo M. and Youssao A.(2018)** Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin 12476 *Journal of Applied Biosciences*, vol 124, 12487 p.
- **Domadia P., Swarup S., Bhunia A., et al (2007).** Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochem Pharmacol*, vol 74, 840 p.
- **DONZO Artagnan., (2016).** Commercialisation des viandes (bovine, caprine, porcine) à Kikwit: analyse comparative de la rentabilité financière. Obtention d'un master en Agroéconomie. Université de Kikwit, 2 p
- **Dorman H.J. & Deans S.G., (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, vol 88 (2), 316 p.

**E**

- **Emberger, (1960).** Traite de botanique (systematique). Les vegetaux vasculaires (Fascicule 2), Paris [FRA] : Masson, 1960. 786 p.
- **Evrat-Georgel C., (2008).** Bibliographie critique des méthodes instrumentales etmesure de la tendreté de la viande bovine, Office d'élevage et Interbev.

**F**

- **Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A., Kuri, V. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*. Vol 69, 380 p.
- **Fuinel, (2003).** Chroniques végétale, secret des plantes médicinales, Editeur : mot passant Eds Du, juin 2003.

**G**

- **Gachkar L, Yadegari D, Bagher MR, Taghizadeh M, Staneh SA, Rasooli I,(2007).** Chemical and biological characteristic of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*; vol 102, 904 p.
- **Gaddini Andrea (2000).** La race ovine merinizzata italiana da carne thèse de fin d'études universitaires.
- **Gandemer, G., Pichou, D., Bouguennec, B., Caritez, J.C., Berge, P., Briand, E. et Legault, C. (1990).** Influence du système d'élevage et du génotype sur la composition chimique et les qualités organoleptiques du muscle Long dorsal chez le porc. Journées Rech. Porcine France, vol 22, 110 p.
- **Gaucher et Lusson, (2001).** Effect of *Nigella sativa* oilon gastric secretion and éthanol induced ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*.vol 72, 304 p.
- **Geay Y, Bauchart D., Hocquette J, Culioli J, (2002).** Valeur diététique et qualités sensorielles des viandes de ruminants. Incidence de l'alimentation des animaux. INRA Prod. Anim., vol 15, 37 p.
- **Gianmario A., Silvio S., Rita P.A., Teresa M., Roberto D.L., Aurelia T., (2007).** Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis*. *J. Agric. Food Chem.*, vol 55, 1723 p.

- **GIGLI S., FAILLA S., IACURTO M., BONANNO A., ALABISO M., MORMILE M. (1994).** Stima e correlazione dei parametri qualitativi della carne di agnelli appartenenti a diversi tipi genetici. In: Atti del XLVIII congresso della SISV (Società Italiana di Scienze Veterinarie), Giardini Naxos (ME), 28 settembre-1 ottobre: 214.
- **Goll D., Kleese W. and Szpacenko A. (1989).** Skeletal muscle proteases and protein turnover in D. R. Campion, G. J. Hausman, & R. J. Martin (Eds.), Animal growth regulation (pp. 141–181). New York: Plenum Publishing
- **Gómez-Estaca J., López de Lacey A., López-Caballero M.E., Gómez-Guillén M.C. and Montero P. (2010).** Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation Food Microbiology 889-896.
- **Gonzalez-Trujano et al. (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. Using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol. Vol 111, 482 p.*
- **Greaser M. and Guo W. (2012).** Postmortem changes in muscle. In: G.H. Bourne (ed.) The structure and function of muscle, 2nd ed. Vol. II, pp. 243– 309. Academic Press, New.
- **Grunert K.G., Bredahl L., Brunso K., (2004):** Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector a review. *MeatSci. Vol 66, 272 p.*

## H

- **Haloui, M., Louedec, L., Michel, J.B., Lyoussi, B., (2007).** Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *J. Ethnopharmacol. Vol 71, 472 p.*
- **Heinz G, Hautzinger P (2007).** Meat Processing Technology. For Small-to Medium Scale Producers. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific.
- **Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana, M., (2006).** Ethnobotany and ethnopharmacology – interdisciplinary links with the historical sciences. *J. Ethnopharmacol. Vol 107, 160 p.*
- **Henrich, et al., (2006).** Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.

- **Heredia N., Garcia S., Rojas G. et Salazar L., (2001).** Microbiological Condition of Ground Meat Retailed in Monterrey, Mexico. Food Prot., 1251 p.
- **Hermal C., 1993-** *Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles.* Thèse, Faculté de pharmacie, Université Montpellier I. 87 p.
- **Hernández M., Sotomayor J., Hernández A. and Jordán M.(2016).** Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Oils essential oils in food preservation, flavor and safety 688 p.

## I

- **Iserin P., (2001).**Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2.Ed. Larousse.Londres, 226p.

## J

- **Jay J M, Loessner MJ, Golden DA (2005).** Modern Food Microbiology, 7th Ed., Springer Science and Business Media. NY. 101 p.

## L

- **LANZA A., BIONDI L. (1990).** Miglioramento e valutazione della qualità della carne negli ovi-caprini. In: Atti del II Simposio Internazionale : "Nuove prospettive della ricerca sugli ovi-caprini.", Varese-Ville Ponti, 23 novembre: 170 p.
- **Listrat A., Lebret B., Louveau I., Astruc T., Bonnet M., Lefaucheur L. et Bugeon J. (2015).** Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viandes ou chairs, INRA Productions Animales, INRA Editions, vol 28 (2), 136 p.
- **Lorenzo, J.M., Munekata, P.E.S., Sant'Ana A.S., Carvalho, R.B., Barba, F.J.,**

## M

- **Machado, D.G., Bettio, L.E., Cunha, M.P., Capra, J.C., Dalmarco, J.B., Pizzolatti, M.G., Rodrigues, A.L., (2009).** Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: involvement of the monoaminergic system. Prog Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. Vol 33(4), 650 p.

- **Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p. 4-5.
- **Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005).** Current research in meat color. *Meat Science*, vol 71(1), 121 p.
- **Mena P., Cirlini M., Tassotti M., Herrlinger K.A., Dall'Asta C. and Del Rio D. (2016).** Phytochemical Profiling of Flavonoids, Phenolic Acids, Terpenoids, and Volatile Fraction of a Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract *Molecules* 1576; doi:10.3390/molecules21111576.
- **Micol D., Jurie C., and Hocquette J. F., (2010).** Qualités sensorielles de la viande bovine. Impacts des facteurs d'élevage In: D. Bauchart and B. Picard (eds.) *Muscle et viande de ruminant*. 172 p.
- **Mini-encyclopédie des aliments, (2008).** La Mini-encyclopédie des aliments fournit des informations essentielles sur l'achat, la préparation et la conservation de plus de 1 000 aliments. Écrit dans un style clair et simple, ce livre pratique et compact constitue un outil de cuisine indispensable. 2008-08-26.
- **MOËVLI (2006).** Le point sur la couleur de la viande bovine rédigé par l'Institut de l'Élevage INTERBEV : 149, rue de Bercy – 75595 Paris cedex 12
- **Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HM. (2000).** Anti-parasitic activity of two lavender essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis*, and *Hixamita inflota*. *Parasitol. Res.* vol 99, 728 p.
- **MOORE V.J., PRASAD S., DEVINE C.E. (1998).** Changes in lactic acid levels during thawing of lamb chops. *Meat Science*, vol 49, 346 p.
- **Monin G., (1991) :** Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. *INRA Productions Animales*, vol4 (2), 160 p.
- **Monod, T., (1978).** Les Rosas de Sancta Marya de Gil Eanes (1434): Junta de Investigações Científicas do Ultramar.
- **Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E. & Roura S.I., (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie LWT*, vol 38, 570 p.
- **Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina, (2008).** Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides*(Baker) *milne-redheat* (*rubiaceae*) acetatic extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains.

- **Mouas Yamina<sup>1</sup>, Benrebiha Fatma Zohra<sup>1</sup>, Chaouia Cherifa<sup>1</sup>. (2017).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis L.* *Revue Agrobiologia*, vol 366, 370 p.

## N

- **Neumeyer K, Ross T, Thomson G, McMeekin TA (1997).** Validation of a model describing the effect of temperature and water activity on the growth of psychrotrophic pseudomonads. *Int J Food Microbiol* vol 38, 63 p.
- **Nkolo S. (2007).** Thèse de doctorat : Qualité bactériologique de la viande de buffle congelée importée au Sénégal, Université Cheikh AntaDiop de Dakar.
- **Nychas GJE, Skandamis PN, Tassou CC, Koutsoumanis KP (2008).** Meat spoilage during distribution. *Meat Sci* vol 78, 89 p.

## O

- **Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K., Yagi A., (1994).** Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*. Vol 37, 1466 p.
- **Ockerman HW, Basu L (2004).** Carcass chilling and boning. In: Encyclopedia of meat sciences, Jensen, WK (Ed.), Oxford: Elsevier. pp: 144-149.
- **Oluwatuyi M., Kaatz G.W. and Gibbons S. (2004).** Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochemistry*, vol 65, 3254 p.
- **Ouali A. (1991).** Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande. *INRA Productions animales*, vol 4 (3), pp.195-208. fihal-00895939.

## P

- **Pal M (2014).** Preservation of various foods. Ph.D. Lecture Note, Addis Ababa University, College of Veterinary Medicine and Agriculture, Debre Zeit, Ethiopia. pp.1- 11.
- **Pavela, R., (2006).** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Pharmacol*. Vol 76, 699 p.
- **Perez-Chabela ML, Mateo-Oyague J (2004).** Frozen meat: Quality and shelf life. In: Handbook of Frozen foods. Hui YH, P Cornillon, IG Legaretta, MH Lim, KD Murrell, Kit Nip W (Eds.), Marcel Dekker Inc. New York, USA.

- **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. & Roura S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*36, pp.679- 684. *J.Soc.Alger.Chim.*, 2011, vol 21(1), 25-33. *Journal de la Société Algérienne de Chimie* 25.
- **Prescott M, et al. (2003).** Subunit gamma-green fluorescent protein fusions are functionally incorporated into mitochondrial F1F0-ATP synthase, arguing against a rigid cap structure at the top of F1. *J Biol Chem*, vol 278(1), 251 p.

## Q

- **Quezel P. et Santa, S., (1963).** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. CNRS. Paris. 361 p.

## R

- **Rahman SF (1999).** Food preservation by freezing. In: *Handbook of Food Preservation*. Rahman SF (Ed), Marcel Dekker, NY. 268 p.
- **Rodriguez Vaquero, M.J., Alberto, M.R., Manca de Nadra, M.C. (2007).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, vol 18 101 p.
- **Rozman L, Kalinovic I, Korunic Z. (2007).** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* Vol 43, 355 p.
- **Rosmini MR, Perez-Alvarez JA, Fernandez Lopez J (2004).** Operational Processes for Frozen Red meat. In: *Handbook of frozen foods*. Hui YH, P Cornillon, IG Legaretta, MH Lim, KD Murrell and W Kit Nip, (Eds.) Marcel Dekker Inc. NY. pp: 177-179.

## S

- **Salifou A., Boko K., Ahounou G.S., Tougan P.U., Kassa S.K., HOUAGA I., FAROUGOU S., Mensah G.A., Clinquart A. et Youssao A.K.I. (2013a).** Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs *Int. J. Biol. Chem. Sci.* Vol 7(3), 1369 p.

- **Salifou A., Youssao A.K., Ahounou G.S., Tougan P.U., Farougou S., Mensah G.A. et Clinquart A. (2013b).** Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine Ann. Méd. Vêt., 157 p.
- **Schauenberg O. and Paris F., (1977).** Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, C T.
- **Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K.L., Houser, T.A. (2005).** Comparison of a Natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*. Vol 69, 296 p.
- **Sentandreu M., Coulis G. and Ouali A. (2002).** Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness Trends in Food Science & Technology, vol 13, 421 p.
- **Smith T.P., Casas E., Rexroad C.E. III, Kappes S.M. and Keele J.W. (2000).** BovineCAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. *Journal of Animal Science*, vol 78(10), 2594 p.
- **Sotelo-Félix JI, Martinez-Fong D, Muriel P, Santillán RL, Castillo D, Yahuaca P.,(2002).** Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis (Lamiaceae)* in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *J. Ethnopharmacol.* Vol 81, 145 p.
- **Sultana B., Anwar F. and Ashraf .A (2009).** Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts *Molecules* vol 14, 2180 p; doi:10.3390/molecules14062167.

## T

- **Traboulci, A.F., Taoubik., el-Haj, S., Bessiere, J.M., Rammal, S., (2002).** Insecticidal properties of essential oils against the Mosquito *Culex pipiens molestus*. *Post. Mange. Sci.* vol 58, 491 p.
- **Trojan Technologies, (2019).** <https://www.trojanuv.com/fr/uv-basics> Introduction à la méthode de désinfection par les UV - TrojanUV – FR.
- **Trosko J.E. (2016).** Evolution of microbial quorum sensing to human global quorum sensing: an insight into how gap junctional intercellular communication might be linked to the global metabolic disease crisis. *Biology (Basel)* vol 5, 29 p.

- **Turgis M., Han J., Caillet S., et al (2009).** Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control*, vol 20, 1073 p.

## V

- **Vierling E, (2003).** Les viandes dans l'aliment et boissons. CRDP. France. 170 p.
- **Visioli, F., Borsani, L., Galli, C. (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research*, vol 47, 425 p.

## W

- **Waksmundzka- Hajnos, M., Sherma, J. (2011).** High Performance Liquid .Characklis, W.G., Marshall, K.C. (1990). Biofilms. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y Chromatography in Phytochemical science. *Chromatographic Science Serie.* 478 p.
- **Wang. (2008).** «Régulation of Primate Trophoblast Lineage Differentiation Insights Learned from plants Embryonic Stem Cells.
- **Williams, D. G., (1996).** The Chemistry of Essential Oils: An Introduction for Aromatherapists, Beauticians, Retailers& Studentss (0th Edition ed.): Micelle Pr (October 1, 1996).

## Y

- **Yamamoto J, Yamada K, Naemura A, Yamashita T, Arai R., (2005).** Testing various herbs for antithrombotic effect. *Nutri.* Vol 21,587 p.
- **Yesil Celiktas, O, Bedir, Erdal & Fazilet, vardar-sukan. (2007).** *In vitro* antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chemistry.* 101. 1457-1464. 10.1016/j.foodchem.2006.03.055.

## Z

- **Zhou GH, Xu XL, Liu Y (2010).** Preservation technologies for fresh meat- A review. *Meat Sci* vol 86, 128 p.

# **Annexes**

## Annexes

### Milieux de cultures

#### 1. Gélose PCA

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée

Tryptone.....	5.0
Extrait autolytique de levure .....	2.5
Glucose.....	1.0
Agar agar.....	15.0

pH final à 25°C : 7,0 ± 0.2.

La gélose PCA (Plate Count Agar) est un milieu recommandé pour le dénombrement standardisé des bactéries dans les produits laitiers et les aliments, l'eau et aussi pour les produits cosmétiques ou pharmaceutiques.

#### 2. Gélose King A

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée

Peptone.....	20,0
Sulfate de potassium .....	10, 0
Chlorure de magnésium.....	1,4
Agar .....	15, 0

pH final à 25°C : 7,2 ± 0.2.

Elle est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas*.

#### 3. Gélose VRBL

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée

Extrait de levure.....	3,0
Peptone .....	7,0
Chlorure de sodium .....	5,0
Sels biliaires n°3 .....	1,5
Lactose.....	10,0

Rouge neutre..... 0,03  
Cristal violet ..... 0,002  
Agar..... 12,0  
pH final à 25°C : 7,4 ± 0.2.

Recommandée pour la recherche des coliformes dans les aliments et les produits laitiers.

#### **4. Gélose Chapman**

Composition en grammes pour la préparation d'un litre de milieu.

Peptone :.....10,0  
Extrait de viande de bœuf :.....1,0  
Chlorure de sodium :.....75,0  
Mannitol :.....10,0  
Rouge de phénol :.....0,025  
Agar-Agar:.....15,0  
pH final à 25°C : 7,4 ± 0.2.

La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries fermentant le mannitol. Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus*.

#### **5. Milieu Muller Hinton**

Infusion de viande :..... 2,0 g.  
• Hydrolysat acide de caséine :..... 17,5 g.  
• Amidon soluble: 1, 5. Agar agar:..... 17,0 g.  
• PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

Pour préparer ce milieu, il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans un litre d' eau distillé.