



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

N° ...../SNV/2019

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

M<sup>lle</sup> Mokhtar Djamilia

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

**Spécialité** CONTRÔLE DE LA 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 : 11/07/2019

Devant le Jury

<b>Président</b>	: M. SELSLET-ATTOU.G	<b>Professeur</b>	U. Mostaganem
<b>Encadreur</b>	: M. AIT SAADA. D	<b>MCA</b>	U. Mostaganem
<b>Examinatrice</b>	: Mme. AIT CHABANE .O	<b>MCB</b>	U. Mostaganem
<b>Examineur</b>	: M. BEKADA .A.M.A	<b>Professeur</b>	CU de Tissemsilet
<b>Invité</b>	: Melle. BABADJI. K	<b>Doctorante</b>	U. Mostaganem

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

Année universitaire : 2018 – 2019.

## Remerciements

Au terme de cette étude, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude à :

-M SELSLET -ATTOU.G , Professeur à l'université de Mostaganem, pour m'avoir honoré par sa présence et d'avoir accepté de présider et de juger cette modeste étude.

-Mme AIT CHABANE .O, MCB à l'université de Mostaganem d'avoir accepté d'examiner mon travail. Ses remarques et critiques seront certainement très bénéfiques ; merci.

-M BEKADA.AHMED , Professeur au centre universitaire de Tissemsilt, à titre d'enseignant spécialiste en microbiologie pour ses orientations éclairées et d'avoir accepté de juger en qualité d'examineur cette étude.

Un grand merci s'adresse également dans la même ligne de conduite à Melle BABADJI .K, pour ses conseils et aides inestimés.

Il m'est difficile d'exprimer en quelques mots toute ma reconnaissance et considération à M Ait Saada Djamel, MCA à l'université de Mostaganem, pour ses conseils et ses critiques, qui a eu l'amabilité de m'encadrer sur le sujet .Ses conseils et critiques m'ont fait progresser énormément dans le domaine de la recherche .Je vous exprime travers cet ouvrage l'expression de ma sincère gratitude.

Enfin, je remercie toutes les personnes que j'ai côtoyées et qui ont contribué de loin ou de près à l'avancement de mon mémoire, mes enseignants et collègues, ainsi que le personnel administratif et technique.

*"Les vrais hommes de progrès sont ceux qui ont pour point  
de départ un respect profond du passé."*

*Ernest Renan*

## **DEDICACE**

A mes parents, en signe de reconnaissance pour  
leurs encouragements et surtout pour leurs sacrifices

dont le fruit est ce travail

Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude.

## Résumé

Cette présente étude a pour objectif d'évaluer l'effet antimicrobien des extraits hydroéthanoliques de *Rosmarinus officinalis* L. vis-à-vis de certains germes de contamination de la viande ovine lors de sa conservation au froid à 4°C. L'extraction des composés bioactifs phénoliques de la plante a été réalisée par macération avec de l'éthanol ; l'extrait pur récupéré après évaporation du solvant a été ensuite dilué à l'eau distillée stérile à raison de 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement. Des échantillons de gigot de viande ovine de race Ouled Djellel provenant de la région de Bougtob wilaya d'El Bayadh ont été prélevés aseptiquement des carcasses d'animaux après ressuyage de 18 heures à 4°C. Des lots de 3 morceaux de viande ont été constitués et entreposés individuellement dans une barquette en polystyrène. Chaque lot a été traité au 1<sup>er</sup> jour avec l'une des concentrations d'extrait préparées comme préalablement. Le suivi du comportement microbiologique de la viande traitée ou non à l'extrait hydroéthanolique de romarin au cours du stockage des échantillons à 4°C a été effectuée sur le dénombrement des germes totaux à 30°C, les *Staphylococcus aureus*, les *Pseudomonas*, la flore psychrotrophe et les coliformes thermotolérants. Les résultats ont été traités par une analyse de variance monofactorielle et une comparaison des moyennes.

D'une façon générale, le niveau de contamination aux germes étudiés dans la viande traitée à l'extrait éthanolique aqueux s'avère nettement plus faible ( $P < 0,01$ ) par comparaison à la viande témoin, sans traitement à l'extrait de la plante. L'amélioration de la qualité microbiologique de la viande semble proportionnelle aux concentrations d'extrait de romarin ajoutées comme additif au 1<sup>er</sup> jour.

Ainsi l'extrait de l'espèce végétale *Rosmarinus officinalis* riche en composés phénoliques a montré un réel pouvoir antimicrobien vis-à-vis de quelques germes responsables de la contamination de la viande et semble prolonger de 3 jours sa durée de stockage à 4°C. Cet extrait peut sans doute se substituer efficacement aux additifs de synthèses utilisées à l'échelle industrielle.

**Mots clé:** *Rosmarinus officinalis* ; viande ovine ; polyphénols ; antimicrobien ; conservation.

## Abstract

The objective of the current study was to evaluate the antimicrobial activity of hydro-ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. against some meat alteration microorganisms during storage at 4°C. The phenolic extraction was conducted with ethanol, then different concentrations were prepared 20, 40, 60, 80 and 100%. Samples of Ouled Djellel lambs from El Bayadh were aseptically removed from animal carcasses after drying for 18 hours at 4 ° C. Each batch, composed of 3 pieces of meat, was stored in a polystyrene tray and treated with one to the previous concentrations of Rosemarinus extract. Enumeration of total germs, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, Psychrotrophic and thermotolerant coliforms was done for the microbiological analysis. According to the results, treated meat was less contaminated in comparison to the control ( $P < 0,01$ ). The microbiological quality of meat was improved with the increasing concentrations of Rosemarinus extract. *Rosmarinus officinalis* L. has extended the storage of meat to three extra days at 4°C. This extract can probably be an effective substitute for synthetic additives used in industries.

**Keywords :** *Rosmarinus officinalis* ; lamb; polyphenols; antimicrobial ; storage.

## ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير المضاد للميكروبات من طرف المستخلصات المائية الإيثانولية لنبات إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) وذلك فيما يتعلق ببعض الجراثيم المسؤولة عن تلوث لحوم الأغنام أثناء تخزينها في درجة حرارة عند 4 درجة مئوية. تم استخلاص المركبات الفينولية ذات النشاط الحيوي عن طريق نقع النبات في الإيثانول بعدها تم تخفيف المستخلص المتحصل عليه بالماء المقطر بعد عملية تبخيره عند 20, 40, 60, 80 و 100 % على التوالي. عينات من ساق لحم الغنم من فصيلة أولاد جلال من منطقة بوقطب ولاية البيض. مباشرة بعد عملية تجفيفها لمدة 18 ساعة في درجة حرارة 4 درجة مئوية. تم وضع كل قطعة لحم منفردة في علب من البوليسترين. و معالجتها في اليوم الأول بإحدى تركيزات المستخلص المعدة تم تكرار العملية ثلاث مرات. تم رصد السلوك الميكروبيولوجي للحوم المعالجة أو غير المعالجة من طرف المستخلص الهدروإيثانولي لإكليل الجبل. أثناء تخزين العينات عند 4 درجة مئوية تم متابعة تعداد كل من الجراثيم الكلية التي تنمو في 30 درجة مئوية، الجرثومة القولونية، بكتيريا *Pseudomonas*، *Staphylococcus aureus* و *flore psychrotrophe*. تمت معالجة النتائج عن طريق دراسة إحصائية لمتغير واحد.

بشكل عام، كان مستوى التلوث بالجراثيم التي تمت دراستها في اللحوم المعالجة بمستخلص الهدروإيثانولي أقل بشكل ملحوظ ( $P > 0,01$ ) مقارنة باللحوم الغير معالجة بالمستخلص. يبدو التحسن في الجودة الميكروبيولوجية للحوم متناسقاً مع تركيزات مستخلص إكليل الجبل المضاف خلال اليوم الأول.

هكذا فإن مستخلص الأنواع النباتية *Rosmarinus officinalis* الغني بالمركبات الفينولية قد أظهر تأثيراً حقيقياً مضاداً للميكروبات تجاه بعض الجراثيم المسؤولة عن تلوث اللحوم ويبدو أنه مدد بـ 3 أيام مدة صلاحيته عند 4 درجات مئوية. يمكن أن يكون هذا المستخلص بديلاً فعالاً عن المضافات الاصطناعية المستخدمة على نطاق صناعي.

**كلمات مفتاحية :** *Rosmarinus officinalis* ، لحم الغنم، البوليفينول، مضادات الميكروبات ، الحفظ

## Liste des abréviations :

**V.E** : Valeur énergétique.

**M.G** : Matière grasse.

**Mcg** : Microgramme.

**pH** : Potentiel hydrogène.

**pHi** : Potentiel hydrogène isoélectrique

**ATP** : Adénosine triphosphate

**UFC** : Unité formant colonie.

**p** : Seuil de probabilité.

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

**PCA** : Plate Count Agar.

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

## Liste des figures :

<b>Figure 1.</b> Organisation générale du muscle.....	3
<b>Figure 2.</b> Structure d'un sarcomère observé en microscopie électronique (en haut) et schématisé (en bas).....	4
<b>Figure 3.</b> Evolution de la dureté du muscle <i>post mortem</i> au cours du temps.....	7
<b>Figure 4.</b> Quelques bactéries pathogènes responsables de la Toxi-infections et des maladies infectieuses.....	13
<b>Figure 5.</b> Fleurs et feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	17
<b>Figure 6.</b> Structures chimiques des principaux composés du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	19
<b>Figure 7.</b> Aspect de <i>Rosmarinus officinalis</i> après l'opération de séchage.....	26
<b>Figure 8.</b> Etape d'extraction des composés bioactifs du <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	29
<b>Figure 9.</b> Préparation des différentes solutions expérimentales.....	30
<b>Figure 10.</b> Concentrations de l'extrait hydro-éthanolique à base de composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	30
<b>Figure 11.</b> Colonies de <i>staphylococcus aureus</i> .....	40
<b>Figure 12.</b> Catalase positif.....	40

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1.</b> Composition nutritionnelle de viande de certaines espèces animales (/100g).....	5
<b>Tableau 2.</b> Temps d'attendrissage pour différentes espèces.....	10
<b>Tableau 3.</b> Quelques variétés de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	18
<b>Tableau 4.</b> Constituants chimiques du <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	20
<b>Tableau 5.</b> Solvants, réactifs et milieux utilisés.....	28
<b>Tableau 6.</b> Effet des concentrations d'extrait éthanolique a base de composés phénoliques de romarin sur l'évolution du nombre de germes totaux (UFC/g) des viandes traitées.....	36
<b>Tableau 7.</b> Effet des concentrations d'extrait éthanolique de romarin sur le niveau de contamination des viandes aux coliformes thermotolérants(UFC/g).....	38
<b>Tableau 8.</b> Effet des concentrations d'extrait éthanolique a base de composés phénoliques de romarin sur l'évolution du nombre de <i>Pseudomonas</i> (UFC/g) des viandes traitées.....	39
<b>Tableau 9.</b> Effet des concentrations d'extrait éthanolique de romarin sur le niveau de contamination des viandes aux <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g).....	41
<b>Tableau 10.</b> Effet des concentrations d'extrait éthanolique a base de composés phénoliques de romarin sur l'évolution du nombre de la flore psychrotrophe (UFC/g) des viandes traitées.....	42

# Table des matières

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b> .....	01

## Partie 01 : Etude bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur la viande

1- Structure de la viande .....	03
2- Composition de la viande .....	04
3- Phase de la transformation du muscle en viande après l'abattage.....	06
3.1. Etat pantelant .....	06
3.2. Etat rigide.....	06
3.3. Etat mûré ....	07
4. Mécanismes impliqués dans le processus de maturation.....	08
4.1. Mécanismes enzymatiques .....	08
4.2 Mécanismes physico-chimiques.....	08
4.2.1 pH.....	08
4.2.2. Température .....	09
4.2.3 Pression osmotique.....	09
4.2.4. Capacité de rétention d'eau .....	10
5. Qualité des viandes.....	10
5.1. Qualité hygiénique.....	11
5.2. Qualité organoleptique .....	11
5.3. Qualité technologique.....	11
6. Impact de la conservation sur la qualité de la viande .....	12
6.1. Flore bactérienne des viandes.....	12
6.1.1. Flore bactérienne saprophyte .....	12
6.1.2. Flore bactérienne pathogène .....	12
6.2. Altérations de la viande .....	12
6.2. Froid et durée de vie .....	14

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

1. Nom et origine .....	16
2. Taxonomie.....	16
3. Caractéristiques botaniques.....	16

3.1. Appareil végétatif .....	16
3.2. Appareil reproducteur .....	17
4. Aspects variétaux .....	17
5. Répartition biogéographique et culture .....	18
6. Composition chimique du romarin .....	19
7. Divers utilisations du <i>Rosmarinus</i> .....	20
7.1. Cosmétique .....	21
7.2. Médecine .....	21
7.3. Agroalimentaire .....	21
8. Propriétés biologiques des substances bioactives du romarin .....	22
9. Mécanismes impliqués dans l'activité antimicrobienne .....	22
<b>Conclusion</b> .....	24

## Partie 02 : Méthodologie expérimentale

1. Hypothèse et intérêt de l'étude .....	25
1.1. Hypothèse .....	25
1.2. Intérêt de l'étude .....	25
2. Matériels et méthodes .....	25
2.1. Matériels .....	26
2.1.1 Matériels biologique .....	26
a) Romarin .....	26
b) Viande .....	27
2.1.2. Matériel de laboratoire .....	27
2.1.3. Solvants, réactifs et milieux de culture .....	28
2.2. Méthodologie .....	28
2.2.1. Méthode d'extraction .....	28
2.2.2. Stérilisation du matériel .....	29
2.2.3. Préparation des dilutions d'extraits .....	30
2.2.4. Traitement de la viande .....	31
2.2.5. Analyses microbiologiques .....	31
2.2.5.1. Préparation de la solution mère .....	31
2.2.5.2. Préparation des milieux de culture .....	32
2.2.5.3.. Dénombrement des germes totaux à 30°C .....	32
2.2.5.4. Dénombrement des coliformes thermotolérants .....	33
2.2.5.5.. Confirmation de la présence d' <i>E. coli</i> .....	33
2.2.5.6.. Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
2.2.5.7. Dénombrement de <i>Pseudomonas</i> .....	34
2.2.5.8. .Dénombrement de la flore psychrotrophe .....	35
2.2.6. Lecture .....	35
3. Traitement statistique .....	35

## Partie 03 : Résultat et discussion

1. Résultats .....	36
1.1. Germes totaux à 30°C.....	36
1.2. Coliformes thermotolérants .....	37
1.3. <i>Escherichia coli</i> .....	38
1.4. <i>Pseudomonas</i> .....	39
1.5. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
1.6. Flore psychrotrophe.....	42
2. Discussion .....	43
<b>Conclusion générale</b> .....	46
Références bibliographiques	
Annexes	

# **Introduction**

### Introduction :

Actuellement, les tendances du marché alimentaire changent et les consommateurs exigent davantage d'aliments de haute qualité dotés d'attributs frais.

Ainsi, les chercheurs et scientifiques tentent d'ores et déjà de trouver des alternatives efficaces et accessibles à partir de produits naturels. Le développement et l'application de ces produits ayant à la fois des activités antioxydantes et antibactériennes, connaissent de nos jours un regain d'intérêt et jouissent d'une popularité grandissante (Nieto *et al.*, 2018).

La composition variée de la viande en eau et en protéines fait qu'elle est une niche très favorable au développement des microorganismes. De même, la transformation de l'animal vivant en carcasse puis en viande s'accompagne généralement d'une contamination. Il est donc essentiel que des techniques de préservations adéquates soient appliquées pour maintenir sa qualité. Ces méthodes de conservation peuvent être regroupées en trois grandes catégories basées sur le contrôle de la température, de l'humidité et plus directement des processus d'inhibitions (Zhou *et al.*, 2010).

*Rosmarinus officinalis* fait partie de la famille des *Lamiaceae*, c'est une plante vivace à feuilles persistantes avec des feuilles spéculaires parfumées. Il est largement utilisé dans la médecine traditionnelle et les cosmétiques. Il est également 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).

Bien que l'activité biologique d'un extrait de plante dépend des différentes conditions écologiques et géographiques la compréhension du mécanisme d'action de ses extraits bioactifs est la première étape pouvant permettre son utilisation optimale en tant qu'agents antimicrobiens (Tohsirova *et al.*, 2016).

Il semble donc intéressant d'inscrire ce travail dans ce contexte de recherche. Nous nous sommes proposés donc dans cette étude de suivre le comportement microbiologique de la viande ovine de gigot conservée à 4°C

vis-à-vis d'extrait éthanolique aqueux riche en composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* ajouté comme additif à différentes concentrations.

Ce manuscrit est subdivisé en trois parties :

-la première partie, comprend la synthèse bibliographique donnant ainsi une présentation générale du thème étudié ;

-la deuxième partie, concerne une description de la méthodologie expérimentale adoptée ;

- et la troisième partie, est portée sur la critique et la discussion des résultats obtenus.

# **Partie 01:**

## **Etude bibliographique**

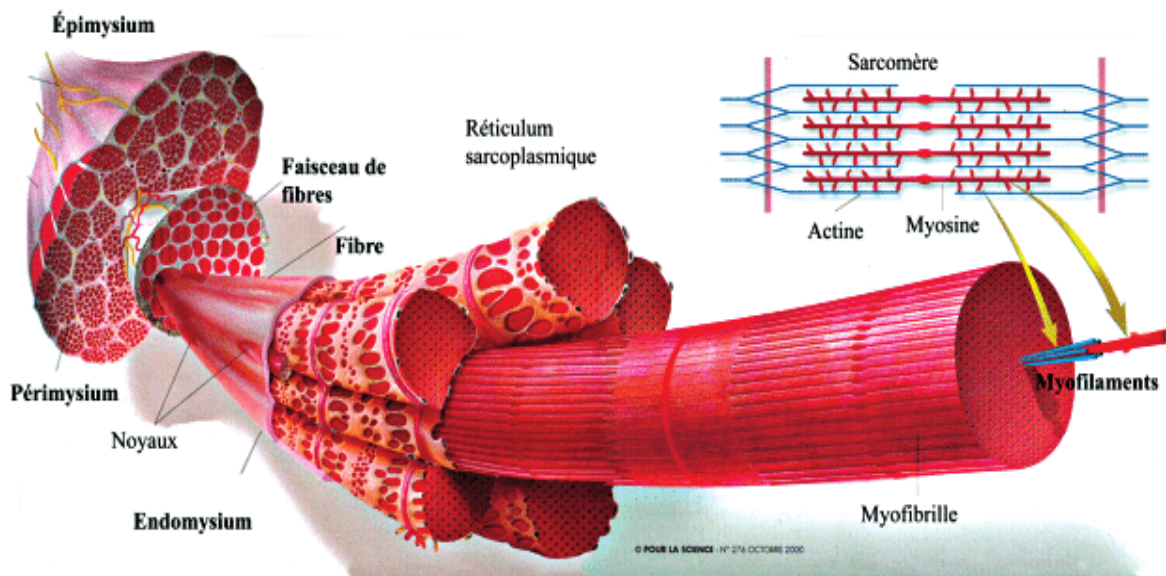
# **Chapitre I:**

## **Généralités sur la viande**

## 1. Structure de la viande

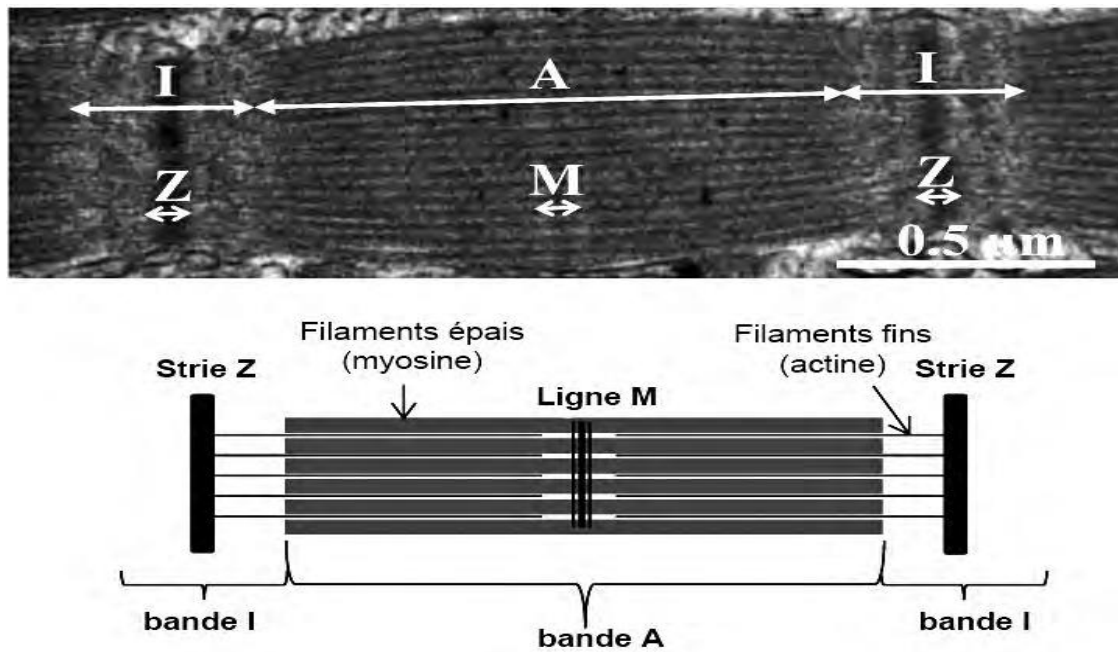
D'après **Listrat et al. (2015)**, sur le plan structural le muscle squelettique est composé de plusieurs milliers de fibres musculaires groupées parallèlement en faisceaux. L'enveloppe qui soutient et protège le tissu musculaire est formée par du tissu conjonctif. Il est distingué ainsi, du centre du 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 1**).

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 1** .Organisation générale du muscle (Pour la Science, n°274, 2000, modifié par Astruc).

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

## 2. Composition de la viande

La viande est une denrée alimentaire riche en protéines. Sa qualité peut être définie par l'ensemble des caractéristiques que lui confèrent ses propriétés organoleptiques, nutritionnelles, hygiéniques et technologiques (Dognon *et al.*, 2018).

Selon Biesalski (2005), de manière générale, la viande est une source importante de plusieurs nutriments. Il est particulièrement riche en protéines de haute valeur biologique, ainsi que de micronutriments comme le fer, le sélénium, le zinc et la vitamine B12 (Tableau 1).

**Tableau 1.** Composition nutritionnelle de viande de certaines espèces animales (/100g)  
(INSA, 2006 ; Pereira et Vicente, 2013).

Type de Viande	V.E (kcal)	Protéine (g)	MG (g)	MG saturée (g)	B12 (mcg)	Na (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)
Poitrine de poulet, sans peau	108	24.1	1.2	0.3	0.37	60	220	0.5	0.8
Poulet, moyen	110	22.9	2	0.5	0.72	77	204	0.9	1
Bœuf, morceaux de steak	122	20.9	4.3	1.8	2	60	169	1.4	3.6
Bœuf, Filet de veau	148	19.9	7.6	3.2	1.2	24	195	0.9	3
Mouton, côtelette ou viande	124	19.7	5	2.2	2	64	220	1.7	3.8
Dinde, poitrine, sans peau	105	23.4	1.3	0.3	1	63	210	0.7	0.6
Dinde, moyenne, sans peau	137	20.5	6.1	2	2	49	210	2	1.6
Viande de canard, moyenne, sans peau	133	19.3	6.2	1.6	3	92	202	2.4	1.9

### 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

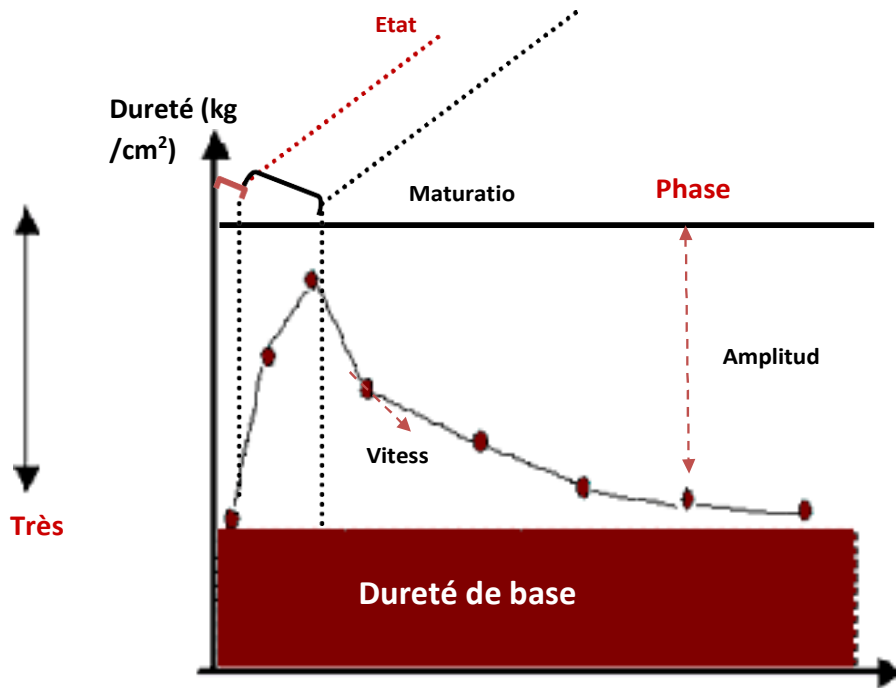
Selon Ouali (1991), juste après l'abattage, l'animal se trouve dans un état pantelant, ce dernier se traduit par des contractions persistantes de la musculature probablement causées par des excitations nerveuses. Sa durée est liée à la durée de survie du système nerveux et n'excède pas 20 à 30 minutes. 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 *Rigor mortis* vient du latin et signifie la rigidité de la mort, l'évolution temporelle de la *rigor mortis* est liée aux modifications du métabolite dans le muscle et son achèvement correspond au point d'épuisement de l'adénosine triphosphate (ATP) (Greaser et 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 aminés 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 3.** Evolution de la dureté du muscle *post mortem* au cours du temps (Ouali ,1991).

### 3.3. Etat mûré

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. Mécanismes impliqués dans le processus de maturation

Plusieurs facteurs biologiques et technologiques sont liés à la maturation du muscle en viande : l'action protéolytique des différents systèmes enzymatiques, la pression osmotique, la force ionique, la modification du pH, et la température de stockage du muscle (**Ouali, 1990**).

La conservation de la viande à basse température est une condition préalable au développement des principales qualités alimentaires, y compris la tendresse et la saveur mais elle a un effet plutôt délétère sur la jutosité et la couleur (**Ouali et al., 2006**). Les mécanismes impliqués dans l'attendrissement de la viande sont des phénomènes enzymatiques et physico-chimiques.

### 4.1. Mécanismes enzymatiques

De multiples protéases endogènes sont impliquées dans le processus de maturation et agissent selon des mécanismes différents de par leur site d'action, ou encore leur régulations (ions, inhibiteur). Les enzymes comme les calpaïnes, des protéases à cystéine dont l'action est régulée par les ions  $\text{Ca}^{2+}$ , leurs inhibiteurs spécifiques et les calpastatines ainsi que les phospholipides.

Plusieurs études ont prouvés ce rôle, certaines vont jusqu'à lui accorder 95% de l'activité protéolytique totale lors de l'attendrissement des viandes au cours de la maturation. Par le rapport calpaïne/calpastatine, le système protéolytique serait donc un bon marqueur de la tendreté (**Guillemin et al., 2009 ; Picard et al., 2010 ; Gicquel, 2016**).

### 4.2. Mécanismes physico-chimiques

#### 4.2.1. PH

Lors du repos le muscle de l'animal vivant à un pH de 7.4, mais juste après la mort, le glycogène musculaire (1% environ) se transforme quantitativement en acide lactique (par un cycle très complexe où l'ATP a un rôle très important). Cette acidité

produite fait baisser le pH aux environs de 5.6. Néanmoins quelle que soit la quantité de glycogène présente dans le muscle, il est impossible de descendre au delà d'un pH de 5.4. À un pH inférieur à celui là, les enzymes glycolytiques sont inhibés (**Ferguson et Gerrard, 2014**).

#### 4.2.2. Température

La relation temps-température pendant le refroidissement de la carcasse (c'est-à-dire pendant le développement de la *rigor*) a un effet profond sur la dureté myofibrillaire. De nombreuses recherches ont été menées sur l'effet de la température du pré-*rigor* sur la sensibilité des muscles et ont trouvé la présence d'un raccourcissement minimum d'environ 10% dans la région entre 15 et 20° C. Ils ont également identifié un raccourcissement de 20 à 40 ° C (jusqu'à 30% de raccourcissement) (**Hertzman et al., 1992**).

Selon **Dransfield (1994)**, le temps de stockage des côtelettes d'agneau est de 7 jours à une température de 1 °C afin d'atteindre 80 % de sa tendreté maximale (**Tableau 2**), alors qu'elle n'atteint que 50 % après 4 jours de stockage. Pour une augmentation de 10 °C, le taux d'attendrissage augmente 2 fois et le temps diminue donc de moitié.

#### 4.2.3. Pression osmotique

La pression osmotique est une caractéristique physiologique importante des tissus des plantes et des animaux. Pendant le *rigor mortis*, à mesure que l'acidification musculaire progresse, des modifications de l'espace extracellulaire se produisent ce qui semble être fortement liés au pH et à sa vitesse de chute. Ces modifications représentées par une augmentation peuvent s'expliquer par une augmentation rapide de la pression osmotique et cela en raison d'un transfert d'ions vers l'espace cellulaire à travers la membrane sarcoplasmique.

La solubilisation des protéines myofibrillaires engendre l'altération des structures contractiles résultat de l'augmentation de la pression osmotique, l'action protéolytique sera réguler et la maturation sera plus rapide dans le muscle (**Bonnet et al., 1992**).

**Tableau 2.** Temps d'attendrissage pour différentes espèces ( **Dransfield, 1994**)

	Le temps (jours) de stockage à 1 °C	
	50 %	80 %
Boeuf	4,3	10,0
Veau	4,1	9,5
Lapin	4,1	9,5
Agneau	3,3	7,7
Porc	1,8	4,2
Poulet	0,1	0,3

#### 4.2.4. Capacité de rétention d'eau

Lors de la phase post mortem de la maturation, le pH chute et se rapproche du point isoélectrique des protéines myofibrillaires ( $\text{pH} = 5$ ). Ce qui va resserrer le réseau protéique myofibrillaire engendrant ainsi une diminution des espaces intra et inter-myofibrillaires et une expulsion de l'eau dans l'espace extracellulaire, puis à l'extérieur de la cellule (**Boakye et Mihal, 1993; Benaissa, 2016**).

### 5. Qualité des viandes

La qualité de la viande prend en compte 4 composantes : la qualité technologique, la qualité organoleptique, la qualité nutritionnelle et la qualité hygiénique, cette dernière composante est essentiellement liée à la santé publique et nécessaire pour la sécurité sanitaire du consommateur. De ce fait, plusieurs aspects doivent être respectés : la viande ne doit contenir aucun résidu toxique, aucun parasite, ni être le siège d'un développement bactérien susceptible de produire des éléments nocifs (**Salifou et al., 2013**).

La qualité de l'agneau est influencée par des facteurs inhérents à l'animal à partir desquels les produits sont dérivés, tels que : l'âge chronologique, le poids à l'abattage, et la race de l'animal (**Hoffman et al., 2002**).

### 5.1. Qualité hygiénique

La viande tout d'abord doit présenter, jusqu'à sa consommation, des caractéristiques microbiologiques précises en plus de l'apport de nutriments ; elle doit préserver la santé du consommateur. A ce titre elle ne doit pas être le siège d'un développement bactérien susceptible de produire des éléments nocifs, ni présenter aucun résidu toxique, ces exigences sont bien évidemment reconnues par la législation (**Touraille, 1994 ; Bennani et al., 2016**).

### 5.2. Qualité organoleptique

D'après **Clinquart et al. (2000)**, elle regroupe les propriétés sensorielles à l'origine des sensations de plaisir lors de leur consommation et qui est déterminée par sa couleur, sa flaveur, sa jutosité et sa tendreté. Lors de son évaluation, tous les sens peuvent être impliqués comme la vue, le goût, l'odeur, le toucher à la main ou dans la bouche.

Ces caractéristiques peuvent être mesurées soit par des évaluations sensorielles, soit par des méthodes instrumentales mesurent ainsi les paramètres physiques et chimiques liés aux caractéristiques organoleptiques.

### 5.3. Qualité technologique

Le pouvoir de rétention d'eau représente l'aptitude de la viande à la conservation et à la transformation. Le pouvoir de rétention d'eau est un paramètre qui influence la rentabilité du secteur de la transformation (perte au cours de la conservation et la cuisson). Le pH influence de façon très importante l'aptitude à la conservation et à la transformation des viandes (**Clinquart et al., 2000**).

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

### 6.1. 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.

#### 6.1.1. Flore bactérienne saprophyte

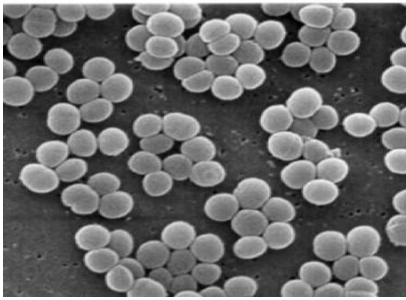
Selon Belco et al. (2017), il y'a une grande possibilité que les germes saprophyte sont transférés lors des différentes étapes de l'abattage comme le dépouillement et l'éviscération, provoquant la putréfaction par sa présence massive, dont *Pseudomonas* et *Acinetobacter* en font parties.

#### 6.1.2. 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).

### 6.2. Altérations de la viande

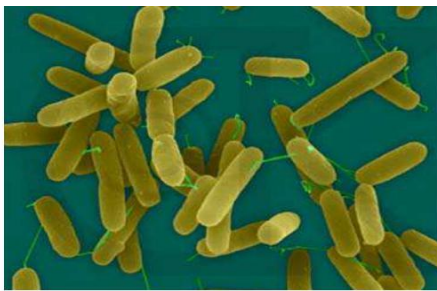
Selon Bouillet et al. (1982), la maturation comme étant un processus complexe entraine la perte de toute résistance organisée aux facteurs d'altération et s'accompagne presque inévitablement de l'action toujours néfaste des micro-organismes. Vu la richesse de la viande en éléments biochimiques fermentescibles, 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 a l'oxydation, acidité, goût désagréable).



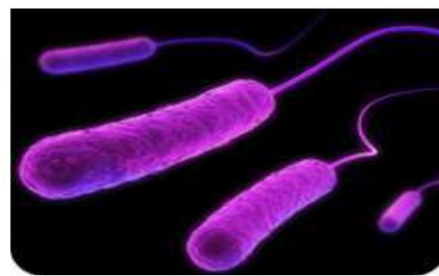
a/ *Staphylococcus aureus*



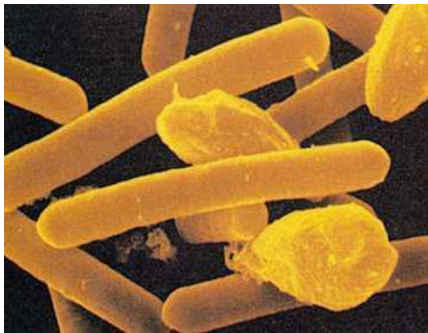
b/ *Salmonella*



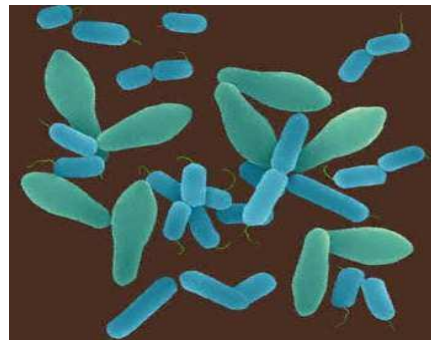
c/ *Pseudomonas aeruginosa*



d/ *E. coli*



e/ *Clostridium botulinum*



f/ *Clostridium perfringens*

**Figure 4.** Quelques bactéries pathogènes responsables de la Toxi-infections et des maladies infectieuses (Salifou et al., 2013).

Pour la réfrigération où la température est voisine de 0°C, elle permet une inhibition plus ou moins importante de l'activité microbienne et cela suivant le type de germe mais aussi un ralentissement plus ou moins intense des réactions chimiques et enzymatiques. Cependant la congélation cristallise les molécules d'eau et réduit encore plus les actions indésirables.

D'après **Salifou et al., (2013)**, il existe plusieurs types d'altérations classés selon la température de conservation. L'altération à basse température (< à 10 °C) en fait partie, c'est une putréfaction superficielle qui parvient par une prolifération lente (une semaine ou plus).

En atmosphère sèche des moisissures et des levures à la surface de la viande (*Aspergillus*, *Thamnidium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Candida*, *Monilia*,) participant aux réactions d'hydrolyse et d'oxydation des lipides. Cependant, des bacilles Gram négatif comme les *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, et *Enterobacteriaceae* envahissent la viande en quelques jours en atmosphère humide, et provoquent des modifications de couleur, d'odeur et l'apparition d'une couche visqueuse à la surface.

### 6.3. Froid et durée de vie

D'après **Rosset et al.(2002)**, les psychrophiles et les psychrotrophes sont adaptés aux températures de réfrigération. Les microorganismes psychrophiles se multiplient à 0°C et ont un optimum de développement de 15°C et leur température maximum de croissance n'excède pas 20°C. Les microorganismes psychrotrophes sont capables de se développer aux températures proches de 0°C; leur optimum se situe entre 25 à 30°C et leur maximum vers 35°C.

Lorsque la température augmente, les microorganismes psychrotrophes sont peu compétitifs avec la flore mésophile qui se développe entre 20 et 45°C avec un optimum moyen à 37°C

Selon **Bouillet et al. (1982)**, avec le refroidissement, les températures minimales doivent être maintenues entre 1° et 4°c car seules les températures inférieures à + 4 °C évitent tout risque de croissance des agents pathogènes et la production de toxines.

La température de  $-18^{\circ}\text{C}$  est nécessaire car les micro-organismes sont progressivement rendus inactifs, mais la destruction n'est jamais totale. La cinétique de la réduction des populations de micro-organismes dépend de sa nature, de la température de stockage (réductions plus intense à  $-12^{\circ}\text{C}$  qu'à  $-18^{\circ}\text{C}$ ) et de la vitesse de congélation (les micro-organismes résistent mieux à la congélation rapide qu'à la congélation lente). Un stockage d'un an à  $-18^{\circ}\text{C}$  détruira 90 à 99% des micro-organismes qui étaient initialement présents dans le produit. Le rôle de l'emballage est important pour éviter la lipolyse superficielle qui s'accompagne d'un brunissement. En outre, la matière grasse peut se détériorer par oxydation. Néanmoins, le stockage réfrigéré ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) des viandes ne doit pas excéder 5 jours (Bornert, 2000).

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

## 1. Nom et origine

Le nom du genre *Rosmarinus* provient du latin *ros* , qui signifie "rosée" ,et *marinus* , qui signifie "littoral" , il n'est donc autre que la " rosée de la mer " . Originaire du sud de l'Europe, il fut importé par les Romains et cultivé en Angleterre (**Santich et Geoff, 2013**).

Largement cultivé dans le Bassin méditerranéen depuis l'antiquité, le romarin s'est développé en France grâce à Charlemagne. Ce dernier a imposé sa culture à tous les paysans. Par la suite il sera connu et célèbre dans l'Europe entière (**Moro Buronzo, 2008**).

## 2. Taxonomie

D'après l'Association Tela Botanica (2011), la systématique botanique de la plante est comme suit :

<b>Ordre :</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille :</b>	<i>Lamiaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
<b>Sous-espèce :</b>	<i>Rosmarinus officinalis subsp. officinalis</i>
<b>Sous-espèce :</b>	<i>Rosmarinus officinalis subsp. palaui</i>

## 3. Caractéristiques botaniques

### 3.1 Appareil végétatif

Dans des conditions appropriées , le buisson peut atteindre une hauteur de 2 m pour une envergure de 1.5 m , ses feuilles , vert foncé côté face et gris argenté côté pile , ainsi mesurant environ 2.5 cm de long pour 3 mm de large , ses fleurs tubulaires labiées sont petites environ 12 mm de long, et portées par de longs épis épais. Les tiges sont ligneuses et coriaces. (**Callery, 1998**).

### 3.2. Appareil reproducteur

De la famille des *Lamiaceae* (= *Labiatae*), les fleurs de *Rosmarinus officinalis* sont enroulées par les bords, vertes et chagrinées à la face supérieure, blanches tomenteuses à la face inférieure. Elles sont regroupées en petites grappes axillaires terminales disposées à l'aisselle des feuilles.

Le calice bilabié a la forme d'une clochette ovale et duveteuse ; il est persistant et comporte une lèvre supérieure formée de 3 sépales et une lèvre inférieure à 2 lobes lancéolés. La corolle est longuement tubuleuse, de 1.2 cm de large, bleu pâle, lilas ou blanche, elle est souvent maculée de petites taches violettes ; la lèvre antérieure elle-même est divisée en 3 lobes dont celui du milieu est large et concave ( **Figure 5**). Le fruit est un tétrakène lisse et globuleux, brun foncé, de 2.3 mm de long. La floraison a lieu de Mai à Juillet (**Teuscher et al., 2005**).



**Figure 5.** Fleurs et feuilles de *Rosmarinus officinalis*.

### 4. Aspects variétaux

Il existe de nombreuses variétés de Romarin plus de 150 dans le monde et 25 variétés en Algérie. Elles se différencient par la couleur de leurs fleurs, la forme de leurs feuilles et leur taille maximale (**Tableau 3**).

**Tableau 3.** Quelques variétés de *Rosmarinus officinalis* d'après **Bremness (2005)**.

Variétés	Nom	Caractéristiques
<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Alba</i> ou <i>Albus</i>	Romarin à fleurs blanches	Fleurs ayant parfois des veines de couleurs lavande, fleurs blanches.
<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Prostratus</i>	Romarin "Prostratus"	Forme rampante, feuilles étroites et fleurs de couleur bleu vif.
<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Severn Sea</i>	Romarin "Severn Sea"	Forme semi rustique recourbée, fleurs bleues tendant vers le violet et feuilles minces.
<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Suffolk Blue</i>	Romarin " <i>Suffolk Blue</i> "	Petites fleurs bilabiées de couleur bleu ciel.
<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Miss Jessop's Upright</i>	Romarin "Miss Jessop's Upright"	Cultivar rustique, idéal pour les haies, croissance verticale, feuillage dense de couleur vert foncé et fleurs pales.
<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Rose de Majorque</i>	Romarin " <i>Rose de Majorque</i> "	Cultivar semi rustique à fleurs roses clair et pales, feuilles vert foncée.
<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Bicarré</i>	Romarin "Bicarré"	Forme variable à feuilles vert foncé et jaune, point dorée et feuilles coriaces.

### 5. Répartition biogéographique et culture

Plante très connue, originaire des régions méditerranéennes et de l'Asie, il est spontané dans les régions du sud de l'Europe. Il est cultivé dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs. Il peut résister aux sécheresses mais il est relativement rustique dans les climats froids où il fleurit toute l'année (Callery, 1998 ; Iserin, 2001).

Les Principales régions de cultures: Les pays méditerranéens ( Espagne ,Portugal , sud de la France , nord de l'Afrique ) , le groupement des Etats Indépendants (Crimée ) , l'Inde ,

les Philippines , les Antilles , l’Afrique du sud , l’Australie , les Etats-Unis et le Mexique ( Teuscher *et al.*, 2005 ).

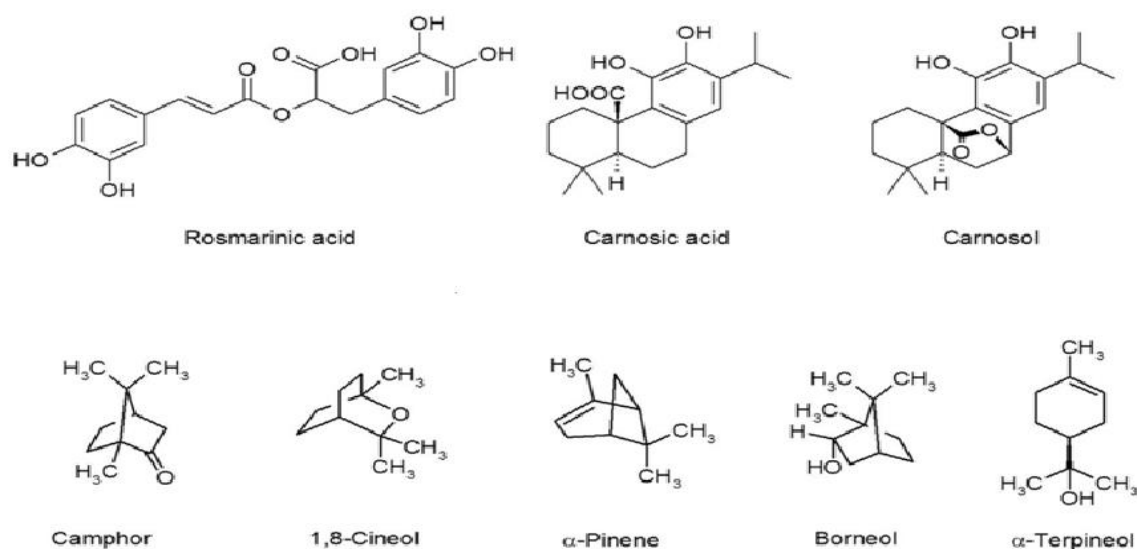
## 6. Composition chimique du romarin

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif (idéal quand le végétal à le maximum d'essence) (Staub et Bayer, 2013 ; Leplat, 2017).

Selon Teuscher *et al.* (2005), les principaux composés rencontrés chez *Rosmarinus officinalis* sont : les huiles essentielles, diterpènes tricycliques, acides phénols, flavones méthylées, triterpènes et stéroïdes et autres constituants (Figure 6, Tableau 4).

Selon Goetz et Ghedira (2012), la pharmacopée française retient deux types de produit (chimiotypes) :

- Type Espagne : 16-25 % de 1,8-cinéole, 18-26 % de  $\alpha$ -pinène, 8-12 % de camphène et 13-18 % de camphre ;
- type Maroc et Tunisie : 38-55 % de 1,8-cinéole, 9-14 % de  $\alpha$ -pinène, 2,5-6 % camphène et 5-15 % de camphre.



**Figure 6.** Structures chimiques des principaux composés du *Rosmarinus officinalis* L.

(Wollinger *et al.*, 2016)

**Tableau 4.** Constituants chimiques du *Rosmarinus officinalis* (Goetz et Ghedira, 2012).

Familles	Constituants
Huile essentielle (1 à 2,5 %).	Camphre, 1,8-cinéole, $\alpha$ -pinène, bornéol, acétate de bornyle, camphène, $\alpha$ -terpinéol, $\beta$ -pinène, $\beta$ -caryophyllène, myrcène...
Diterpènes phénoliques tricycliques.	Acide carnosolique, carnosol, rosmanol, rosmadia...
Flavonoïdes.	Hétérosides de la lutéoline, de la diosmétine - Flavones méthoxylées : genkwanine et dérivés, cirsimaritine, scutellaréine.
Acides phénols (3,5 %) = « tanins des Labiées ».	Acide caféique, chlorogénique, rosmarinique.
Triterpènes, stéroïdes.	Acide oléanolique (10 %), dérivés de l'acide ursolique et $\alpha$ - et $\beta$ -amyrine (5 %).
Lipides (cuticule cireuse des jeunes feuilles).	n-alcanes, isoalcanes, alcènes.
Constituants divers.	Polysaccharides acides (6 %), traces de salicylate.

### 7. Diverses utilisations de *Rosmarinus officinalis* L.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une plante d'une importance considérable par son utilisation dans divers domaines. Les herbes de romarin ont été largement utilisées dans la médecine traditionnelle et cosmétique. Ils sont également utilisés comme agents aromatisants dans les aliments (Bousbia *et al.*, 2009)

D'après Wollinger *et al.*(2016), les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* sont également d'une grande importance qui est traduite par ses nombreuses utilisations médicinales dues à ses puissantes propriétés antibactériennes, cytotoxiques, antimutagènes, antioxydantes et antiphlogistiques.

### 7.1. Cosmétique

L'extrait des feuilles est largement utilisé dans les cosmétiques, il entre dans la composition de plusieurs produits tels que les savons, les détergents, les shampoings antipelliculaires, les crèmes, les lotions et les parfums (en particulier les eaux de Cologne et les eaux de toilette). Le niveau d'utilisation maximal signalé est de 1% (**Bremness, 2005 ; Y Leung et Foster, 2010**).

### 7.2. Médecine

Au Maghreb, son utilisation comme remède remonte à bien longtemps, le romarin est une plante condiment qui a le mérite de guérir beaucoup de maux, c'est un antiseptique, cholérétique, cholagogue et antispasmodique (**Baba Aïssa, 1990**). La plante est également utilisée en usage externe comme cicatrisant, antirhumatismal et antinévralgique (**Fabre et al., 1992**).

### 7.3. Agroalimentaire

Les feuilles et extraits de romarin sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Ils servent d'antioxydant et de conservateur dans la viande et les produits à base de viande et les produits alimentaires riches en graisses (**Teuscher et al., 2005**). Il est utilisé dans les boissons alcoolisées et non alcoolisées, les desserts glacés à base de produits laitiers, les bonbons, les produits de boulangerie, les gélatines et les puddings, , ainsi que les condiments (**Y Leung et Foster, 2010**)

Le romarin est inscrit au Codex alimentarius par le code SIN 392, et classé comme un antioxydant. L'extrait de *Rosmarinus* est autorisé depuis 2010 dans l'Union Européenne et est ajouté dans : des huiles de poisson, des matières grasses et huiles attribuées à la friture (hormis l'huile d'olive), des graisses de volaille, bœuf et mouton, certaines matières grasses, des produits de boulangerie fine, des sauces,...etc.

## 8. Propriétés biologiques des substances bioactives du romarin

Selon **Ochoa et al. (2017)**, le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une plante à forte teneur en composés bioactifs ayant différentes activités pharmacologiques, notamment antimicrobiennes, diurétique, anti-inflammatoire, hépato protecteur, antioxydant, anticancéreux, antidiabétiques et anti-obésité. De nombreuses études ont montré que la majorité de ces activités biologiques sont liés

principalement aux composés phénoliques. Les activités antioxydants et anticancéreuses ont été liées à la présence de diterpènes de type abiétan, tels que l'acide carnosique ou carnosol ainsi que des triterpènes, des acides phénoliques et des flavonoïdes.

Selon **Jannavi et Srinivasan (2016)**, l'extrait de romarin a une activité antioxydante importante, provenant principalement de deux composants antioxydants essentiels appartenant aux classes des acides phénoliques, des flavonoïdes et des diterpénoïdes, à savoir le carnosol et l'acide carnosique. L'acide rosmarinique, un dérivé de l'acide caféique, et l'acide hydroxy-hydrocaféique ont démontré une forte activité antioxydante.

Les principaux constituants responsables de l'activité pharmacologique sont : le 1,8-cinéole (52,2%), le camphre (15,2%) et l' $\alpha$ -pinène (12,4%). Au cours des dernières années, plusieurs travaux ont démontré l'activité antiproliférative des composés phénoliques du romarin dans différents modèles de cellules cancéreuses, comme dans le cancer de la prostate, neuroblastome, cancer colorectal ou cancer de l'ovaire (**Ochoa et al., 2017**).

*Rosmarinus* est une source très riche en substances bioactives dotées d'activité antimicrobienne telles que carnosol, acid carnosique, methyl carnosate, acide rosmarinique et isorhamnetin-3-O-hexoside. Ces composés phénoliques sont de fort antibactériens. Les huiles essentielles du romarin ont aussi montré une bonne activité antimicrobienne, il a été démontré que  $\alpha$ -pinène exerce une bonne inhibition vis-à-vis *Staphylococcus aureus* (**Amar et al., 2017**).

## 9. Mécanismes impliqués dans l'activité antimicrobienne

Le mécanisme impliqué dans l'activité antimicrobienne n'est pas encore élucidé, mais il a été suggéré que la structure lipophile de ces composés leur permet de s'insérer dans la membrane bactérienne où leur groupe donneur de liaison hydrogène pourraient interagir avec les groupes phosphorylés de la membrane. L'acide carnosique joue le rôle de modulateur du flux de bromure d'éthidium, responsable de la perméabilité de la membrane (**Birtic et al., 2015**).

Selon **Burt (2004)**, les propriétés antibactériennes des huiles essentielles sont associées à leur caractère lipophile et leur groupe fonctionnel. Ainsi les huiles essentielles interagissent avec les processus associés à la bicouche phospholipidique, y compris le transport d'électrons, ions, translocation des protéines, phosphorylation et d'autres réactions dépendant de l'enzyme, entraînant une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire des bactéries. Il est suggéré que les bactéries Gram (-) sont plus résistantes aux propriétés antibactériennes des composés des huiles essentielles que les bactéries Gram (+) parce qu'elles ont un effet externe sur la paroi lipopolysaccharidique entourant le peptidoglycane, ce qui limite l'accès de ces composés. Cependant, les composés hydrophobes des huiles essentielles sont capable d'atteindre le périplasme de bactéries Gram (-) par les protéines situées dans la membrane externe.

**Jiang et al. (2011)**, ont confirmé l'action inhibitrice des huiles essentielles contre trois bactéries à Gram positif (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*), trois bactéries à Gram négatif (*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*) et deux champignons (*Candida albicans* et *Aspergillus niger*). Le 1,8-cinéole et le-pinène ont montré une activité antibactérienne et une activité antifongique prononcée contre tous les microbes testés.

# **Conclusion**

## Conclusion :

Toute méthode de conservation a pour objectif d'empêcher l'altération des produits au cours de la conservation et de préserver sa qualité organoleptique, microbiologique et nutritionnelle.

Cette synthèse bibliographique nous a révélé que les découvertes scientifiques des principaux composés bioactifs des plantes ne cessent d'être exploitées remarquablement dans l'industrie agroalimentaire et s'intègrent pleinement avec les nouvelles techniques de conservation en permettant de prolonger encore plus les durées de stockage des denrées alimentaires, tout en évitant l'usage des additifs chimiques à effets néfastes pour la santé.

Il semble évident que l'utilisation potentielle de différents composés bioactifs des végétaux pour réduire ou maîtriser la présence d'agents pathogènes microbiens dans certains produits alimentaires tels que la viande peut constituer une alternative intéressante à l'utilisation de certains additifs tels les nitrates et les nitrites , dont plusieurs auteurs (**DellaValle et al.,2014** ; **Oostindjer et al.,2014** ; **Cantwell et Elliott ,2017**) s'accordent à dire qu'ils sont le plus responsables du cancer colorectal .

Apparemment, les extraits du *Rosmarinus officinalis* peuvent non seulement favoriser la bonne conservation de la viande par leurs actions antioxydantes et antimicrobiennes, mais peuvent aussi améliorer sensiblement sa qualité diététique.

# **Partie 02:**

## **Méthodologie expérimentale**

## **1. Hypothèse et intérêt de l'étude**

### **1.1. Hypothèse**

De nombreuses études *in vitro* menées sur les composés phénoliques ont confirmés qu'ils peuvent agir comme agents antimicrobiens contre un grand nombre de microorganismes pathogènes, avec des spectres d'activités variables. Le romarin est une plante très riche en ces composés bioactifs capables donc d'inhiber la flore microbienne de la viande conservée à 4°C en augmentant ainsi sa durée de stockage.

### **1.2. Intérêt de l'étude**

L'utilisation d'extraits bioactifs des plantes médicinales constitue un domaine très intéressant où les efforts de recherche et de développement devraient être orientés sur les processus de transformation et de conservation susceptibles de mieux garder la qualité des aliments et prolonger leurs durées de conservation.

L'objectif de ce travail consiste donc à déterminer l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques de romarin vis-à-vis de l'évolution de la flore microbienne de la viande ovine lors de la conservation à 4°C.

## **2. Matériels et méthodes**

Cette étude a été menée au niveau du laboratoire de technologie alimentaire et nutrition sise au site II (ex : INES de chimie) relevant de l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

## 2.1. Matériels

### 2.1.1. Matériels biologiques

#### a) Romarin

Les échantillons de *Rosmarinus officinalis* L. ont été collectés à la floraison au mois de Mars au niveau du djebel morghad situé à Ain Sefra au sud-ouest de l'Algérie. Située à 32° 45' 20" latitude nord et à 0° 35' 09" de longitude ouest de Greenwich.

Les sommités, feuilles et tige fraîches de la plante ont été récoltés et transportés dans des sacs de jute à 25°C au laboratoire pour analyse et usages antérieurs. Les échantillons arrivés au laboratoire ont été séchés à température ambiante à l'air libre, puis stockées à l'ombre et à l'abri de la lumière (**Figure 7**).



**Figure 7.** Aspect de *Rosmarinus officinalis* après l'opération de séchage.

## **b) Viande**

L'étude a porté sur l'une des viandes rouges la plus consommée par la population Algérienne a savoir la viande ovine provenant des hauts plateaux, de la région de Bougtob wilaya d'El Bayadh (34°1'60" N, 0°4'60" E).

Après le sacrifice les carcasses d'animaux ont été immédiatement entreposées au froid à 4°C dans une chambre froide pendant une durée de ressuyage de 18 heures. Les prélèvements de la viande ont concerné uniquement la partie gigot des ovins entreposés chez le boucher. Une prise de 3,6 kg de gigot a été ensuite effectuée aléatoirement d'une carcasse d'animaux ressuyée, puis découpée aseptiquement en 18 morceaux de 200 g.

Les échantillons de viande ont été enfin déposés dans un sachet stérile et transporté dans une enceinte froide au laboratoire où chaque morceau de 200 g de viande est placé selon les bonnes pratiques de manipulation dans une barquette de polystyrène.

### **2.1.2. Matériel de laboratoire**

Le matériel utilisé dans cette étude à concerné :

- Trois étuves réglées à différentes températures (30°C, 37°C, et 44°C) ;
- Un rota vapeur ;
- Pompe à vide ;
- Plaque chauffante avec agitation ;
- Vortex ;
- Balance électronique de précision ;
- Autoclave ;
- bain-marie ;
- Micropipette ;
- Autres matériel : sachets stomacher, ciseaux, bec Bunsen, papiers filtres, papiers aluminium, spatules et boîtes de Pétri ;
- Verrerie : flacons, pipettes, béchers, tubes et erlenmeyers.

### 2.1.3. Solvants, réactifs et milieux de culture

Les produits utilisés dans l'étude figurent dans le (Tableau 5).

**Tableau 5.** Solvants, réactifs et milieux utilisés.

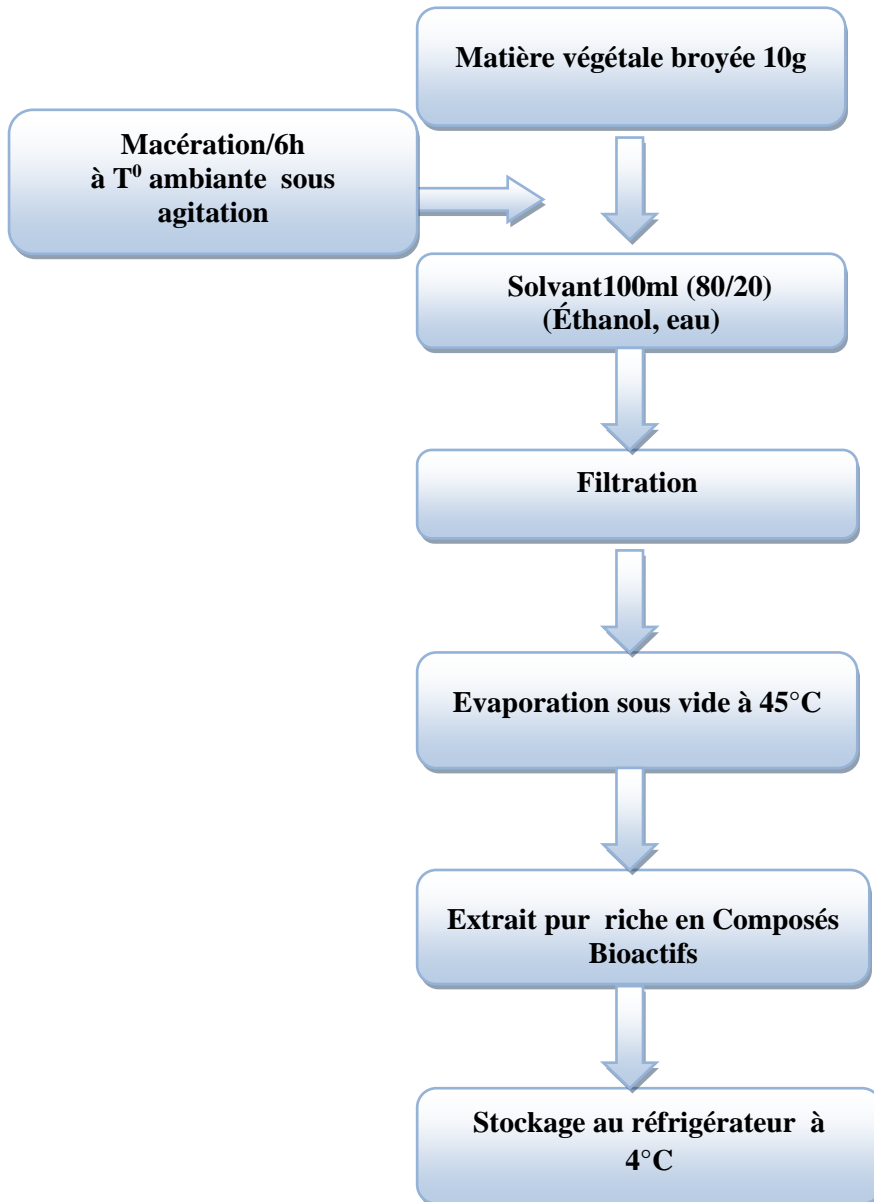
Réactifs	Produits	Utilisations
	Ethanol	Extraction des composés phénoliques.
	Eau distillée	Préparation de l'eau physiologique.
	NaCl	Préparation de l'eau physiologique.
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Test de catalase.
	Plasma humain dans des tubes à hémolyse	Détermination de la coagulase de <i>Staphylococcus aureus</i> .
	Kovac	Mise en évidence de la production d'indole par les <i>E. coli</i> .
Milieux utilisés	Milieu Chapman	Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .
	Milieu PCA	Recherche et dénombrement de la flore psychrotrophe.
	Bouillon nutritif	Test de coagulase.
	Bouillon Schubert muni d'une cloche de Durham	Confirmation de la présence d' <i>E. coli</i> .
	Milieu PCA	Recherche et dénombrement des germes totaux.
	Milieu VRBL	Recherche et dénombrement des coliformes thermo-tolérants.
	Milieu King A	Recherche et dénombrement de <i>Pseudomonas</i> .

## 2.2. Méthodologie

### 2.2.1. Méthode d'extraction

Selon la méthode de **Sultana et al., (2009)** 10 g de poudre du romarin est mise en macération dans le solvant d'extraction (eau distillée 20 ml et éthanol 80

ml). 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 (**Figure 8**). L'extrait concentré riche en composés phénoliques bioactifs récupéré a été enfin conservé au réfrigérateur (4°C) pour une utilisation ultérieure.



**Figure 8.** Etape d'extraction des composés bioactifs du *Rosmarinus officinalis*. selon le protocole de (Sultana et al., 2009).

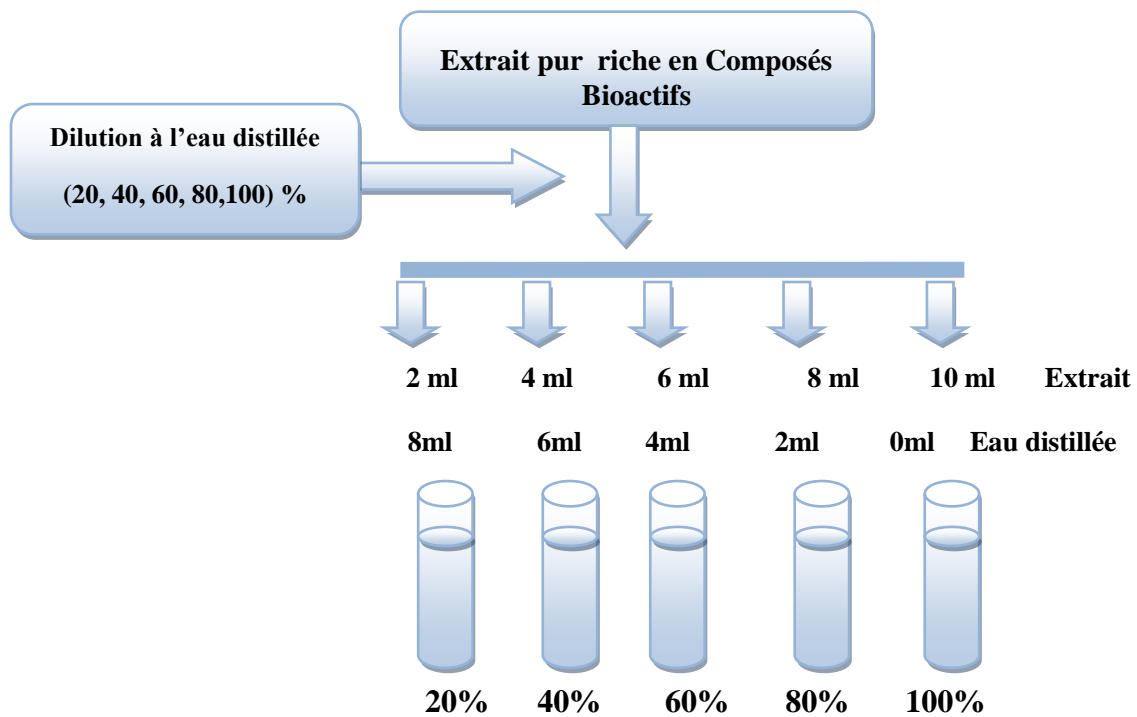
### 2.2.2. Stérilisation du matériel

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

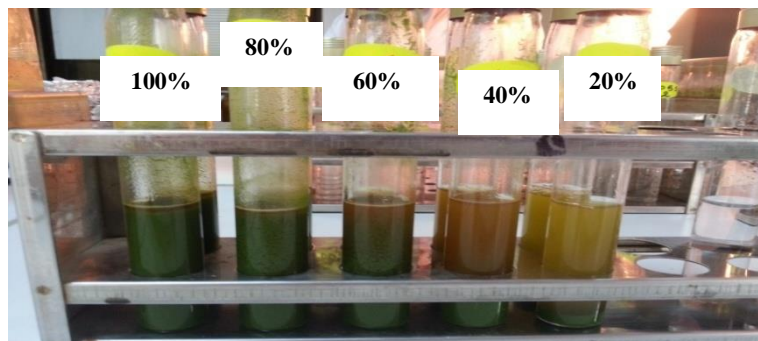
pendants 15 minutes. Les barquettes et le film plastique ayant servi à la conservation des viandes ont été stérilisés avec des rayons UV.

### 2.2.3. Préparation des dilutions d'extraits

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 (**Figure 9**); ils représentent les solutions de travail à base de composé bioactifs de *Rosmarinus officinalis* (**Figure 10**).



**Figure 9.** Préparation des différentes solutions expérimentales.



**Figure 10.** Concentrations de l'extrait hydroéthanolique à base de composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis*.

#### 2.2.4. 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 1<sup>er</sup> ,3<sup>ème</sup> ,5<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> jour de stockage des échantillons expérimentaux au froid positif de 4°C.

#### 2.2.5. Analyses microbiologiques

L'objectif de l'analyse microbiologique est de rechercher et de quantifier le nombre de colonies de certains microorganismes responsables de l'altération de la viande au froid et qui doivent se trouver en quantité inférieure aux normes définies selon le journal officiel de la république Algérienne.

L'analyse microbiologique s'est basée sur le dénombrement de l'essentiel des germes responsables de l'altération de la viande après traitement à différentes doses d'extraits hydroéthanoliques de romarin riches en composés phénoliques , dont: germes aérobies à 30°C, *Pseudomonas*, Flore psychrotrophe, coliformes thermotolérants, *E.coli et Staphylococcus aureus*.

##### 2.2.5.1. Préparation de la solution mère

Avant d'entamer les analyses microbiologiques, il a été procédé tout d'abord à la préparation de l'eau physiologique constituée de l'eau distillée stérile à 9 % de NaCl.

Le diluant ainsi obtenu est réparti dans des tubes et des flacons, et stérilisé à l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes.

Une prise d'échantillon de 25 g de viande de chaque barquette a été mise dans un sachet stomacher mélangée avec 225 ml d'eau physiologique, puis broyée

et homogénéisée pendant quelques minutes dans le sachet. Des dilutions décimales allant de  $10^{-2}$  à  $10^{-3}$  et à  $10^{-4}$  ont été préparées à partir de la solution mère dans de l'eau physiologique.

### 2.2.5.2. Préparation des milieux de culture

La préparation de milieu de culture P.C.A spécifique pour le dénombrement des germes totaux et la flore psychrotrophe, consiste à faire dissoudre 20,5 g de poudre PCA dans 1 litre d'eau distillée.

Concernant le milieu de culture Chapman spécifique pour le dénombrement des *Staphylococcus aureus*, il a été préparé avec 111 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.

Pour le milieu de culture VRBL destiné au dénombrement d'*E. Coli* et des *Coliformes thermotolérants*, 38,5 g de milieu déshydraté VRBL ont été dissoute dans 1 litre d'eau distillée.

Enfin le milieu King A utilisé pour le dénombrement des *Pseudomonas* a été préparé en mélangeant 38 g de poudre déshydraté King dans 1 litre d'eau distillée.

Lors de la préparation, les milieux sont chauffés lentement avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis portés à ébullition, ensuite répartis dans des flacons de 250 ml et stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

### 2.2.5.3. Dénombrement des germes totaux à 30°C

Considéré comme étant des microorganismes responsables de l'altération rapide du produit, les germes totaux peuvent se multiplier à une température optimale de croissance comprise entre 25 et 40°C. Le dénombrement de ces germes a été réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur la gélose (PCA), suivie d'une incubation à 30°C pendant 24 à 72 heures.

La technique consiste à :

- Mettre aseptiquement devant un bec Bunsen 1 ml de chaque dilution décimale ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ ) dans une boîte de Pétri respectivement ;
- Compléter ensuite les boîtes avec environ 15 ml de gélose PCA fondue et refroidie à 47° C ;
- Mélanger les boîtes couvercle fermées en effectuant un mouvement en forme de 8 ;

- Laisser solidifier les boîtes sur pailleasse ;
- Etuver les boites à 30°C.

#### **2.2.5.4. Dénombrement des 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*, *Bactéries anaérobies sulfito-réductrices*, *Streptocoques fécaux*, *Coliformes* et *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 a 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 a :

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

#### **2.2.5.5. Confirmation de la présence d'E. Coli**

Le test confirmatif de la présence d'*E.coli* est effectué sur le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham, après incubation des tubes ensemencés à 44°C pendant 24 heures. L'anneau rouge qui se forme après adjonction de quelques goutte de réactif de Kovac suite à une production d'indole est un signe positif de la présence d'*E. Coli*.

### 2.2.5.6. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* est réalisé par la méthode d'ensemencement d'une prise de dilution microbienne en surface sur une gélose (Chapman), suivie d'une incubation à une température de 37°C pendant 24 heures.

La technique de dénombrement répond aux étapes suivantes :

- Verser environ 15 ml de gélose dans une boîte de Pétri et laisser solidifier ;
- Ensemencer par étalement uniforme de 0.1 ml d'une prise de dilution décimale d'échantillon de viande sur la totalité de la surface de la gélose à l'aide d'une pipette pasteur en forme de râteau ;
- Étuver à 37°C pendant 24 heures.

### Test de confirmation

La confirmation de la présence des *Staphylococcus aureus* après culture sur milieu spécifique de Chapman est réalisée par les tests de catalase et de coagulase .En effet, *Staphylococcus aureus* est à catalase et coagulase positives.

Le test de catalase consiste à déposer une goutte d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur une lame de verre propre, puis à prendre une colonie isolée présumée de *S.aureus* et la mettre en contact avec l'eau oxygénée. La bactérie est à catalase positive s'il y a effervescence et formation de bulles sur la lame, l'observation est immédiate.

Le test de coagulase est effectué par repiquage d'une colonie suspecte dans un tube de 5 ml de bouillon nutritif, suivi d'une homogénéisation et d'une incubation à 37°C. 24 heures après activation, prendre 0.5 ml de la culture et ajouté 0.5 ml de plasma humain dans un tube à hémolyse. Le mélange est incubé à 37°C. Le plasma coagule en moins de 24 h, la présence de *staphylococcus aureus* est confirmée.

### 2.2.5.7. Dénombrement de *Pseudomonas*

Le dénombrement des *Pseudomonas* est 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 Pétri ;
- Verser environ 15 ml de gélose refroidie à 45°C et laisser solidifier ;
- Incuber à 37°C le mélange de boîtes pendant 24 heures.

#### 2.2.5.8. 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.

#### 2.2.6. 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 :

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

### 3. Traitement statistique

Les résultats exprimés en moyennes accompagnés des écarts types respectifs ont été traités statistiquement par un logiciel **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 relevés aux seuils de probabilité de  $p < 0.05$  et  $p < 0.01$ .

# **Partie 03:**

## **Résultats et discussion**

## 1. Résultats

### 1.1. Germes totaux à 30°C

L'effet des concentrations en extrait éthanolique de *Rosmarinus officinalis* riche en composés phénoliques sur les variations du nombre de germes totaux des viandes traitées au cours de la conservation au froid positif de 4°C pendant une période de stockage de 9 jours est illustré dans le (Tableau 6).

**Tableau 6.** Effet des concentrations d'extrait éthanolique à base de composés phénoliques de romarin sur l'évolution du nombre de germes totaux (UFC/g) des viandes traitées.

Dose d'extrait (%) Jours	0	20	40	60	80	100	Effet des concentrations d'extrait	Norme JORA 2017	
								m	M
<b>J1</b>	222.10 <sup>2</sup>	165.10 <sup>2</sup>	103.10 <sup>2</sup>	81.10 <sup>2</sup>	131.10 <sup>2</sup>	116.10 <sup>2</sup>	NS	5.10 <sup>5</sup>	5.10 <sup>6</sup>
<b>J3</b>	70.10 <sup>3</sup>	263.10 <sup>2</sup>	224.10 <sup>2</sup>	221. 10 <sup>2</sup>	131.10 <sup>2</sup>	108.10 <sup>2</sup>	NS		
<b>J5</b>	191.10 <sup>3</sup>	162.10 <sup>3</sup>	169.10 <sup>3</sup>	134.10 <sup>3</sup>	111.10 <sup>3</sup>	88.10 <sup>3</sup>	NS		
<b>J7</b>	IND	IND	IND	IND	140.10 <sup>3</sup>	92. 10 <sup>3</sup>	-		
<b>J9</b>	IND	IND	IND	IND	IND	IND	-		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié ( concentrations en extraits phénoliques à l'éthanol de *Rosmarinus officinalis*) ; p<0.05 : Effet significatif du facteur étudié ; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d : groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Friedman ; m : valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisant ; M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés ; J : jours ;IND :nombre indéterminé de germes.

Le nombre de germes totaux n'a pas varié significativement (p>0.05) durant les 5 jours de conservation des viandes. Quoique les viandes traitées avec les extraits préparés à 80 et 100 % ont présenté la plus faible prolifération microbienne.

Au 7<sup>ème</sup> jour de stockage le traitement à 80 et 100% d'extrait de la plante s'avère maintenir une faible contamination (92 à 140.10<sup>3</sup> UFC/g) par rapport aux autres traitements où le nombre de germes totaux recensé dans la viande été indéterminé.

Au terme de la conservation, la charge microbienne en germes totaux été très élevées quelque soit le traitement aux extraits de la plante de la viande ; avec des nombres indénombrables de germes.

## 1.2.Coliformes thermotolérants

Le niveau de contamination aux coliformes des viandes traitées aux concentrés d'extraits éthanoliques à base de composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* au cours de 9 jours de stockage au froid positif de 4°C est représenté dans le (Tableau 7).

Le nombre de coliformes a varié de 0 à 39.10<sup>2</sup> UFC/g dans la viande traitée ou non avec l'extrait de romarin. Aux 3<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> jours d'entreposage la prolifération des germes s'avère inversement proportionnelle ( $p < 0.01$ ) aux taux d'extrait de la plante ajoutés à la viande ; soit des variations de 50 à 19 UFC/g au 3<sup>ème</sup> Jour, de 36.10<sup>2</sup> à 0 UFC/g au 7<sup>ème</sup> jour et de 39.10<sup>2</sup> à 0 UFC/g au 9<sup>ème</sup> jour de stockage des viandes ayant subi respectivement une adjonction d'extrait phénolique de romarin variable de 0 à 100%.

Au cours du stockage l'évolution du nombre des coliformes n'était pas similaire dans l'ensemble des échantillons, A une concentration de 100% le nombre a chuté remarquablement à 0 UFC/g dans la viande traitée et ceci à partir de 5<sup>ème</sup> jour jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour de conservation.

Au-delà du 5<sup>ème</sup> jour, les échantillons de viande traités avec les solutions d'extrait de romarin préparées à 0, 20 et 40% sont fortement contaminés ( $p < 0.01$ ) par à ceux traitées à 60,80 et 100% d'extrait de la plante.

**Tableau 7.** Effet des concentrations d' 'extrait éthanolique de romarin sur le niveau de contamination des viandes aux coliformes thermotolérants(UFC/g).

Dose d'extrait (%) Jours	0	20	40	60	80	100	Effet des concentrations d'extrait	Norme JORA 2017	
								m	M
<b>J1</b>	22	11	22	22	11	22	NS	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
<b>J3</b>	50 <sup>a</sup>	21 <sup>b</sup>	33 <sup>b</sup>	33 <sup>b</sup>	19 <sup>b</sup>	19 <sup>b</sup>	P<0.01 **		
<b>J5</b>	42.10	125.10	138.10	55	33	0	NS		
<b>J7</b>	36.10 <sup>2a</sup>	238.10 <sup>ab</sup>	118.10 <sup>ab</sup>	66 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	P<0.01 **		
<b>J9</b>	39.10 <sup>2</sup>	268.10	133.10	11	0	0	P<0.01 **		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié ( concentrations en extraits phénoliques à l'éthanol de *Rosmarinus officinalis*) ; p<0.05 : Effet significatif du facteur étudié ; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d : groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Freidman ; m : valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisant ; M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés ; J : jours .

### 1.3. *Escherichia coli*

Un repiquage des colonies suspectes d'*E. coli* sur milieu Schubert à donné après incubation à 44°C pendant 24 heures un résultat négatif de présence du germe exprimé par la formation d'un anneau vert et l'absence de dégagement de gaz dans le tube.

L'absence d'*E. Coli* dans la viande tout au long de sa conservation est aussi un bon indicateur d'absence de contamination fécale.

### 1.4. *Pseudomonas*

L'observation et la lecture des colonies de *Pseudomonas* ont été réalisées après 48 heures d'incubation. Les résultats sont présentés dans le (Tableau 8). C'est des colonies fluorescentes représentées par une coloration brun jaunâtre. Du 1<sup>er</sup> au 9<sup>ème</sup> jour de stockage à 4°C, les échantillons de viande ont connu une nette augmentation du nombre de *Pseudomonas*; alors qu'au contraire ceux traités à des doses de 60, 80 et 100% d'extrait de romarin ont accusé des baisses de 287.10 à 36.10, de 210.10 à 44 et de 41.10<sup>2</sup> à 22 UFC/g, respectivement.

**Tableau 8.** Effet des concentrations d'extrait éthanolique à base de composés phénoliques de romarin sur l'évolution du nombre de *Pseudomonas* (UFC/g) des viandes traitées.

Dose d'extrait (%) Jours	0	20	40	60	80	100	Effet des concentrations d'extrait	Norme JORA 2017	
								m	M
<b>J1</b>	32.10 <sup>2</sup>	46.10 <sup>2</sup>	47.10 <sup>2</sup>	287.10	210.10	41.10 <sup>2</sup>	NS	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
<b>J3</b>	35.10 <sup>2a</sup>	50.10 <sup>2ab</sup>	44.10 <sup>2b</sup>	110.10 <sup>c</sup>	31.10 <sup>c</sup>	166 <sup>c</sup>	P<0.01 **		
<b>J5</b>	48.10 <sup>2a</sup>	55.10 <sup>2b</sup>	96.10 <sup>c</sup>	75.10 <sup>c</sup>	111 <sup>d</sup>	44 <sup>d</sup>	P<0.01 **		
<b>J7</b>	55.10 <sup>2a</sup>	58.10 <sup>2a</sup>	81.10 <sup>b</sup>	42.10 <sup>c</sup>	55 <sup>c</sup>	22 <sup>c</sup>	P<0.01 **		
<b>J9</b>	96.10 <sup>2a</sup>	72.10 <sup>2b</sup>	78.10 <sup>c</sup>	36.10 <sup>c</sup>	44 <sup>c</sup>	22 <sup>c</sup>	P<0.01 **		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3; p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations en extraits phénoliques à l'éthanol de *Rosmarinus officinalis*); p<0.05 : Effet significatif du facteur étudié; NS : Effet non significatif du facteur étudié; a, b, c, d : groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Friedman; m : valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisant; M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés; J : jours.

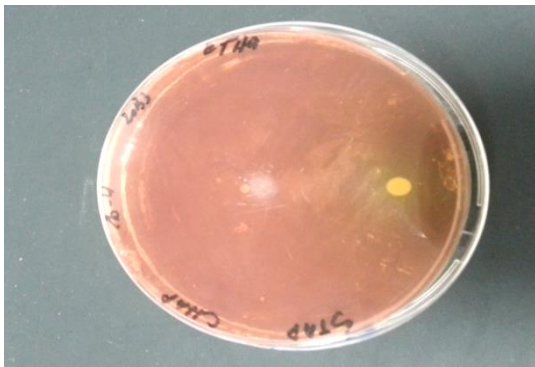
Au 3<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> jour de conservation, en fonction des doses variables de 0 à 100% d'extraits de romarin incorporés dans les viandes, le nombre

de germes a tendance à diminuer significativement ( $p < 0.05$ ) ; de  $35.10^2$  à  $31.10$  UFC/g, de  $48.10^2$  à  $44$  UFC/g, de  $55.10^2$  à  $22$  UFC/g et de  $96.10^2$  à  $22$  UFC/g, successivement.

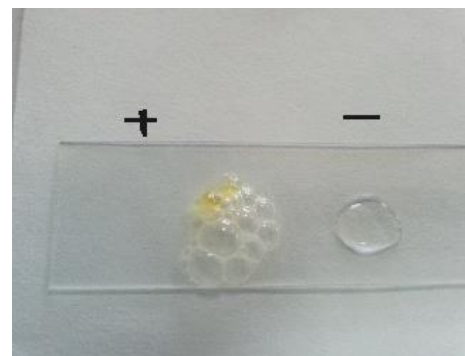
### 1.5. *Staphylococcus aureus*

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent après culture sous une couleur jaune doré et présente une forme sphérique (**Figure 11**). La présence de la souche après culture sur milieu spécifique de Chapman a été confirmée ensuite par les tests de catalase et de coagulase. En effet *Staphylococcus aureus* est à catalase et coagulase positive (**Figure 12**).

Le niveau de contamination aux germes *Staphylococcus aureus* des viandes traitées ou non aux extraits éthanoliques de romarin au cours du stockage à  $4^\circ\text{C}$  est mentionné dans le (**Tableau 9**).



**Figure 11.** Colonies de *staphylococcus aureus*



**Figure 12.** Catalase positif

Au cours de la période de stockage le nombre de ces germes à augmenter dans les échantillons de viande traités a de faibles doses d'extrait de *Rosmarinus officinalis* et variables de 0 à 60%. Cependant , pour les échantillons traités à 80 et 100% le nombre a connu de nette baisse au 7<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> jour.

**Tableau 9.** Effet des concentrations d' 'extrait éthanolique de romarin sur le niveau de contamination des viandes aux *Staphylococcus aureus* (UFC/g)

Dose d'extrait (%) Jours	0	20	40	60	80	100	Effet des concentrations d'extrait	catalase	coagulase	Norme JORA 2017	
										m	M
<b>J1</b>	133	22	0	0	22	0	NS	+	+	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<b>J3</b>	37.10 <sup>a</sup>	34.10 <sup>ab</sup>	34.10 <sup>ab</sup>	233 <sup>ab</sup>	55 <sup>ab</sup>	33 <sup>b</sup>	P<0.05 *	+	+		
<b>J5</b>	52.10 <sup>a</sup>	75.10 <sup>a</sup>	62.10 <sup>a</sup>	56.10 <sup>a</sup>	66 <sup>b</sup>	44 <sup>b</sup>	P<0.01 **	+	+		
<b>J7</b>	103.10 <sup>a</sup>	95.10 <sup>ab</sup>	88.10 <sup>ab</sup>	74.10 <sup>b</sup>	44 <sup>c</sup>	22 <sup>c</sup>	P<0.01 **	+	+		
<b>J9</b>	43.10 <sup>2a</sup>	42.10 <sup>2ab</sup>	40.10 <sup>2b</sup>	43.10 <sup>c</sup>	22 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	P<0.01 **	+	+		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié ( concentrations en extraits phénoliques à l'éthanol de *Rosmarinus officinalis*) ; p<0.05 : Effet significatif du facteur étudié ; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d : groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Friedman ; m : valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisant ; M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés ; J : jours .

En fonction de l'accroissement de la concentration d'extrait éthanolique de *Rosmarinus officinalis* ajouté comme additif naturel et variable de 0 à 100 %le nombre de *Staphylococcus aureus* a diminué significativement (p < 0.01) dans les viandes traitées particulièrement au 3<sup>ème</sup> jour (de 37.10 à 33 UFC/g ), au 5<sup>ème</sup> jour ( de 52.10à 44 UFC/g),au 7<sup>ème</sup> jour( de 103.10 à 22 UFC/g) et au 9<sup>ème</sup> jour ( de 43.10<sup>2</sup> à 0 UFC/g) de conservation.

### 1.6. Flore psychrotrophe

Les résultats obtenus du dénombrement de la flore psychrotrophe durant le stockage de la viande à 4°C sont présentés dans le (**Tableau 10**). Les germes après culture sont caractérisés par de grandes colonies bombées, dont chacune accuse une surface brillante, lisse et une couleur beige.

**Tableau 10** .Effet des concentrations d'extrait éthanolique a base de composés phénoliques de romarin sur l'évolution du nombre de la flore psychrotrophe (UFC/g) des viandes traitées.

Dose d'extrait (%) Jours	0	20	40	60	80	100	Effet des concentrations d'extrait	Norme JORA 2017	
								m	M
<b>J1</b>	222	36.10	66	66	66	88	P>0.05 NS		
<b>J3</b>	43.10 <sup>a</sup>	87.10 <sup>b</sup>	51.10 <sup>b</sup>	4.10 <sup>b</sup>	300 <sup>b</sup>	133 <sup>b</sup>	P<0.01 **	-	-
<b>J5</b>	23.10 <sup>2a</sup>	33.10 <sup>2a</sup>	35.10 <sup>2ab</sup>	66.10 <sup>b</sup>	47.10 <sup>b</sup>	177 <sup>b</sup>	P<0.01 **		
<b>J7</b>	46.10 <sup>2a</sup>	45.10 <sup>2a</sup>	43.10 <sup>2a</sup>	50.10 <sup>b</sup>	244 <sup>b</sup>	155 <sup>b</sup>	P<0.01 **		

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; p<0.01 effet hautement significatif du facteur étudié ( concentrations en extraits phénoliques à l'éthanol de *Rosmarinus officinalis*) ; p<0.05 : Effet significatif du facteur étudié ; NS : Effet non significatif du facteur étudié ; a, b, c, d : groupe homogène de comparaison des valeurs moyennes deux à deux selon le test de Freidman ; m : valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisant ; M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés ; J : jours .

Les variations du nombre de la flore psychrotrophe s'avèrent inversement proportionnelles (p<0.05) avec l'augmentation de la concentration d'extrait ajoutée à la viande.

Au 1<sup>er</sup> jour de conservation, les viandes traitées ou non à l'extrait de romarin préparé à différentes dilutions ont enregistré un nombre de germes identique et variable de 66 à 222 UFC/g.

Au 3<sup>ème</sup> jour de conservation, c'est à partir de l'extrait préparé à 20% que le nombre des germes semble diminuer significativement ( $p < 0.01$ ) dans les viandes traitées par comparaison au témoin, sans traitement à l'extrait de la plante.

Au 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jour d'entreposage c'est à partir des concentrations de 60% et plus que la charge microbienne a été nettement ( $p < 0.01$ ) réduite dans les échantillons de la viande ovine expérimentale.

## 2. Discussion

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.*, *Vibrio vulnificus*, et autres (Mouas et al., 2017).

L'extrait éthanolique de *Rosmarinus officinalis* riche en principaux composés phénoliques a montré des effets antimicrobiens avérés contre les germes étudiés à l'origine de la contamination microbienne de la viande au cours de sa conservation au froid positif de 4°C.

En effet, le niveau de contamination aux germes totaux des viandes traitées à 80 et 100% d'extrait hydroéthanolique de romarin a été remarquablement conforme à la norme admise dans le journal officiel de la république Algérienne (JORA, 2017) jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour de stockage.

Cette tendance est maintenue pour les coliformes fécaux, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour d'entreposage.

A ce propos plusieurs auteurs (Mena et al., 2016 ; Sytar et al., 2016) rapportent l'existence chez *Rosmarinus officinalis* de plusieurs composés phénoliques dont : Acide carnosolique, carnosol, rosmanol et l'acide rosmarinique. Ces composés s'avèrent exercer des effets antimicrobiens à l'égard de nombreux germes tels : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gonelimali et al., 2018).

En outre, **Hernández (2016)** a prouvé dans son étude l'activité antibactérienne particulière de l'huile essentielle de romarin sur certaines germes pathogènes comme *Clostridium perfringens*, *Salmonella choleraesuis*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* contribuant fréquemment à la détérioration des aliments.

D'autres auteurs ont également signalé un bon effet inhibiteur in vitro 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**).

L'analyse des données expérimentales montre que l'application de ces extraits végétaux sur la viande ovine aux concentrations indiquées semble améliorer la stabilité microbienne de la viande du moins jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour de conservation. Comparativement au témoin (0%), le nombre des germes semble diminuer significativement ( $p < 0.01$ ) avec l'augmentation de la concentration (de 20 à 60%) d'extrait de *Rosmarinus officinalis*, tandis qu'à des concentrations variables de 80 à 100% la croissance des germes dont notamment *Staphylococcus aureus* et les coliformes thermotolérants a été complètement inhibée.

Plusieurs travaux ont été orientés depuis plusieurs années sur l'activité antibactérienne des composés bioactifs des plantes médicinales spécifiquement leurs mécanismes d'action et des composants majoritaires intervenant sur les cibles bactériennes. Cependant, ces mécanismes restent moins bien connus à ce jour, et leurs complexités peuvent venir de la composition chimique variée des principes actifs contenus dans le végétal (**Tiwari et al., 2009**).

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

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

Un grand nombre d'auteurs ont rapporté que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à certains composés bioactifs dont surtout les huiles essentielles présentes dans les extraits de la plante. En effet, il a été démontré que les structures de parois cellulaires hydrophiles des bactéries à Gram négatif peuvent bloquer la pénétration de composants hydrophobes à travers la membrane cellulaire. (**Burt, 2004**). Bien que cette barrière ne soit pas totalement imperméable, elle peut entraver le transport de macromolécules et de composants nécessaires à la croissance des microorganismes (**Pierozaan et al. ,2009**).

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, et 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 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 .

Apparemment, il semble en fonction du temps de conservation que les extraits phénoliques notamment préparé à de faibles concentrations de romarin perdent de leur efficacité à préserver la viande des multiples contaminations microbiennes.

Selon certains auteurs, les molécules polyphénoliques peuvent s'hydrolyser dans le temps surtout lorsqu'ils ne sont pas conservés à l'abri de la lumière ; ce qui provoque sans doute une baisse dans l'activité antimicrobienne (**Djenane et al., 2012**).

Ainsi, et au terme de cette étude il apparait bien que l'extrait à l'éthanol de *Rosmarinus officinalis* L. contient bien l'essentiel des composés bioactifs antimicrobiens capables d'exercer un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries responsables de la contamination de la viande tout en prolongeant considérablement ( de 3 jours) sa durée de conservation à 4°C.

# **Conclusion générale**

### Conclusion générale :

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, il apparaît que l'extrait hydroéthanolique du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est d'une efficacité remarquable et possède un potentiel antimicrobien non négligeable pouvant améliorer la conservation de la viande.

En effet, à des concentrations de 80 et 100% d'extrait hydroéthanolique de la plante, les échantillons de viandes sont restés conformes aux normes admises dans le journal officiel algérien ( $5.10^5$  à  $5.10^6$ ) UFC/g jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour comparativement aux autres concentrations (20, 40, et 60%) où le nombre de germes totaux été indénombrable.

D'après les résultats de dénombrement des *Staphylococcus aureus* et des coliformes thermotolérants, il s'avère que l'utilisation des concentrations de 80 et 100% d'extrait de *Rosmarinus officinalis* induit une action inhibitrice totale sur le développement de ces germes où aucune croissance n'a été observée sur les viandes traitées à partir du 7<sup>ème</sup> jour pour les coliformes thermotolérants et à partir du 9<sup>ème</sup> jour pour les *Staphylococcus aureus*.

Concernant la flore psychrotrophe et *Pseudomonas aeruginosa* la charge microbienne s'avèrent inversement proportionnels avec l'augmentation de la concentration d'extraits éthanoliques de *Rosmarinus* ajouté à la viande. Les concentrations incorporées à 80 et 100% ont présenté des forts pouvoirs antimicrobiens (exprimés par des faibles taux de croissance des deux germes).

Même si ce travail a permis d'étudier les caractéristiques antimicrobiennes des extraits éthanoliques de *Rosmarinus officinalis* L., et d'explorer la possibilité de leurs utilisations comme agents conservateurs, il est néanmoins indispensable de mener d'autres études complémentaires afin de comprendre les effets de ces composés phénoliques de la plante (Romarin) sur les qualités organoleptiques et sensorielles de la viande au cours de la conservation et d'identifier les principaux constituants des extraits de *Rosmarinus officinalis* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Amar Y., Meddah B., Bonacorsi I., Costa G., Pezzino G., Saija A., Cristani M., Boussahel S., Ferlazzo G. and Meddah T. (2017).** Phytochemicals, Antioxidant and Antiproliferative Properties of *Rosmarinus officinalis* L on U937 and CaCo-2 Cells Iran J Pharm Res ; 16(1): 315–327.
- Association Tela Botanica (2011).** Botanique se former, identifier des plantes sauvages [en ligne]. Disponible sur <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75333-synthese> : (consulté le 17/02/2019).
- Baba Aïssa F. (1990).** Les plantes médicinales en Algérie. Identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel de plantes communes en Algérie. Le monde des pharmaciens ,149p.
- 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 114: 11388-11392 ISSN 1997-5902.
- Benaïssa A. (2016).** Thèse de doctorat : Evolution des qualités physicochimique, biochimique et microbiologique de la viande cameline au cours de son attendrissage et sa conservation selon différents modes. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Bennani L., Berrada S., Salame B., Aabouch M. et Lalami E. (2016).** Evaluation de la qualité hygiénique des viandes et de certains produits carnés prélevés de la ville de Fès, Maroc International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 15 No. pp. 547-554.
- Biesalski H. (2005).** Meat as a component of a healthy diet — are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? Meat Science, 70(3), 509–524.
- Birtic S., Dussort P., Xavier F., Bily A. and Roller M. (2015).** Carnosic acid Phytochemistry 115 9–19.
- Boakye K. et Mihal G.S. (1993).** Change in pH and water-holding proprieties of Longissimus dorsi muscle during beef ageing. Meat sci. p 34, 335- 349.
- Bonnet M., Ouali A. and Kopp J. (1992).** Beef muscle osmotic pressure as assessed by differential scanning calorimetry (D SC) International Journal of Food Science and Technology (1YY2) 27, 399-408.
- Bornert G. (2000).** Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires Revue Méd. Vét., 151, 11, 1003-1010.

- Bouillet A., Duchène M., and Deroanne C. (1982).** Frozen and chilled minced meat (beef and pork): microbial and physicochemical evolution during storage Volume 5 Numéro 6 01 40-7007/82/060343-Butterworth & Co (Publishers) Ltd and IIR.
- Boussetta N., Soichi E., Lanoiselle J.L. and Vorobiev E. (2014).** Valorization of oilseed residues: extraction of polyphenols from flaxseed hulls by pulsed electric fields. *Ind Crop Prod* 52:347–53.
- Bousbia N., Vian M.A., Ferhat M.A., Petitcolas E., Meklati B.Y. and Chemat F. (2009).** Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chem.*; 114:355–362.
- 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.
- Bremness L. (2005).** Plantes aromatiques et médicinales Larousse édition,122p.
- Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review *International Journal of Food Microbiology* 94 ,223 – 253.
- Caillet S. et Lacroix M. (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA). pp. 1-8
- Callery E. (1998).** Le Grand Livre des herbes Editeur : Könemann ,108p.
- Cantwell M. et Elliott C. (2017).** Nitrates, Nitrites and Nitrosamines from Processed Meat Intake and Colorectal Cancer Risk. *Journal of Clinical Nutrition & Dietetics* Vol.3 No.4:27 ISSN 2472-1921.
- Clinquart A., Leroy B., Dottreppe O., Hornick J.L., Dufresne I. et Istasse L. (2000).** Les facteurs de production qui influencent la qualité de la viande des bovins Blanc Bleu belge L’élevage du Blanc Bleu belge – CESAM.
- DellaValle T., Xiao Q., Yang G., Shu X., Aschebrook-Kilfoy B., Zheng W., Lan Li H., Ji B., Rothman N., Chow W., Gao Y. and Ward M. (2014).** Dietary nitrate and nitrite intake and risk of colorectal cancer in the Shanghai Women’s Health Study Curt Published in final edited form as: *Int J Cancer*. 134(12): 2917–2926. doi:10.1002/ijc.28612.
- Djenane D., Yanguela J., Derviche F., Bouras L. et Roncales P. (2012)** Utilisation des composés des feuilles d’olivier comme agents antimicrobienne : application pour la conservation de viande fraîche de dinde, *Revue ‘Nature et technologie*, (7) :53 - 61.

- Dognon S., Salifou C., Dougnon J., Dahouda M., Scippo M. and Youssao A.(2018)** .Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin 12476 Journal of Applied Biosciences 124: 12476-12487 ISSN 1997-5902 Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin.
- Domadia P., Swarup S., Bhunia A., et al (2007)**. Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochem Pharmacol* 74:831–40.
- Dransfield E. (1994)**. Optimisation of tendrisation, ageing and tenderness. *Meat Science*, 36, 105-121.
- Elyemni M., Louaste B., Nechad I., Elkamli T., Bouia B., Taleb M., Chaouch M. and Eloutassi N. (2019)** . Extraction of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L. by Two Different Methods: Hydrodistillation and Microwave Assisted Hydrodistillation *he Scientific World Journal*, Article ID 3659432, 6 pages.
- Fabre M., Genin A., Merigoux J. and Moget E. (1992)**. *Herboristerie familiale, des recettes simples avec des plantes simples pour résoudre les problèmes simples*, 89p.
- Ferguson A. and Gerrard B. (2014)**. Regulation of post-mortem glycolysis in ruminant muscle. *Animal Production Science*, 54, 464–481.
- Gicquel M., Philippe M., Guillon-Kroon C. et Raoult M. (2016)**. Le déterminisme de la tendreté d'une viande bovine est complexe et les méthodes pour l'apprécier sont diverses, *Viandes & Produits Carnés* Référence de l'article : VPC-2016-32-3-1.
- Goetz P. et Ghedira K. (2012)**. *Phytothérapie anti-infectieuse*, Springer-Verlag France Paris ed ,342p.
- 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.
- Gonelimali F.D., Lin J., Miao W., Xuan J., Charles F., Chen M. and Hatab S.R.(2018)** . Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms *Frontiers in Microbiology* Original Research published: doi: 10.3389/fmicb.2018.01639.
- 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.

- Guillemin N., Cassar-Malek I., Hocquette J.F., Jurie C., Micol D., Lustrat A., Leveziel H., Renand G. et Picard B. (2009).** La maîtrise de la tendreté de la viande bovine : identification de marqueurs biologiques. *INRA Productions Animales*, 22, 4, 331- 344.
- Hernández M., Sotomayor J., Hernández A. and Jordán M.(2016).** Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) Oils essential oils in food preservation, flavor and safety Pages 677-688.
- Hertzman C., Olsson U. and Tornberg E. (1992).**The influence of high temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of rigor, Ageing and tenderness of beef muscles *Meat Science* 35 119-141.
- Hoffman L., Muller M., Cloete S. and Schmidt D. (2002).** Comparison of six crossbred lamb types: sensory, physical and nutritional meat quality characteristics *Meat Science* 65 .1265–1274
- INSA (2006).** Tabela de Composição de Alimentos. Lisbon. [en ligne]. Disponible sur <http://portfir.insa.pt/foodcomp/compare> : (consulté le 23/03/2019).
- Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2<sup>ème</sup> Ed., Paris : 14,275.
- Jannavi R. and Srinivasan P. (2016)** .Rosemary extract Chemical and Technical Assessment (CTA) Page 1 of 7- FAO, 82nd JECFA.
- Jiang Y., Wu N., Fu Y-J. and al. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental Toxicology And Pharmacology*; 32 ; 63-8.
- Leplat M. (2017).** Thèse de doctorat Le Romarin, *Rosmarinus officinalis L.*, une Lamiacée médicinale de la garrigue provençal. Sciences pharmaceutiques Marseille, HAL Id: dumas-01550355.
- Lustrat A., Lebreton 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, 28 (2), pp.125-136.
- Mena P., Cirilini 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.

- Meyer-Warnod B. (1984).** Perfumer and Flavorist Natural essential oils : extraction processes and applications to some major oils. , 93-103.
- Miladi M. , Ben Slama R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A. and Ammar E. (2013).** Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography- mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens// Natural Science. №5. – P. 729-739.
- Mnayer D. (2014).** Thèse de doctorat : Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d’une application comme agents antioxydants et antimicrobiens ’Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Moro Buronzo A. (2008)** .Grand guide des huiles essentielles SANTÉ BEAUTÉ BIEN-ÊTRE HACHETTE Pratique ,231p.
- Mouas Y., Benrebaha F. et Chaouia C. (2017).** Evaluation de l’activité antibavterienne de l’extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. Revue Agrobiologia 7(1): 363-370.
- Nieto G., Díaz P., Bañón S. and Garrido M. (2010).** Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality Meat Science 84 .23–29.
- Nieto G., Ros G. and Castillo J. (2018).** Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review Medicines (Basel).5(3): 98.
- Nixon M. and McCaw M. (2001).** The Compleat distiller. New Zealand: The Amphora SocietyPublication, New Zealand
- Nkolo S. (2007).** Thèse de doctorat : Qualité bactériologique de la viande de buffle congelée importée au Sénégal, Université Cheikh AntaDiop de Dakar.
- Ochoa A., Borrás-Linares I., Pérez-Sánchez A., Barrajon-Catalán E., González-Álvarez I., Arráez-Román D., Micol V. and Segura-Carretero A. (2017).** Phenolic compounds in rosemary as potential source of bioactive compounds against colorectal cancer: In situ absorption and metabolism study Journal of Functional Foods 33 ,202–210.
- Offer G. and Knight P. (1988).** The structural basis of water-holding in meat. Part 2: drip losses. In: Developments in meat science. R. A. Lawrie, Elsevier pp. 173-243.
- Oluwatuyi M., Kaatz G.W. and Gibbons S. (2004).** Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. Phytochemistry 65, 3249–3254.
- Oostindjer M., Alexander J., Amdam G., Andersen G., Bryan N., Chen D., Corpet D., De Smet S. and al.(2014).** The role of red and processed meat in colorectal cancer development: a perspective Meat Science Volume 97, Issue 4, Pages 583-596.
- Ouali A. (1990)** .Meat tenderization : Possible causes and mecanismes. A review. Meat Research Station, INRA de Their, 63 122 Ceyrat, France.

- Ouali A. (1991).** Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande. INRA Productions animales, 4 (3), pp.195-208. fihal-00895939.
- Ouali A., Herrera-Mendez C., Coulis G., Becila S., Boudjellal A., Aubry L. and Sentandreu M. (2006).** Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms Meat Science 74 .44–58.
- Pereira P. and Vicente A. (2013).** Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet Article• Literature Review in Meat Science 93(3):586-92.
- Picard B., Hocquette J.F. et Cassar-Malek I. (2010).** Chapitre 11 : Marqueurs biologiques de la qualité sensorielle des viandes bovines. Muscle et viande de ruminant. Versailles : Éditions Quae, 145-152.
- Pierozan M., PAULETT I., Luciana G., Atti dos Santos A., Lerin A. , Di Lucci M., MOSSI J., Serafini L., Cansion J. and Oliveira J. (2009).** Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of salvia L. species Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 29(4): 764-770.
- Rosset P., Beaufort A., Cornu M. et Poumeyrol G. (2002).** La chaîne du froid en agroalimentaire. Cahiers de Nutrition et de Diététique, Elsevier Masson, 37 (2), pp.124-130. fihal-00378384f.
- 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. 7(3): 1351-1369.
- 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, 27-42.
- Santich B. et Geoff B. (2013).** 500 plantes comestibles - Histoire, botanique, alimentation ed Delachaux et Niestlé, Paris, 266p.
- Sentandreu M., Coulis G. and Ouali A. (2002).** Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness Trends in Food Science & Technology 13 400–421.
- Staub H. et Bayer L. (2013).** Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Paris : Grancher, 685p. (Collection: Le Corps et l'esprit.
- Sultana B., Anwar F. and Ashraf .A (2009).** Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts Molecules 14, 2167-2180; doi:10.3390/molecules14062167.
- Sytar O., Hemmerich I., Zivcak M., Rauh C. and Brestic M. (2016).** Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants Saudi Journal of Biological Sciences 25, 631–641

- Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huiles essentielles. Paris et Cachan : Tec&Doc, 522p.
- Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O' Donnel C.P., Muthukumarappan K., Bourke P. and Cullen P.G.(2009).** Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation *J. Agric. Food Chem.*, 57, 5987–6000 5987 .
- Tohsirova Z., Nikitina S. and Popova O. (2016).** Study of antimicrobial action of essential oil from stems of *Rosmarinus officinalis* L.(Lamiaceae) *Pharmacy & pharmacology* V. 4 № 1 (14) ,66-71.
- Touraille C. (1994).** Incidence des caractéristiques musculaires sur les qualités organoleptiques des viandes. *Renc. Rech. Ruminants*, 1, 169-176.
- 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)* 5:29
- 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* 20:1073–79.
- Wollinger A., Perrin E., Chahboun J., Touraud D. and Kunz W. (2016).** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays, *Comptes Rendus Chimie* 1631-0748/ Academie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS.
- Y leung A. and foster S. (2010).** Leung's encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics by John Wiley & Sons, Inc P536-537.
- Zhou G., Xu G. and Liu Y. (2010).** Preservation technologies for fresh meat – A review *Meat Science* 86 ,119–128.

# **Annexes**

## **Annexes:**

### **Differents 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 magnesium.....	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*.