

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de TIZI OUZOU
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département des Sciences Agronomiques



En vue d'obtention du diplôme master
Spécialité : Management de la qualité totale et sécurité des aliments



Thème



**Etude de l'effet antimicrobien et
antioxydant de l'huile essentielle de *pinus
sylvestris* sur la conservation de la saucisse**

Réalisée par :

M^{lle} BELHOCINE Amina.
M^{lle} AOUINE Farida.

Devant le jury :

Promoteur: M^f RAHMOUNE MA.

Maitre de conférences à l'UMMTO.

Co-Promoteur: M^f DJENANE D.

Professeur à l'UMMTO.

Président : M^f OULHADJ A.

Maitre de conférences à l'UMMTO.

Examineur : M^{me} CHOUGAR L.

Doctorante à l'UMMTO.

Examineur : M^f SI TAYEB H.

Docteur à l'UMMTO.

*Année universitaire :
2016/2017*

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le bon dieu de nous avoir donné le courage et la force nécessaire pour terminer ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à :

- *Notre promoteur **Mr Rahmoun Med Ameziane**, maitre de conférence à l'UMMTO d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour tous ses conseils fructueux et ses encouragements.*

- *Notre co-promoteur **Mr Djennane Djamel** professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, de nous avoir guidé dans la réalisation scientifique de ce travail, pour le soutien et tous encouragements considérable.*

- *Mr OULHADJ Akli maitre de conférence à l'UMMTO, pour l'honneur qu'il nous a fait pour assurer la présidence du jury.*

- *M^r SI TAYEB HACHIMI merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.*

- *M^{me} CHOUGARE Linda merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.*

- *Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.*

Dédicaces

En guise de reconnaissance, je dédie ce travail:

À mes chers parents, je vous offre ce modeste travail en témoignage de tout le sacrifice et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.

A mon binôme Farida et sa famille.

A mes frère: Malik, Djamel, Amine et leurs épouses.

A mes sœurs: Sonia, Assia, Melissa.

Ainsi qu'à toutes mes amies: Lamia, Lynda, Rima, Meriem, Sihem.

B. Amina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail a :

Mes très chers parents.

Ma chère sœur et son mari.

A mon binôme Amina et sa famille.

A toutes mes amies son exception.

A .Farida

TABLE DES MATIERES

Dédicace	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1
Chapitre I : généralité sur les huiles essentielles	
I-1- Historique	2
I-2-Définition des huiles essentielles	3
I-3-Lieu de synthèse et localisation des huiles essentielles	3
I-4-Les propriétés des huiles essentielles	4
I-5-Le rôle des huiles essentielles chez la plante	4
I-6-Facteurs de variabilités des huiles essentielles	5
I-7- La réglementation	6
I-8- Production des huiles essentielles	6
I-9-Méthodes d'extraction des Huiles Essentielles	7
I-10-Paramètre influent sur les procédées d'extraction	13
I-11-L'identification chimique des huiles essentielle	14
I-12-La composition chimique des huiles essentielles	14
I-13-La conservation des huiles essentielles	14
Chapitre II : Activités biologique des huiles essentielles	
II-1) Activité antimicrobienne	15

II-2) Activité antioxydant	16
II-3) Activité antivirale.....	18
II-4) Activité insecticide.....	19
II-5) Activité fongicide	19
II-6) Activités anti-inflammatoires, anti brulure et cicatrisante	19

Chapitre III : les méthodes de conservation des aliments

III-1) techniques de conservation par le froid	20
III-2) Les techniques de conservation par la chaleur.....	21
III-3) Techniques de conservation par abaissement de l'activité de l'eau	22
III-4) Les techniques de conservation par l'abaissement du Ph	23
III-5) Le conditionnement par l'ajout des conservateurs chimiques.....	24
III-6) Contrôle de l'atmosphère	24
III-7) La bioconservation	25

Chapitre IV : La saucisse

I.1 Les saucissons	26
I-1-1/ les toxi-infections alimentaires (TIA)	26
I-1-2/Les maladies infectieuses d'origine alimentaires	26
II) Différentes contaminations da la viande	27
III) Facteurs de multiplication de la microflore de la viande	28
IV) Composition de la saucisse	29

Partie pratique

Matériels et méthodes

I-1-l'huile essentielle de pin sylvestre	30
I-1-1-Classification de l'HE de pin sylvestre	30
I-1-2-Characteristiques de l'HE de pin sylvestre.....	30
I-1-3-composition chimique de l'HE de pin sylvestre	31
I-1-4- conservation de l'HE de pin sylvestre	31
I-2-La matrice utilisée : (la saucisse).....	31
I-3- Matériel utilisé pour l'analyse physico-chimique	33
I-4- Matériels utilisé pour l'analyse microbiologique	34
I-5- Analyse physicochimique	35
I-5-1- Mesure de potentiel d'hydrogène (PH)	35
I-5-2- Evaluation de l'activité antioxydante (Méthode de sr-TBA).....	35
I-5-3- courbes d'étalonnage de MDA.....	37
I-6-Analyse microbiologique	38
I-7- Analyse sensorielle	40

Résultat et discussions

II-1-Analyses physico-chimiques	41
II-2-Analyses microbiologiques	44
II-3-Analyse sensorielle	48
Conclusion	51

Références bibliographique.

Annexe.

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

AFSSAPS: Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AW: water activity (l'activité de l'eau).

CAM: Conditionnement atmosphère modifié.

CPG: chromatographie phase gazeuse.

CO₂: dioxyde de carbone.

CEE : Communauté économique européenne.

DLUO: date limite d'utilisation optimale.

DLC : date limite de consommation.

DFD : dark firm dry. (sombre, dure et sèche).

FMAT: Flore mésophile aérobie totale.

FPAT: Flore psychotrophe aérobie totale.

HE_S: Huiles essentielles.

INRS : Institut national de recherche Scientifique.

GN: Gélose nutritive.

LPS: Lipo polysaccharides.

MDA: Malondialdéhyde.

O₂: dioxygène.

PH: Potentiel d'hydrogène.

rpm: rotation par minute.

rH:Potentiel d'oxydoréduction.

TBA-rs: Thiobarbituric acide reactive spices(les espèces réactives avec le TBA).

TBA: Acide thiobarbiturique.

TCA: Acide trichloroacétique.

TSE: Triptone sel eau.

T°:Température.

TIA : Toxi infection alimentaire.

UFC: Unité formant colonie.

UHT: Ultra haute température.

Liste des figures

Figure1 : Schéma de l'extraction par hydrodistillation	8
Figure2 : Schéma de l'extraction par entrainement a la vapeur d'eau	8
Figure3 : Schéma de l'extraction par hydrodiffusion	9
Figure4 : Extraction des huiles essentielles par expression a froid	10
Figure5 : Extraction par enfleurage a froid	11
Figure6 : Extraction par microonde.....	12
Figure7 : schémagénérale de l'oxydation des lipides	17
Figure 8 : Image de la plante pin sylvestre	30
Figure9 : le malaxage de différents composants de la saucisse.....	31
Figure10 : le hachage des ingrédientsde la saucisse.....	32
Figure11 :l'incorporation de l'huile essentielle de pin sylvestre dans la saucisse	32
Figure12 : remplissage des boyaux	33
Figure13 : schéma de procédure de la mise en œuvre du teste rs-TBA	36
Figure14 : La courbe d'étalonnage du MDA	37
Figure15 : Schéma illustre les différentes étapes du test microbiologique	39
Figure16 : Evaluation du potentiel d'hydrogène (pH) pendant la période de conservation.....	42
Figure17 :Evaluation du taux d'oxydation	43
Figure18 : le développement de la FMAT pendant la durée de la conservation de la saucisse ..	44
Figure19 : Photos montrant Le développement de la FMAT dans l'échantillon non traité avec l'huile essentielle de pin sylvestre	46
Figure20 : Photos montrant l'effet de l'huile essentielle de <i>pin sylvestre</i> sur la FMAT	46

Liste des tableaux

Tableau I : les principaux pays producteurs des huiles essentielles	7
Tableau II : les différentes techniques de stérilisations	22
Tableau III: détermination des différentes concentrations du TBA	37
Tableau IV: résultats de l'évaluation du gout de la saucisse cuite	48
Tableau V: résultats de l'évaluation de l'odeur de la saucisse non traitée avec l'HE	49
Tableau VI: révèle les différents avis des dégustateurs sur l'odeur de la saucisse traitée avec l'huile essentielle de pin sylvestre	49

Introduction :

La viande représente l'un des aliments les plus importants de notre alimentation équilibrée. En raison de nombreux atouts dont elle dispose notamment sa richesse en protéine de haute valeur biologique. Cependant il est exposé à la détérioration par les bactéries et les moisissures qui peuvent diminuer ses caractéristiques sensorielles, nutritives et sanitaire (SALIFOU *et al.*, 2013).

Pour faire face aux problèmes d'oxydation et de contamination des denrées alimentaires, l'essor de la chimie a permis l'apparition et l'application de nouvelles substances chimiques en tant que conservateurs alimentaires synthétiques (Moll, 1998).

Toutefois, en raison de l'effet toxicologique indésirable à long terme, y compris la cancérogénicité des conservateurs synthétiques, et de l'augmentation de la demande du consommateur pour des produits naturels a conduit à la limitation de ce type de conservateurs. (Nakara *et al.*, 2003; chahadehi *et al.*, 2010)

Ainsi, de nombreux composés phytochimiques y compris les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoire et anticancéreux.

C'est dans cette optique que se situe notre étude dont l'objectif principal :

- Etude de l'effet de l'huile essentielle de *Pin sylvestre* sur la conservation de la saucisse. En évaluant l'activité antimicrobienne, et l'activité antioxydante de cette huile.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en quatre chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des généralités sur les huiles essentielles, Le second chapitre traite les différentes activités des HEs, le troisième chapitre expose les différentes méthodes de conservation des aliments, et le quatrième chapitre sur la saucisse. Dans la seconde partie (pratique), nous avons décrit en détail le matériel et méthode utilisée pour déterminer l'activité antioxydante et antimicrobienne d'huile essentielle de *pin sylvestre*. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale.

A decorative border resembling a scroll, with rounded corners and a vertical strip on the left side. The scroll is outlined in black, and the corners are filled with a light gray color.

Chapitre I

Généralités sur les huiles essentielles

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

I-1) Historique :

L'histoire des huiles essentielles est largement liée à celle de l'aromathérapie. En effet, 4000 ans av. J-C, les aborigènes australiens utilisaient déjà les plantes aromatiques pour traiter les infections par fumigations ou cataplasmes dans lesquels l'eau, l'argile et les plantes montraient leur efficacité synergique (CONNER, 1993).

La Chine est aussi un autre berceau de l'utilisation des plantes et de leurs essences pour guérir. Le Pen Tsao, premier ouvrage médicinal datant du 3^e millénaire avant J.C., relate l'emploi d'une centaine de plantes telles que l'anis, le curcuma, la cannelle, et le gingembre.

Mais, c'est autour du bassin méditerranéen que la science des plantes va vraiment s'établir avec les grandes civilisations égyptienne, babylonienne, puis grecque et romaine. Les plantes étaient utilisées dans tous les domaines de la vie (CONNER, 1993).

Les pays arabes et musulmans vont faire considérablement progresser l'aromathérapie. Grace à Avicenne, médecin et philosophe qui produit la première huile essentielle pure : c'est une huile essentielle de rose. Pour cela il met au point un alambic. Il écrit de nombreux ouvrages médicaux dans lesquelles il fait une large place aux huiles essentielles (FREEMAN ET CAREL, 2006).

Durant le vingtième siècle, René-Maurice Gattefossé en 1918, véritable père de l'aromathérapie moderne, chimiste et parfumeur, se brûle la main lors d'une explosion dans son laboratoire. Il a le réflexe de plonger sa main dans un récipient contenant de l'huile essentielle de lavande vraie. Le soulagement est immédiat et la guérison de la plaie ainsi que sa cicatrisation sont d'une rapidité déconcertante. Face à ce résultat surprenant, il se consacre à l'étude antibactérienne des huiles essentielles.

En 1964, le Dr JEAN VALNET, auteur d'une vulgarisation importante, relance l'usage médicinal des huiles essentielles. Paul Duraffourd invente l'aromatogramme, Christian Duraffourd et Jean-Claude Lapraz prendront le relais. Ces spécialistes en phytothérapie et en aromathérapie vont concevoir des préparations magistrales à base d'huiles essentielles, un ensemble thérapeutique capable de soulager voire de guérir.

I-2-Définition :

Les huiles essentielles sont des substances organiques aromatique, liquide, d'origine végétale, elles sont très concentrées, volatiles, sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (VIGNEAU, 1985, PADRINI et LUCHEROUNI, 1997).

Plus récemment, la norme AFNOR NF 75-006 5 Février 1998 a donné la définition suivante d'une huiles essentielles « produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur, soit par procédés mécaniques à partir de l'épicerpe de citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention. Elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (BRUNETON, 2008).

Depuis sa 9^{ème} édition, la pharmacopée n'utilise plus que le terme «huiles essentielles » pour désigner ces substances appelées aussi dans le langage courant par «essences naturelles» ou encore extraits aromatiques de plante. Le terme « huile » se rapportant au caractère visqueux et hydrophobe de ces substances, et le terme « essentielle » se comprenant comme étant la caractéristique principale de la plante.

I-3-Lieu de synthèse et localisation

Selon TEUSCHER (2005) les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule transformée en cellules à essence, dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, ou des canaux sécréteurs. Elles peuvent être transportées dans l'espace intercellulaire lorsque les poches à essence sont localisées dans les tissus internes.

Les familles les plus riches en l'huile essentielle sont : les lamiacées (lavande, thymus), les apiacees (Anis, Fenouil), les Myrtacees (Eucalyptus), les lauracees (camomilles), les Abiacees (Pins), etles Poacees (Citronnellesetc).

Toutefois, selon GHESTEM *et al* (2001) tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier :

- Les sommités fleuries (Lavande, Menthe) ;
- Les écorces (Cannelier) ;
- Les racines (Vétiver) ;
- Les rhizomes (Gingembre) ;
- Les fruits (Anis, Fenouil, Badiane) ;
- Les feuilles (Eucalyptus) ;
- Les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) ;
- Le bois (Camphrier).

I-4) Les propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont volatiles, très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante. Elles ne sont que très rarement colorées, leurs densités sont en général inférieures à la densité de l'eau sauf les huiles essentielles de saffron, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé, et sont très peu solubles dans l'eau et solubles dans les alcools, dans les huiles fixes, et dans la plupart des solvants organiques (BRUNETON, 1999 ; GHESTEM *et al*, 2001).

Elles ont des points d'ébullition toujours supérieurs à 100°C et dépendent de leur poids moléculaire (ABOU ZIED, 2000).

5) Le rôle des huiles essentielles chez la plante

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation ou au contraire pour se protéger contre les prédateurs (insectes herbivores, micro-organismes) (BELAICHE, 1979).

D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement. (BELAICHE, 1979) signale que l'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques est liée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de saturer l'air autour de la plante empêchant, le jour, la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon excessive.

I-6) Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Les huiles essentielles de différentes espèces ou d'une même espèce végétale peuvent varier d'une façon quantitative ou qualitative, cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifique du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante.

I-6-1) Facteurs intrinsèques

I-6-1-1) Cycle végétatif :

Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une essence peut varier d'une façon importante tout au long du développement. Le choix de la période de la récolte est donc important (PADRINI et LUCHEROUNI, 1997).

Selon (BARADA et ses collaborateurs 2007) la variation des valeurs du rendement chez la menthe peut être attribuée à la sénescence des feuilles récoltées au mois de novembre correspondant à la période après floraison. On note que les meilleurs rendements (1,6-1,8%) sont obtenus durant la période de floraison (juin-juillet).

I-6-1-2) L'organe producteur :

C'est la partie utilisée du végétal pour la distillation (ou l'expression). La composition chimique d'une plante varie selon la nature de ces organes, car la biosynthèse y est nettement différenciée (TENSHER et *al.*, 2005).

I-6-1-3) Les chémotypes :

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace (PIBIRI, 2005).

I-6-2) Facteurs extrinsèques

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (BRUNETON, 1999 ; MOHAMMAD *et al.*, 2009). Il n'y a eu beaucoup de travaux ayant mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première, les conditions culturales telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récoltes influençant aussi la composition et le rendement des huiles essentielles (BENINI, 2007; APROTOSO AIE *et al.*, 2010).

Aussi, La méthode d'extraction et l'état du matériel végétal influent aussi sur la composition et le rendement des huiles essentielles (FANTINO, 1990 ; VERZELE *et al.*, 1988).

I-7) la réglementation sur les huiles essentielles

La commission européenne a enregistré quelques composantes des huiles essentielles comme agents naturels de conservation des aliments, ils ont souligné que ces derniers ne présentent aucun risque pour la santé du consommateur. Les composés mentionnés sont : le carvacrol, le carvone, le citral, le thymol, le cinnamaldehyde, le p-cymene, l'eugénol, le limonène, et le menthol. De nouveaux composés pourrait être évalués pour l'enregistrement après avoir faire les études toxicologiques et métaboliques nécessaires (Décision de la commission du 23 janvier 2002) (BURT *et al.*, 2007).

Selon (LAFFSSAPS, 2008) le règlement CE fixe une procédure communautaire dans le domaine des substances aromatisantes utilisées ou destinées à être utilisées dans les denrées alimentaire. Il définit les étapes qui conduiront à la publication d'une liste de substances aromatisants autorisées à l'exclusion de toute autre.

I-8) Production des huiles essentielles

A l'échelle mondiale, la production des huiles essentielles est d'environ 30 tonnes par an, Les principaux pays producteurs sont les Etats-Unis, la chine, le Maroc, la Bulgarie, l'Inde, la France, l'Egypte et l'Espagne. L'Algérie se hisse à la 10ème place avec 8000 dollars de capitaux générés par l'exportation d'huile essentielle, à la fin des années 70 (TCHNOUMBOUGNANG *et al.*, 2009). (DJEDDI 2012) affirme que les huiles essentielles exportées par L'Algérie provenaient soit des cultures familiales ou des plantes spontanées, tels que la menthe, Le jasmin, Le romarin, L'origan, Le thym, la sauge... Actuellement la

production des huiles essentielles est limitée à quelques producteurs privés artisanaux qui ne subvient pas au marché national.

Tableau 1. Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008 (PERFUMER & FLAVORIST, 2009).

Huiles essentielles	Production (Tonnes)	Principaux pays producteurs
Huiles d'oranges	51000	USA, Brésil, Argentine
Huiles du citron	9200	Argentine, Italie, Espagne
Huiles de l'eucalyptus	4000	Chine, Inde, Australie, Afrique du Sud
Huile de la menthe poivrée	3300	Inde, USA, Chine
Huile du clou de girofle	1800	Indonésie, Madagascar
Essence de la citronnelle	1800	Chine, Sri Lanka
Huiles de la menthe verte	1800	USA, Chine
Huiles du bois de cèdre	1650	USA, Chine
Huile du patchouli	1200	Indonésie, Inde
Huile de la lavande	1100	France

I-9) Les méthodes d'extraction

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique, différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants (GARNERO, 1977).

I-9-1) Extraction par hydro-distillation

Le principe de cette technique d'extraction consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau, qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparé par différence de densité (BRUNETON, 1992).

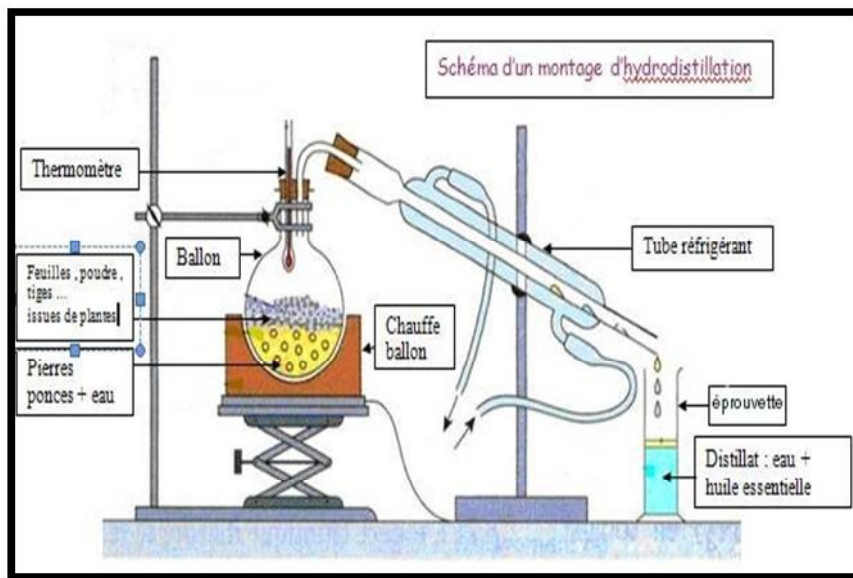


Figure 1 : Schéma de l'extraction par hydro distillation.

I-9-2) La distillation à la vapeur

Le matériel végétal, dans ce cas, n'est pas en contact avec l'eau. Il se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond d'un alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit ainsi obtenu se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (ANES et *al.*, 1968 in BENJILALI, 2004).

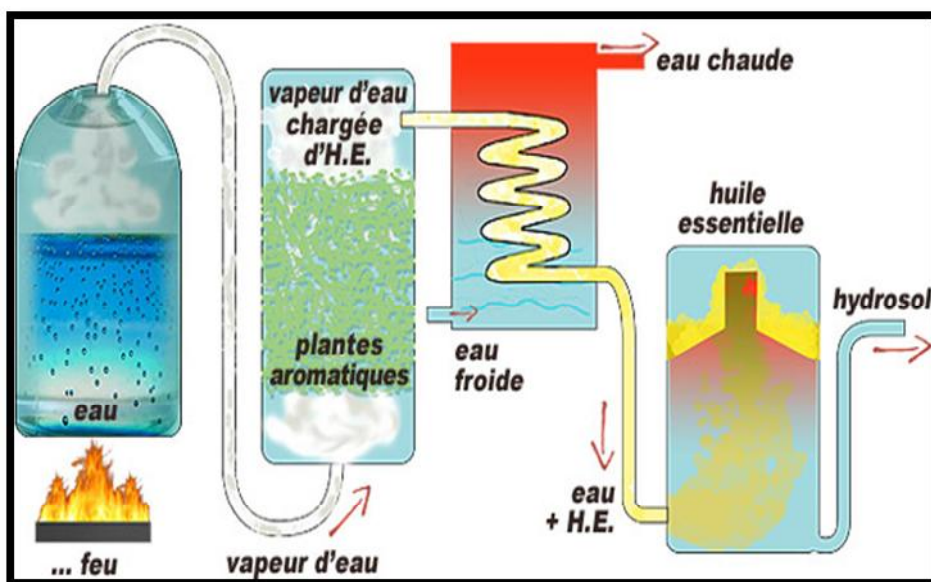


Figure2 : Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur.

I-9-3) Hydro diffusion

C'est une variante de l'entraînement à la vapeur qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur, l'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composés volatiles (ANES et *al.*, 1968 in BENJILALI, 2004 ; BRUNETON, 1999).

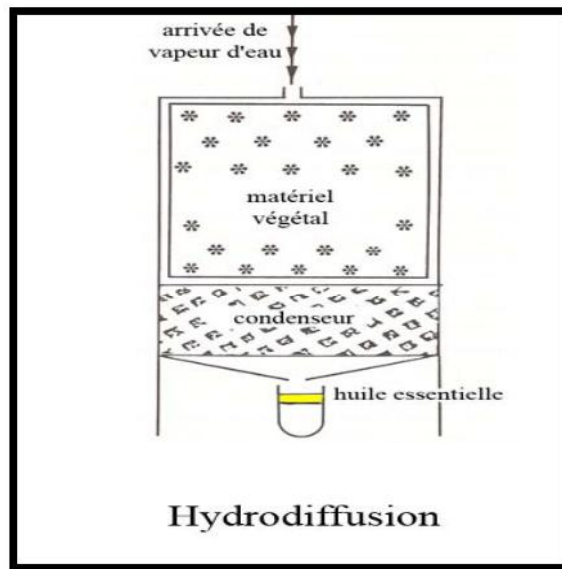


Figure3 : Schéma d'extraction par hydrodiffusion

I-9-4) L'expression à Froid

L'extraction par expression à froid est souvent utilisée pour extraire les HE des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle. Ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (CHARENTREAU et *al.*, 2003).



Figure 4 : Extraction par expression à froid

I-9-5) L'enfleurage

Elle consiste à rendre soluble les principes odorants dans des matières grasses (BELAICHE, 1979). Cette technique est réservée à certaines fleurs extrêmement délicates, comme le jasmin, la tubéreuse et les fleurs d'oranger. La substance ainsi obtenue a une concentration très élevée ; elle est ensuite diluée et traitée avec d'autres solvants qui dissolvent la matière grasse (PADRINI et LUCHERONI, 1997). Elle peut se réaliser à froid ou à chaud (60 à 70°C) (SALLE, 1991).

I-9-5-1) L'enfleurage à froid

Elle convient pour les fleurs fragiles dont l'odeur disparaît rapidement après la cueillette et ne supportant pas la chaleur. Pour réaliser l'enfleurage à froid les fleurs sont disposées sur leurs récoltes sur une couche de graisse, dans laquelle elles abandonnent leurs huiles essentielles. Les fleurs sont ensuite laissées pour une durée variable (24 heures pour le jasmin, 72 heures pour la tubéreuse par exemple), retirées puis remplacées par de nouvelles jusqu'à ce que l'élément gras soit saturé de parfum. La graisse est ensuite lavée à l'alcool éthylique et l'évaporation de ce dernier conduit à l'obtention d'huiles essentielles (BELAICHE, 1979, BRUNETON, 1999, BACHELOT *et al.*, 2008).



Figure 5 : Extraction par enfleurage à froid.

1-9-5-2) L'enfleurage à chaud

Est identique à l'enfleurage à froid mais avec la graisse chauffée au bain marie, une 'crème parfumée' est obtenue qui sera lavée à l'alcool, celui-ci ayant la propriété de se charger de leur odeur. Le mélange alcool-graisse est battu mécaniquement, puis laissé reposer avant de récupérer séparément la substance oléagineuse et l'alcool. L'alcool devenant un extrait parfumé, est filtré une dernière fois pour éliminer toute trace de graisse. L'huile essentielle est récupérée par évaporation de l'alcool (SALLE, 1991).

I-9-6) L'extraction par micro-ondes

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (PARE, 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France IDA, 1996).

Ce procédé, très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (BRUNETON, 1999). Par ailleurs, l'analyse des huiles essentielles obtenues par cette méthode a montré selon SCHEFFER, 1996) que la composition qualitative des huiles

essentiels était la même que celle des huiles obtenues par distillation mais le pourcentage des constituants variait de manière significative.



Figure 6 : Extraction par microonde.

I-9-7) Extraction par les solvants organiques

Certaines huiles essentielles ayant une densité voisine de l'eau, le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être utilisé dans ce cas, du fait de la difficulté de séparation des phases entre elles.

Le principe de l'extraction consiste à faire macérer la plante dans un solvant organique (ELABED et KAMBOUCHE, 2003). Au cours de la distillation du solvant, une partie des matières volatiles aux propriétés aromatiques et gustatives est néanmoins perdue (les plante aromatique). Ce procédé est très avantageux par rapport à l'hydrodistillation puisqu'il nécessite un volume moindre de solvant et une température plus basse (74C°) que celle de l'eau (100C°).

I-9-8) L'extraction au CO₂ supercritique

Le terme supercritique signifie que le CO₂, sous pression 73,8bar et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, le CO₂ est capable de dissoudre les huiles essentielles. La matière végétale est chargée dans l'extracteur ou est ensuite introduit le CO₂ supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite

recueilli dans un vase d'expansion ou la pression est considérablement réduite, le CO₂ s'évapore et il ne reste que l'huile essentielle (WEISSE, 2002 in BACHELOT *et al.*, 2006).

Cette méthode est très prometteuse car le produit obtenu est proche du naturel et sans trace de solvant. De plus le CO₂ est non toxique, incolore, inodore et inflammable, ce qui permet des conditions de sécurité supérieures (BRUNETON, 1999, WEISS, 2002 in BACHELO *et al.*, 2006).

I-10) Paramètre influant sur hydro distillation et entrainement à la vapeur

D'après (BELAICHE1979), les différentes méthodes utilisées pour extraire les huiles essentielles des plantes, conduisent à des produits présentant des compositions différentes. Selon (SALLE, 1991), les paramètres qui peuvent influencer sur les procédés d'extraction sont: La durée d'extraction, la température, la vitesse de distillation, et la quantité de vapeur.

I-10-1) La durée d'extraction:

Elle dépend de la quantité et de la qualité de l'huile à extraire. Ce temps est long lorsque les huiles sont situées dans des glandes endogènes, et court lorsque les sites sécréteurs sont exogènes (SALLE, 1999. COLIN 2000 in AZZOUG et LAMRAOUI).

I-10-2) La température :

Le choix de la température dépend en premier lieu de la solubilité de l'huile. En effet, l'augmentation de la température entraîne une diminution de la densité de l'huile par rapport à celle de l'eau ce qui facilite la séparation, néanmoins, le risque d'évaporation de l'huile essentielle augmente (SALLE, 1999. COLIN 2000 in AZZOUG et LAMRAOUI).

I-10-3) La vitesse de distillation :

C'est la quantité de distillat recueillie pendant une heure. La vitesse est exprimée en litre/ heure ou millilitre/minute (SALLE, 1991).

I-10-3) La quantité de vapeur :

C'est la quantité de vapeur d'eau utilisée pour extraire l'huile. Elle est exprimée en kilogramme de vapeur / kilogramme d'huile essentielle ou en Kg de vapeur / Kg de matière végétale. Elle dépend de la quantité et de la matière végétale utilisée, de la quantité et de la

composition de l'huile et de la vitesse d'extraction (SALLE, 1999. COLIN 2000 in AZZOUG et LAMRAOUI).

I-11) L'identification chimique des huiles essentielles

La méthode la plus couramment utilisée pour l'identification des huiles essentielles est le couplage chromatographie en phase gazeuse /Spectrométrie de Masse (CPG/SM). Il permet de connaître dans la grande majorité des cas la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (HARKATI, 2011).

I-12) La composition chimique des huiles essentielle

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures. En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes. Le groupe des terpénoïdes, d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. IL existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, esters et autres...) (RAHLI, 2002; EL ABED et KAMBOUCHE, 2003].

I-13) La conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont fragiles et volatiles (ANTON et LOBSTEIN, 2005).Elle doivent être conservées dans des flacons colorés, hermétiquement fermés, à l'abri de l'air, lumière et variations de température.

Si les conditions citées ci-dessus sont respectées, les huiles essentielles peuvent être conservées jusqu'à 2à5 ans en maintenant les flacons en position verticale.

A decorative scroll graphic with a black outline and grey shaded corners, framing the text.

Chapitre II

Activités biologiques des huiles essentielles

II-1) Activités antimicrobiennes

II-1-1) Définition d'un antimicrobienne

Sont définie comme étant des substances utilisées pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques (CE, 2001).

II-1-2) Mode d'action antibactérienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large dû principalement à leur grande affinité aux lipides membranaires grâce à leur nature hydrophobe (DORMANS et DEANS, 2000). Très peu d'études portant sur le mode d'action des huiles essentielles vis-à-vis des microorganismes ont été réalisées. En général les huiles essentielles empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. Sur les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium. Sur les moisissures, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse (HULIN et *al.*, 1998).

(KIM et *al.* 1995 in HULIN et *al.* 1998) rapportent que les huiles essentielles semblent posséder plusieurs modes d'action sur les différents microorganismes. Ces modes d'action sont:

- interférence avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, provoquant une augmentation de la perméabilité et la perte des constituants cellulaires ;
- altération des différents systèmes enzymatiques dont ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- destruction ou inactivation du matériel génétique.

II-1-3) Resistance des bactéries Gram(-) aux huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type de microorganismes. Les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides(LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêchent les terpènes hydrophobes d'y adhérer (CRISTIANI et *al.*, 2007).

Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram négatives *Aeromonas hydrophila* et *Campylobacter jejuni* (WANNISSOM et *al.*, 2005) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles.

La bactérie reconnue comme la moins sensible à leurs effets reste néanmoins la bactérie Gram négative *P. aeruginosa* (DORMAN et DEANS, 2000).

II-1-4) Essai de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans les aliments

En plus de la saveur donnée aux aliments, beaucoup de plantes aromatiques et leurs huiles essentielles montrent une activité antimicrobienne et pourraient empêcher la croissance des microorganismes d'altération et pathogène, améliorant de ce fait la sécurité alimentaire, la plupart des publications ont confirmé la possibilité d'employer les huiles essentielles dans les aliments pour prolonger la durée de conservation des aliments (SACCHETTI et *al.*, 2005).

En effet l'effet antimicrobien entre autre est réduit par la réaction ou interaction avec les composants des aliments. Toutefois il faut savoir que les concentrations des huiles essentielles nécessaires pour inhiber les micro-organismes dans un aliment dépassent celles in vitro quand un extrait est mélangé dans un aliment (PANDIT et SHLEF, 1997).

II-2) Activité antioxydante

Les plantes aromatiques élaborent des molécules caractérisées par de nombreuses fonctions capables de piéger les radicaux libres, d'où leurs effets antioxydants, les antioxydants transmettent aux radicaux oxygénés l'hydrogène des fonctions phénoliques ou forment des produits stables avec des radicaux d'acides gras et interrompent ainsi les réactions radicalaires en chaîne.

De bons capteurs de radicaux libres sont par exemple les dérivés de l'*o*-dihydroxybenzène (comme les flavonoïdes et les isoflavonoïdes), les dérivés de l'acide caféique (comme les acides rosmarinique), les anthocyanes, les *o*-dihydroxycoumarines, les lignanes et les dihydroxyterpènes aromatiques. (TENSCHER et *al.*, 2005).

II-2-1) Définition d'un antioxydant

Les antioxydants sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, et retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit.

En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, il est stable dans le produit fini (POKNORY et *al.*, 2001).

II-2-2) Mécanisme de l'oxydation

Le mécanisme d'oxydation des matières grasses est radicalaire et suit trois étapes:

- Les réactions d'initiation qui, à partir d'acides gras non saturés, conduisent à la formation de radicaux libres ou de peroxydes lipidiques;
- Les réactions de propagation aboutissant à une accumulation de peroxydes lipidiques;
- Les réactions de terminaison (ou d'arrêt) au cours desquelles les radicaux libres s'associent pour donner des composés non radicalaires très divers (Figure 7) (DILMI-BOURAS, 2004; ALAIS *et al.*, 2008; DURAN *et al.*, 2010).

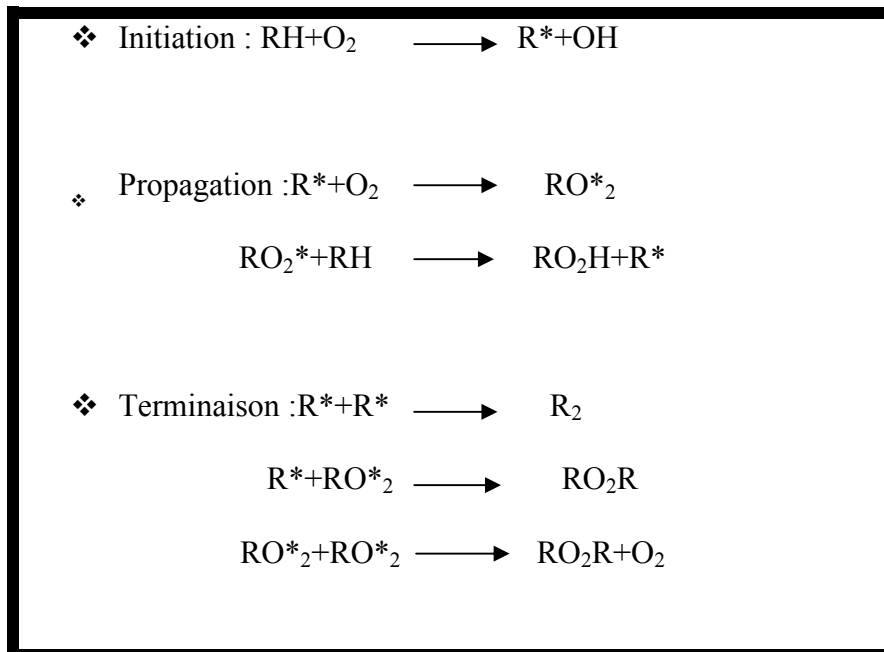


Figure 7 : Les différentes étapes de l'oxydation.

II-2-3) Conséquences des réactions d'oxydation

Les réactions d'oxydation donnent naissance à de nombreux composés. En premier lieu, il convient de citer les aldéhydes et cétones de faible masse moléculaire qui sont responsables de l'odeur de rance, c'est la première altération qui se manifeste d'autant que certains d'entre eux sont perçus à des concentrations très faibles, Par ailleurs, les composés carbonylés peuvent réagir avec les protéines ou plus généralement favoriser le brunissement

non enzymatique, et la présence de lipides peut aussi provoquer l'oxydation secondaire de divers arômes (ALAIS et *al.*, 2008; CUVELIER et MAILLARD, 2012).

Les dégradations oxydatives affectent les qualités nutritionnelles, sensorielles et commerciales des aliments et peuvent avoir des répercussions sur la santé du consommateur. Elles sont également mises en cause dans le vieillissement des tissus biologiques ainsi que dans de nombreuses pathologies comme l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, les complications du diabète (diabète non insulino-dépendant, aussi appelé diabète gras) et l'inflammation (MANCHADO et CHEYNIER V, 2006 ; GENOT C. et MICHALSKI M. C, 2010).

II-2-4) Essais de l'activité antioxydant des huiles essentielles dans les aliments

Quelques récentes publications ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques. Les effets antioxydants des huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes hydroxyles dans leurs structures chimiques (HUSSAIN, 2009).

Les extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) possèdent une activité antioxydante très intéressante et sont souvent utilisés pour la stabilité des aliments. (Djenane et *al.*, 2001) ont utilisé 1000 ppm d'huile essentielle de romarin sur la viande rouge du bœuf, l'activité antioxydante obtenue a été très significative et pourrait être attribuée à la présence de composés phénoliques dans les extraits de romarin qui bloquent la chaîne de radicaux libres par donation d'atome H.

Les études de l'équipe du Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (CAILLET et LACROIX, 2007).

Récemment, une autre étude a été réalisée pour essayer la formulation des margarines de table additionnées d'huiles essentielles de *Citrus limon*, en vue de les exploiter et de les substituer à un additif synthétique « le Tocoblend ». Les résultats de l'évaluation de la stabilité oxydative obtenus ont montré que les margarines à huiles essentielles de *Citrus limon* étaient plus résistantes que celle au Tocoblend vis-à-vis de l'oxydation forcée (HIMED, 2011).

D'autres auteurs ont recensés parmi les plantes aromatiques celles qui ont une activité très oxydante : (la sarriette, le clou de girofle, le gingembre, le poivre, le romarin, la sauge, le thym et l'oignon) (TENSCHER et *al.*, 2005).

II-3) Activité antivirale

De nombreuses familles de molécules ont montré *in vitro* une activité antivirale et, parmi elles, les monoterpénoles et les monoterpénols. Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques, et de nombreuses pathologies virales sévères montrent des améliorations importantes avec leur utilisation, de plus des cellules saines traitées avec des molécules aromatiques acquièrent une résistance toute particulière vis-à-vis de la pénétration virale (ZHIRI, 2006).

Les huiles essentielles sont sélectivement absorbées et perturbent les fonctions des membranes hormis les virus (les huiles essentielles ne sont actives que sur les virus à enveloppe comme celui de la grippe, de l'herpès et du HIV) (INOUY; ABE, 2007).

II-4) Activité insecticide

Les insectes forment la plus grande classe du règne animal, parmi eux des dizaines de milliers d'espèces présentent un risque pour l'homme, les animaux domestiques, et pour l'agriculture. L'utilisation des molécules synthétiques contre les insectes produit des effets secondaires, contrairement aux huiles essentielles, qui présentent une forte activité contre ces insectes et leurs larves en empêchant fréquemment la reproduction. Aujourd'hui 50% de la production d'huiles essentielles est consacrée pour la production des insecticides (REGNAULT, 1997).

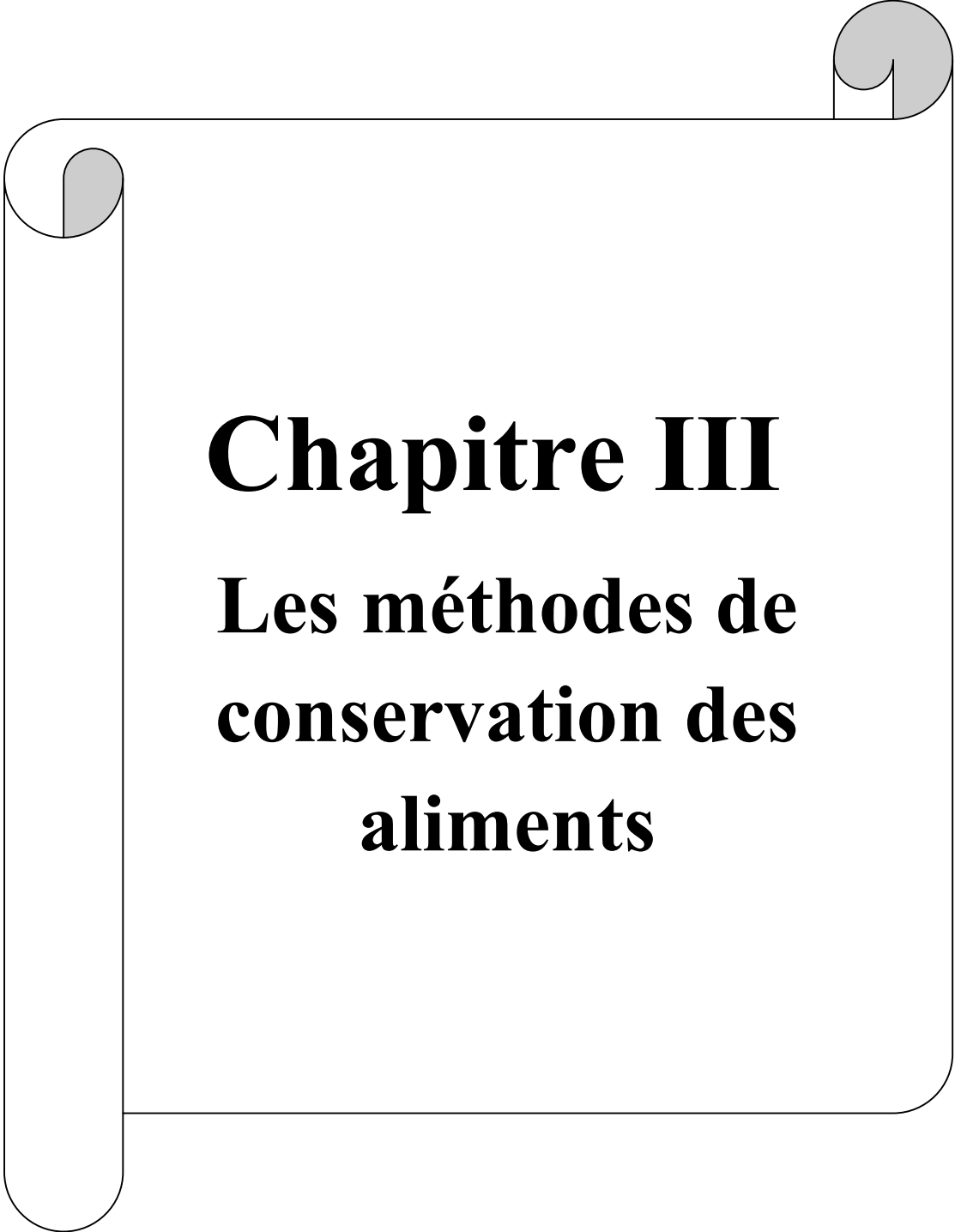
II-5) Activité fongicide

Les huiles essentielles ont la capacité de s'opposer au développement des champignons et des moisissures en les détruisant. (QURAINI et ses collaborateurs, 2005) ont révélé une inhibition significative par les huiles essentielles de thym, menthe pouliot et romarin ou leur fraction volatile tant sur la germination des spores que sur la croissance mycélienne des dermatophytes.

(KORDALI et ses collaborateurs 2008) ont montré que c'est le groupement hydroxyle sur les composants majoritaire à cycle aromatique qui cause des altérations sur les hyphes mycéliens et provoquant ainsi leur lyse.

II-6) Activité anti- inflammatoire, anti-brulure et cicatrisante

L'étude (VOINCHET et GIRAUD –ROBERT, 2007) et menée chez des patients à peine sortis du bloc opératoire, montre l'efficacité de l'effet anti-inflammatoire des HEs grâce à leurs propriétés vasculaires et cicatrisantes, réduisant ainsi les suites opératoires de manière immédiate et offrant une évolution et une maturation cicatricielle rapide et optimale.

A decorative graphic of a scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered on the white surface of the scroll.

Chapitre III

Les méthodes de conservation des aliments

La conservation des aliments vise à préserver leur comestibilité, et leurs propriétés gustatives et nutritives. Elle implique notamment d'empêcher la croissance de microorganismes, et de retarder l'oxydation des graisses qui provoque le rancissement. Des techniques de conservation ont été mise au point pour modifier ou supprimer les facteurs éventuels d'altération liés au milieu de conservation ou à l'aliment lui-même (VIERLING., 1998).

III-1) techniques de conservation par le froid

Le froid est une technique de conservation des aliments qui arrête ou ralentit l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des microorganismes (DARINMOU., 2000). Il prolonge ainsi la durée de vie des produits frais, végétaux et animaux en limitant leur altération (MURIELLE M., 2009).

Le respect de la chaîne de froid contribue à assurer l'innocuité des aliments et à conserver leur qualité puisque toute hausse de température accélère la croissance des microorganismes et réduit la durée de vie de l'aliment (QUEBEC., 2014).

III-1-1) La réfrigération

La réfrigération consiste à entreposer les aliments à une température basse, proche du point de congélation mais toujours positive par rapport à celui-ci (DARINMOU., 2000). Généralement la température de réfrigération se situe dans les alentours de 0°C à 4°C.

La réfrigération correspond donc à une conservation par le froid positif pendant une durée limitée puisque les produits réfrigérés bénéficient d'une date limite de consommation (DLC) (EMILIE F., 2009).

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

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

III-1-2) La congélation

La congélation est un procédé de conservation de longue durée car elle inhibe à la fois l'altération enzymatique, chimique et le développement microbien (EMILIE F., 2009).

C'est l'action de soumettre au (à -18°C) des produits alimentaires (BOUMENDJEL M., 2005).

Elle permet de consommer les aliments plusieurs années après le début de leur congélation si celle-ci est ininterrompue (MORGANE D., 2013).

III-1-3) La surgélation : congélation ultra-rapide

Cette technique qui met en œuvre des températures plus basses que la congélation (MURIELLE M., 2009). C'est une technique de refroidissement brutal ($-30^{\circ}\text{C}/-50^{\circ}\text{C}$) puis de congélation à -15°C (MORGANE D., 2013). On peut surgeler les légumes, les fruits, certains fromages, les beurres, les œufs, les jus de fruits, les viandes, et les plats cuisinés. par ce procédé La conservation peut dépasser deux ans. Toutefois il faut que l'emballage de surgelé soit étanche à la vapeur d'eau et au gaz (risque d'oxydation ou de prise d'odeurs) (BOUMENDJEL M., 2005).

III-2) Les techniques de conservation par la chaleur

Le traitement des aliments par la chaleur est aujourd'hui la plus importante technique de conservation de longue durée (DARINMOU., 2000). Ce type de conservation par la chaleur qui fait uniquement appel à un procédé physique de nature thermique, à pour but de dénaturer les enzymes susceptibles d'altération et de détruire les micro-organismes présents dans les aliments (MURIELLE M., 2009).

III-2-1) La pasteurisation

La pasteurisation est un traitement thermique pour la conservation des aliments inventé par Louis Pasteur en 1856 par lequel un aliment est chauffé à une température définie pendant une période de temps fixée avant d'être refroidis rapidement. Les températures de pasteurisation sont inférieures à 100°C puisqu'elles varient de 70°C à 85°C (EMILIE F., 2009).

Du point de vue technologique, la pasteurisation est effectuée soit sur des produits préalablement emballés (bouteille en verre, emballages plastiques thermostables...), soit sur des produits en "vrac" (souvent liquides) (EMILIE F., 2009).

III-2-2) La stérilisation

La stérilisation est une technique destinée à éliminer tous les micro-organismes pathogènes y compris les formes sporulées, et la plus part des autres germes susceptibles de contaminer un produit alimentaire. Les aliments stérilisés se conservent donc à températures ambiante tant que le récipient n'a pas été ouvert et bénéficient d'une date limite d'utilisation optimale (DLUO) (EMILIE F., 2009).

Il existe deux techniques de stérilisation (voire le tableau N°1) :

Tableau n°1 : les différentes techniques de stérilisation.

Non et la technique de pasteurisation	Traitement		Appliquée pour
	Température appliquée	Durée de traitement	
La stérilisation classique	110 à 115°C	Quelques minutes	Lait, viandes, légumes, poissons
La stérilisation par ultra haute température (UHT)	140 à 150 par injection de vapeur	Quelques secondes	Lait, crèmes fraiche liquide, potage, jus de fruits

III-3) Techniques de conservation par abaissement de l'activité de l'eau

La technique de déshydratation a pour but d'éliminer partiellement ou en quasi-totalité l'eau des aliments en vue d'y abaisser l'activité de l'eau "Aw". De plus, l'élimination quasi-totale de l'eau permet une conservation encore plus longue (EMILIE F., 2009).

III-3-1. Concentration

La concentration ne donne lieu qu'à une élimination d'eau partielle, mais elle permet d'obtenir un produit dont la pression osmotique est parfois suffisante pour entraver tout développement microbien (MAFART P., 1991).

L'élimination de l'eau peut être réalisée:

- par voie mécanique (centrifugation, égouttage, pressurage, et ultrafiltration) ;
- par voie thermique avec des procédés traditionnels (séchage à l'air) en industriels (évaporateur, séchoir, et tour de séchage) (MURIELLE M., 2009). A noter que l'industrie agroalimentaire est très utilisatrice de ce type de procédé (café soluble, champignons, céréales, soupes, sauces, plats cuisinés, etc.) (EMILIE F., 2009).

III-3-2) Séchage

Le séchage est un procédé de conservation extrêmement ancien, qui privant l'aliment d'eau libre, interdit toute activité microbienne ou enzymatique (MAFART P., 1991).

Il permet de conserver de bons aliments naturels, d'avoir tout au long de l'année des aliments sains. Les produits séchés, bien conservés à l'abri de la lumière, gardent leur saveur et leur valeur nutritive pendant environ un (1) an. Le volume des aliments est parfois réduit jusqu'à 90%. Par exemple, un kilo de pommes fraîches donne 100 grammes de pomme séchée (YOLANDE B., 2001).

III-3-3) Lyophilisation

Autrefois appelée cryodessiccation est un procédé de séchage dont le principe consiste à sublimer la glace d'un produit congelé: l'eau du produit passe donc directement de l'état solide à vapeur (MAFART P., 1991).

La lyophilisation est un processus de déshydratation qui consiste en l'élimination de l'eau par sublimation. Le principal avantage de cette technique est la qualité supérieure du produit fini. Grâce à l'abaissement de l'activité de l'eau du produit, la lyophilisation réduit les risques de la réaction d'altération et inhibe la croissance des microorganismes. Cette technique permet de conserver à la fois le volume, l'aspect et les propriétés du produit traité (MACHACINE A., 2007).

III-3-4) Sucrage

Le sucre est un excellent conservateur grâce à sa grande avidité pour l'eau. Le rôle du sucre ressemble à celui du sel sauf qu'il n'est efficace qu'à de très fortes concentrations (65-67%) (BOUMENDJEL M., 2005).

La concentration par le sucre ou sucrage ne peut se faire qu'à chaud puisque l'aliment doit perdre une partie de l'eau qu'il contient par évaporation tandis que le sucre une fois dissous, se lie aux molécules d'eau et les rend indisponibles pour la croissance des microorganismes (MURIELLE M., 2009).

La conservation par le sucre est un savoir faire connu depuis de nombreux siècles et que l'on peut retrouver encore de nos jours dans la fabrication des confiseries (fruits confits) et des confitures (GERALDINE D., 2009).

III-3-5) Salage ou salaison

La conservation par le sel ou salage consiste à soumettre une denrée alimentaire à l'action du sel :

- soit en le répandant directement à la surface de l'aliment (salage à sec) ;
- soit en immergeant le produit dans une solution d'eau salée (saumurage) ;

En diminuant l'activité de l'eau du produit, ce procédé permet de freiner ou bloquer le développement microbien. Cette technique est essentiellement utilisée en fromagerie, et en charcuterie (MURIELLE M., 2009).

III-4) Les techniques de conservation par l'abaissement du pH

Deux voies sont possibles pour parvenir à un abaissement de la valeur du pH :

III-4-1) Conservation par ajout de composés acides

Certains aliments sont conservés dans des vinaigres, ou acide acétique. On utilise cette méthode pour des légumes (chou, betterave, oignons, concombre) et des fruits (citrons,

olive)(JAMES I. et *al.*, 2000). Il faut saler le produit et le faire chauffer avant de le plonger dans le vinaigre pour pouvoir le stocker (JAMES I. et *al.*, 2000).

III-4-2) La conservation par fermentation

Les procédés biotechnologiques de transformation des aliments mettent en œuvre des microorganismes vivants, dont l'activité métabolique permet les transformations désirées (traditionnellement dites fermentations). Depuis des millénaires, la fabrication de fromages, et autres laitages fermentés est connue en Europe et en Asie.

Plus tard, l'homme apprit à exploiter et accroître l'action fermentative des microorganismes. Aujourd'hui l'activité microbienne est assez bien connue. Les aliments et boissons fermentés constituent un secteur très important de l'industrie alimentaire. Les principaux types de micro-organismes utilisés par l'industrie alimentaire sont les bactéries (camembert), les champignons/moisissures (fromages, sauce de soja), et les levures (pain, bière, vin) (WERNER L. et *al.*, 2010).

III-5) Le conditionnement par l'ajout de conservateurs chimiques

Les conservateurs chimiques n'ont pas la capacité de rendre sain un produit qui ne l'était pas avant son traitement, ni d'améliorer la qualité d'un mauvais produit; ils peuvent seulement conserver au produit ses caractéristiques initiales plus longtemps que l'ordinaire. On trouve essentiellement des conservateurs minéraux (nitrates, nitrites, et sulfites) ainsi que des acides organiques (acide acétique, lactique, propionique, et sorbique) (MURIELLE M., 2009).

III-6) Contrôle de l'atmosphère

Les gaz présents dans l'air atmosphérique entourant l'aliment influencent sa conservation. Les principaux gaz mis en jeu sont:

- **l'azote:** (78%) gaz inerte qui n'influence pas directement la conservation de l'aliment ;
 - **l'oxygène:** (21%) stimule la croissance des bactéries aérobies, donc l'altération microbienne de l'aliment, et permet des réactions d'oxydations responsables de l'altération des qualités organoleptiques;
- **le dioxyde de carbone et les gaz rares (Argon, Néon, Hélium):** (1%) des gazes à des concentrations élevées (>10%) exerce un effet bactériostatique et fongistatique reconnu: il empêche le développement de certains germes aérobies et des moisissures, surtout en l'absence de l'oxygène.

III-6-1) Le conditionnement sous vide

L'objectif de cette méthode est de supprimer de l'environnement de l'aliment, le principal agent d'altération c'est à dire l'oxygène. Le conditionnement sous vide permet d'atteindre une teneur résiduelle en O₂ de 1% (ROMAIN J. *et al.*, 2007).

La durée de vie d'un produit alimentaire peut être prolongée en le conditionnant sous vide. Les microorganismes aérobies sont alors inhibés et le produit est protégé vis-à-vis de l'oxydation et de la dessiccation. Cependant, les produits utilisés doivent être de bonne qualité sanitaire. La conservation sous vide peut par conséquent être associée à une réfrigération ou à une congélation (EMILIE F., 2009).

Le gaz intervient comme conservateur mais, en plus, il permet d'éviter l'écrasement des aliments dans leur conditionnement sous vide (JEAN-PIERRE D., 2000).

III-6-2) Le conditionnement sous atmosphère modifiée

Le conditionnement sous atmosphère modifiée (CAM) est une technologie d'emballage employée couramment en vue de conserver les produits alimentaires frais.

Dans un système de conditionnement sous atmosphère modifiée, les gaz qui composent l'intérieur de l'emballage sont remplacés par un gaz unique ou mélange gazeux ; dans le but d'accroître la durée de conservation du produit (CMC, 2000). Cette modification de l'atmosphère entourant le produit alimentaire permet de réduire le taux d'oxygène, tout en maintenant le niveau d'humidité, et de contrôler les réactions chimiques et enzymatiques ou microbiennes conduisant aux dégradations. Celles-ci sont éliminées ou plus ou moins réduites pendant la durée de conservation commerciale du produit alimentaire (MURIELLE M., 2009).

III-7) La bioconservation :

La bioconservation, ou biopréservation, est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des microorganismes, appelés encore culture protectrices, ou à leurs métabolites naturels. Ces termes sont généralement utilisés en opposition à l'ajout de conservateurs dits «chimiques» classiquement utilisés dans les industries agro-alimentaires. La biopréservation, comme toute autre méthode de conservation, doit permettre de maîtriser la croissance de flores pathogènes ou d'altération, tout en préservant les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit au cours de sa vie. Outre les microorganismes et leurs métabolites, La biopréservation peut faire appel à d'autres composés, comme la lactoperoxydase, une enzyme naturellement présente dans le lait, ou à des extraits végétaux (duromarin, thym, thé vert ou de pépin de raisin, et huiles essentielles) (ZAGOREC ET CHRISTIEANS., 2013).



Chapitre IV

La saucisse

I.1 Les saucissons

Les saucissons sont des produits de charcuteries prêts à être consommés, constitués des boyaux remplis de la viande hachée. Ils sont fabriqués soit à partir des viandes des porcs, des bœufs, des veaux, des moutons, d'agneau ou soit encore à partir de celles de volailles. Ils sont fabriqués d'une manière industrielle ou artisanale (LAMBERT., 2005).

Ils sont considérés comme des aliments de choix en raison de leurs valeurs nutritives. Leurs richesses en protéines et la nature de celles-ci, font de ces produits des aliments indispensables pour une ration alimentaire équilibrée. Cependant, en raison même de leurs qualités nutritionnelles, la saucisse et le saucisson constituent des milieux très favorables aux contaminations (OUMOKHTAR et al., 1998).

Ces contaminations microbiennes peuvent d'une part altérer leurs qualités marchandes (le goût, l'odeur, l'aspect,...) et d'autre part, elles causent deux types de maladies alimentaires : les toxi-infections alimentaires (TIA) et les maladies infectieuses d'origine alimentaire.

I-1-1/ les toxi-infections alimentaires (TIA) : sont causées lorsque les germes produisent dans certaines conditions, un poison appelé toxine responsable des divers troubles : diarrhées, vomissements, fièvre, douleur abdominales, et même la mort. Ces toxines sont en effet parfois mortelles comme la neurotoxine botulique qui est 20000 fois plus active que l'arsenic (LAMBERT., 2005).

Les principaux germes producteurs des toxines sont : les bactéries (les *Salmonelles*, *Listeria monocytogènes*, *Yersinia campilobacter enterocolitica*, les *staphylocoques dorés*, les *Clostridium botulinum*, *jejuni*, *Escherichia coli*), les levures pathogènes (*Candida albicans*...), et les moisissures et virus (OUMOKHTAR et al., 2005).

I-1-2/ Les maladies infectieuses d'origine alimentaires : sont moins fréquentes que les toxi-infections alimentaires. Elles sont dues au développement des germes dans l'organisme, après ingestion d'un aliment contaminé. Parmi ces maladies on peut citer :

- gastro-entérites (infantiles) à *Escherichia coli* ;
- entérocolite à *shigella*, *Yersinia* ;
- listérioses : *Listeria monocytogènes* ;
- les fièvres typhoïdes dues à *Salmonella typhi* et *paratyphi* ;
- la *dysenterie bacillaire*.

II) Différentes contaminations da la viande :

On rencontre deux types de contamination : une contamination profonde (endogène) et une contamination superficielle (exogène). Les étapes susceptible d'introduire les germes contaminants sont nombreuses (PLUSQUELLEC, 1991 ; BENEDEDOUCHE, 2001).

II-1/ Les contaminations profondes

La putréfaction profonde s'installe dans les masses musculaires internes des carcasses des viandes, ce type d'altération est traduit par l'apparition d'une couleur anormale (grise ou verdâtres) avec un dégagement d'une odeur très désagréable due au développement des bactéries protéolytiques strictement anaérobies telles que les *Clostridium* (BOURGEOIS, 1980).

La contamination de la viande en profondeur (in vivo) n'est pas très fréquent car les animaux malades sont systématiquement éliminés, néanmoins, il reste les animaux sains, il peut y avoir aussi des contaminations au cours de l'abattage et une contamination des carcasses par les bactéries intestinale qui peut prendre place plusieurs heurs après la mort lorsque la paroi intestinale fragilisé permet l'entrer de ces bactérie d'ou le danger d'une éviscération tardive. Et cette contaminations peuvent être aussi provoquée par l'environnement, les instruments, et les manipulateurs (MARIEL et *al.*, 2002).

Les principaux microorganismes, qui peuvent se trouver dans les viandes suite à une contamination profonde sont : *salmonella*, *E. coli* et *clostridium perfringens* (MORISSE et *al.*, 1985).

II-2/ Les contaminations superficielles

Les contaminations superficielles des carcasses sont beaucoup plus importantes que les contaminations en profondeur (SOINNEAU, 1993).

D'après GRAND (1983), elles sont situées aux environs de 10^3 - 10^4 germes /cm², et proviennent essentiellement de l'animal lui-même (poils, excréments), de l'aire d'abattage (sol, manipulateur), des ateliers de découpe et des chambre de stockage.

L'origine exogène de ces contaminations montre l'importance des règles d'hygiène à respecter lors de la préparation des carcasses (LASTA et *al.*, 1992).

Les contaminations superficielles se traduit par l'apparition d'une couche visqueuse, accompagnée d'une odeur nauséabonde, les agents de cette putréfaction appartiennent aux genres *Pseudomonas* et *achromobacter*, sont des psychrotrophes et la contamination peut se

développer même au froid. Il y a également des altérations superficielles causées par d'autres bactéries telles que: *Micrococcus*, *Lactobacillus*, des levures ou des moisissures (BOURGEOIS, 1980).

III) Facteurs de multiplication de la microflore de la viande :

ROSSET (1988); BOURGEOIS et *al* (1996) ont évoqué quatre facteurs de la croissance microbienne dans la viande, il s'agit de :

- l'activité de l'eau (a_w) ;
- le potentiel d'hydrogène (pH) ;
- le potentiel d'oxydoréduction (rH) ;
- la température ;

III-1/L'activité de l'eau (a_w)

Elle est définie comme étant la disponibilité en eau du milieu (viande), Elle joue un rôle important dans la multiplication, la croissance et le métabolisme des microorganismes, qui dépendent essentiellement des capacités d'échange entre la cellule microbienne et le milieu qui l'environne, donc de l'eau disponible (GAUTHIER et *al.*, 1986).

L' a_w de la viande fraîche est de 0,98-0,99, elle est favorable à la multiplication de toutes les espèces microbiennes (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

III-2 /Le potentiel d'oxydoréduction (rH)

Le Rh baisse rapidement pour atteindre 4 à 6 heures après l'abattage une valeur de -200 Mv. Le sang étant plus renouvelé, la réserve en oxygène devient faible, il se crée donc, des conditions réductrices dans la profondeur de la viande. Ces dernières sont favorables au développement des germes anaérobies de putréfaction (HOBBS, 2004).

III-3 /Le potentiel d'hydrogène (pH)

Les micro-organismes sont très sensibles aux variations du pH. Leur développement est réduit par un pH acide de 5,5 à 5,7, atteint lors de la rigidité cadavérique. Le pH reste fixe dans le cas des viandes produites et conservées d'une manière normale, ce qui n'est pas le cas des viandes DFD dont le pH s'élève à 6,2-6,5 les rendant ainsi sujette aux actions microbiennes et de ce fait aux putréfactions (ROZIER et *al.*, 1986, GRANDIN, 1988).

III-4 /La température (T°)

Les germes se multiplient moins facilement à des températures basses. Ainsi, il ya l'arrêt de tout risque de nocivité lié au développement de germes et l'élaboration de toxines à une température de 3°C, et jusqu'à -18°C il ya arrêt de toute multiplication microbienne (GUIRAUD, 1998).

IV) Composition de la saucisse :

Une saucisse est un produit de charcuterie composée principalement de viande hachée mélangée à d'autres ingrédients tels que les épices et des condiments, la préparation est ensuite déposée dans un boyau, d'origine intestinale ou synthétique. En forme de tube et refermé aux extrémités.

IV-1) Les ingrédients d'origine carnée

- **la viande :**

D'après CHAUDIEU (1985), les viandes qui entrent dans la fabrication de la merguez sont des morceaux à cuisson lente des bovins et d'ovins qui font partie de la troisième catégorie des viandes.

- **Les boyaux :**

Les boyaux sont des enveloppes cylindriques destinées à la fabrication de charcuteries cuites et crues, on distingue les boyaux naturels et les boyaux artificiels (MARTINEZ, 1999).

IV-2) Les ingrédients d'origine non carnée :

- **Les épices :**

Les épices sont aussi considérées comme auxiliaires de la conservation (STARON, 1982).

D'après RICHARD (1982), DAOUDI et al. (2006), les épices qui entrent dans la fabrication de la merguez sont : (poivre noir, piment fort, piment rouge doux, le cumin, la cannelle)

- **Les colorants :**

D'après HANN (1980), le seul colorant autorisé dans la fabrication de la merguez est un colorant naturel : la rouge cochenille. Ce dernier est d'origine animal, extrait de *Coccus cacti*, il peut se présenter sous forme des sels d'ammonium. Sa numérotation de la CEE est E124.

- **Le sel :**

D'après ALAIS et LINDEN (1997), le sel intervient par ces effets suivants :

- effet protecteur contre les microorganismes indésirables.
- augmente la pression osmotique et diminue l'*aw*.
- il renforce le goût de ces produits.
- solubilisation partielle des protéines musculaires.

- **L'ail :**

Son usage est très ancien, ses qualités bactéricide et digestives ont été prouvées, il possède un parfum très puissant (RICHARD, 1982).



Matériel et méthodes

I) MATERIEL ET METHODES

La partie expérimentale a été réalisée aux niveaux des laboratoires pédagogiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou : laboratoire physico-chimique N°II de département biologie, laboratoire de microbiologie de département agronomie et laboratoire chimie de campus universitaire de Tamda, pendant la période allant de 23 avril au 30 avril 2017. La préparation de la saucisse a été effectuée dans un boucheri « Le berger » à Tizirt.

I-1- l'huile essentielle utilisée : *Pinus sylvestris* (Pin sylvestre).

L'origine de cette huile : Pierre Fabre, *Pinus sylvestris* 100% biologique et pure.

I-1-1) Classification

- Règne : Plantae.
- Sous-règne : Tracheobionta.
- Division : Coniferophyta.
- Classe : Pinopsida.
- Ordre : Pinales.
- Famille : Pinaceae.
- Genre : Pinus.
- Nom binominal : *pinus sylvestris*.

Les Parties distillées : Aiguilles (sont les feuilles) et pomme de pin.

I-1-3- Caractéristiques de l'huile essentielle de *pinus sylvestris*

Liquide transparent légèrement jaunâtre doté d'une odeur de conifère typique légèrement sucrée et fruitée. L'arôme est très rafraichissant.



Figure N°8 : image de *pinus sylvestris*

I-1-4) Composition biochimique de l'huile essentielle de *pinus sylvestris*

La composition biochimique est susceptible d'évoluer en fonction des conditions de production.

- **composé chimique principal** : Monoterpènes (75 à 90%).
- **autres composés chimiques** : Monoterpénols (2 à 5%), Esters (2 à 10%).([http://www. Pin sylvestre.com](http://www.Pin_sylvestre.com)).

I-1-5) Conservation de l'huile essentielle.

L'huile essentielle de *pinus sylvestris* est placée dans un tube et conservées à une T° de réfrigération (4 °C), à l'abri de la lumière et de l'oxygène.

I-2) La matrice utilisée : (la saucisse)

La préparation de la saucisse a été effectuée la matinée dans une boucherie à tizirt, les ingrédients utilisés sont :

- viande de bœuf ;
- poivron vert ;
- poireau ;
- l'ail ;
- olive ;
- oignon ;
- carotte ;
- épices ;



Figure 9: le mélange de différents ingrédients de la saucisse (original).

Le tous a été mélangé et haché à l'aide d'un hachoir jusqu'à l'obtention d'une pâte fine(Figure10), ensuite cette pâte a été mélangée avec une autre préparation constituée d'œufs, sel, et colorant alimentaire rouge. Puis, la matrice globale est divisé en quatre parties de 600g, trois parties ont été mélangées avec un volume approprié de l'huile essentielle de *pinus sylvestris*: 20ul, 40ul, 60 ul(Figure 11), Un échantillon témoin n'a subi aucun traitement.



Figure10: le hachage de différents ingrédients à l'aide d'un hachoir (original).



Figure11 : l'incorporation de l'huile essentielle de *pinus sylvestris* dans la saucisse (original).

Ensuite vient le remplissage(Figure12), durant cette étape le mélange de viande et d'ingrédients a été poussé par l'intermédiaire d'un poussoir dans des boyaux naturels de mouton trempés déjà la veille dans de l'eau de dessalage.



Figure 12 : le remplissage des boyaux (original).

La saucisse obtenue a été recouverte d'un papier aluminium et transportés dans une glacière. Ensuite a été conservée à 4°C.

I-3-Matériel utilisé pour l'analyse physico-chimique

- Appareillage

- bain marie ;
- balance analytique ;
- balance de précision ;
- spectrophotomètre visible à 532 nm ;
- homogénéisateur magnétique ;
- pH mètre ;

- Solutions et réactifs

- acide thiobarbuturique (TBA) : préparer en dissolvant 0,288g de TBA (poudre) dans 100ml de l'eau distillé. (SIGMA, Allemagne).
- acide thrichloroacétique (TCA) : préparer en dissolvant 20g de TCA (solide) dans 100ml de l'eau distillé. (SCHARLAV, Espagne).

I-4-Matériel utilisé pour l'analyse microbiologique :**- Appareillage**

- bain marie ;
- balance analytique ;
- balance de précision ;
- Etuve ;

-Solutions

- plate Count Agar (PCA) (MERCK, Allemagne);
- eau distillée;
- eau de javel;

I-5-Analyses physicochimiques

I-5-1- Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH de la saucisse a été mesuré à l'aide d'un pH mètre, préalablement étalonné. Après homogénéisation de 3g de viande broyée et 27ml d'eau distillé (DJENANE et al 2011) la mesure est faite en triple sur le broya ainsi obtenu.

I-5-2) Evaluation de l'activité antioxydante (Méthode de sr-TBA)

- **Principe**

Les produits secondaires de l'oxydation des lipides les plus couramment dosés sont les aldéhydes. L'acide thiobarbiturique (TBA) réagit avec le malonaldéhyde (MDA) pour former un complexe de couleur rose possédant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 532 nm. Il réagit également avec d'autres aldéhydes résultant de l'oxydation des AGPI à longue chaîne. La concentration en substances réactives au (sr-TBA) exprimée en équivalent MDA, est évaluée par la lecture de l'absorbance au spectrophotomètre visible des sr-TBA extraites des échantillons par l'acide trichloracétique (TCA).

Les résultats sont exprimés en valeur de TBA calculées à partir des valeurs de l'absorbance relative de chaque échantillon contre celle de l'échantillon de contrôle. L'eau distillée est utilisée comme un blanc dans le spectrophotomètre, et les valeurs supérieures de TBA indiquent une plus grande accumulation de sr-TBA à la suite de l'augmentation de l'oxydation des lipides dans le produit analysé.

- **Mode opératoire**

Les différentes étapes de la méthode sr-TBA sont indiquées sur le schéma de la (figure 13), 10g de la saucisse est mélangé avec 20 ml de la solution TCA à 20%. On homogénéise le tout à l'aide d'un homogénéisateur. Les échantillons homogénéisés sont centrifugés dans une centrifugeuse à 4000 rpm/30 min. 2ml surnageant sont récupérés de chaque échantillon, puis les mélangés avec 2ml de solution de TBA (préparée à l'instant). Les mélanges sont traités dans un bain marie à 90°C /20min, puis refroidis. Trois mesures d'absorbances à une longueur d'onde de 532nm sont effectuées pour chaque échantillon contre un blanc d'H₂O distillée.

Toutes les valeurs TBAs sont exprimées en tant qu'équivalent mg MDA/Kg de viande selon la formule suivante :

$$\text{L'équivalent de MDA} = 2.96 \cdot \left(\frac{A - 0,049}{1,5} \right)$$

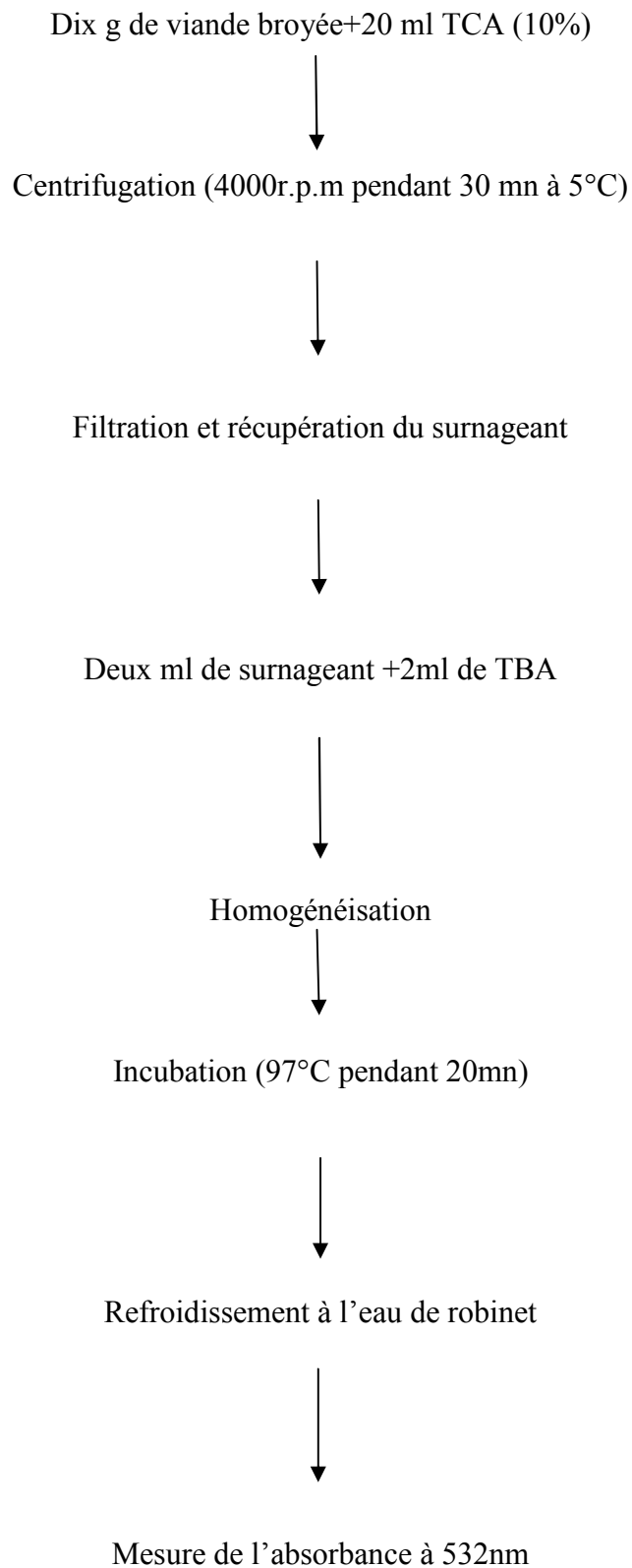
Protocole Expérimentale :

Figure13:Les différentes étapes de latechnique de TBA-RS selon (DJENANE et ses collaborateurs 2012).

I-5-3) courbes d'étalonnage de MDA

La courbe d'étalonnage représentée dans la figure n° 14 est une courbe obtenue par DJENANE et al).

Tableau 3 : Détermination des différentes concentrations du TMP.

Tube	Concentration du TMP en μM	Absorbance à 531 nm
1	0,000001	0,15
2	0,000003	0,6
3	0,000005	0,8
4	0,000007	1,2
5	0,00001	1,5

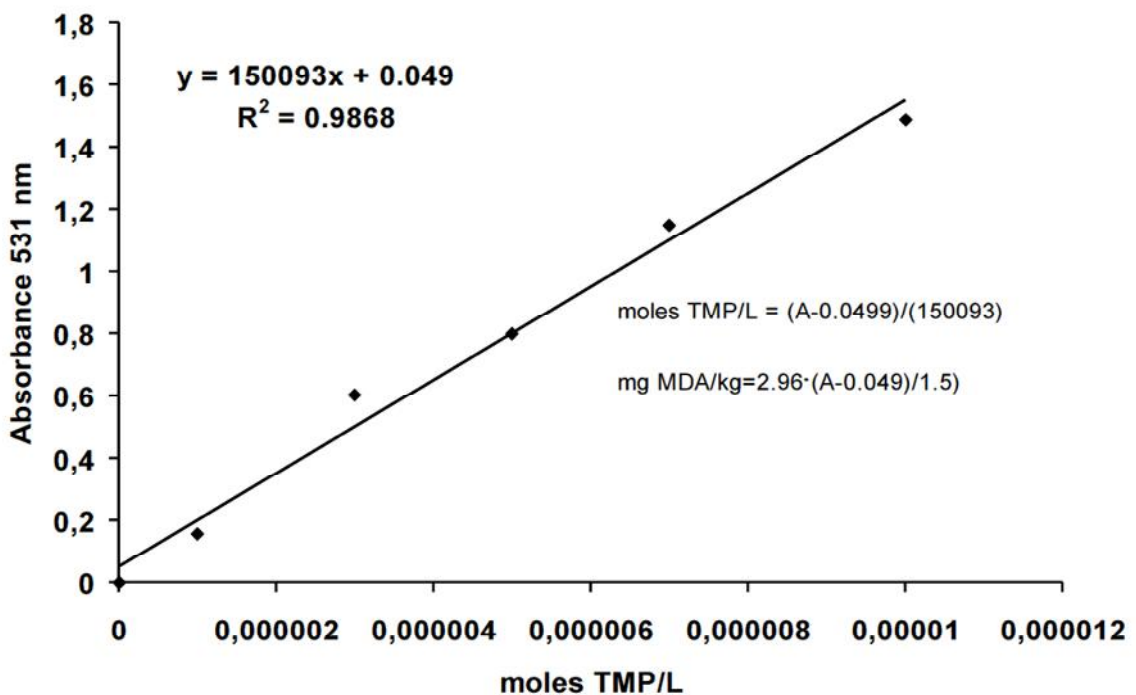


Figure 14 : La courbe d'étalonnage de MDA.

I-6- Analyse microbiologique :

A l'aide d'une balance de précision, peser un échantillon de 10g du produit broyé, prélevé aseptiquement après avoir déchiré le boyau, puis le porter dans un flacon contenant 90ml de TSE. Cette solution est conçue pour la recherche des bactéries psychrotrophe et mésophile.

La solution (10^{-1}) préparée est dite solution mère. On laisse cette dernière à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la revivification des germes.

Des dilutions décimales sont obtenues à partir de la solution mère et des tubes contenant 9 ml de TSE de la manière suivante(Figure15) :

Transférer 1ml de la solution mère dans le tube n°1 pour obtenir la dilution 10^{-2} ; prélever 1ml de la dilution 10^{-2} qu'on introduit dans le tube n°2 pour obtenir la dilution 10^{-3} ; et de la même façon on obtient les autres dilutions ; deux boites pétries sont préparées pour chaque dilution en coulant 1ml dans chaque boite. Puis on rajoute de la gélose nutritive (GN) liquéfiée ; après solidification du contenu, les boites sont incubées couvercle en bas à 7°C pendant 10 jours pour la flore aérobie psychrotrophe totale.

Pour la FMAT on suit le même protocole mais on ajoute une deuxième couche de PCA après la solidification de la première couche, et on incube les boites à 30° pendant 72h. Les colonies ayant poussés en profondeur sont dénombrées. On obtient le nombre exact de germes par gramme de viande en appliquant la formule suivante :

c = somme des colonies sur les boites

V = volume de l'inoculum appliqué à chaque boite

n_1 = nombre de boite dans la première dilution

n_2 = nombre de boite dans la deuxième dilution

d = dilution à partir de laquelle les premiers

dénombrements sont obtenus.

$$N = \frac{c}{V (n_1 + 0,1 n_2) d}$$

Les différentes étapes de l'analyse microbiologique sont schématisées dans la (figure 15).

Protocole expérimental :

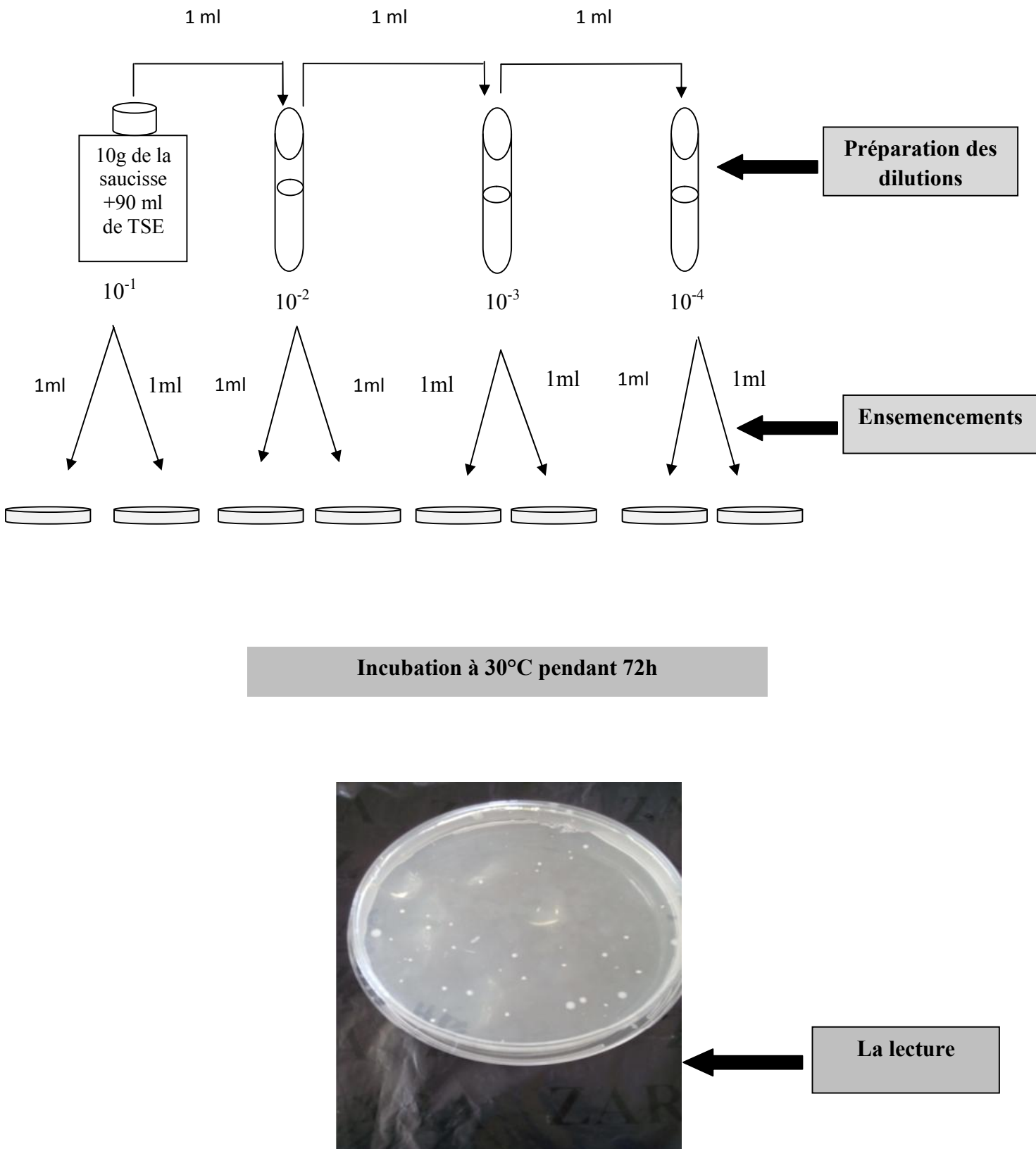


Figure15 : Schéma illustre les différentes étapes de l'analyse microbiologique (original).

I-7-Analyse sensorielle :

L'analyse sensorielle est une science multidisciplinaire qui fait appel à des dégustateurs et à leur sens de la vue, du goût, du toucher et de l'ouïe pour mesurer les caractéristiques sensorielles et l'acceptabilité des produits alimentaires ainsi que de nombreux autres produits.

Notre étude se porte sur trois attributs sensoriels de la saucisse : L'odeur, La couleur, et Le goût. Ils ont été déterminés lors d'une séance d'évaluation qui a duré environ 1h de temps pour quatre échantillons différents et chaque échantillon est analysé indépendamment de l'autre.

Pour cette analyse un panel de cinq testeurs a été formé. Il est composé de quatre filles et un garçon, tous étudiants à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou âgés de 20 à 25 ans. L'analyse sensorielle a été conduite dans des conditions de laboratoire, à température ambiante et à la lumière du jour.

Selon la méthode décrite par DJENANE et al, (2001) en suivant une échelle de neuf critères pour le goût: 1= extrêmement mauvais; 2= très mauvais; 3= mauvais; 4= moyennement mauvais; 5= ni bon ni mauvais; 6= moyennement bon; 7= bon; 8= très bon ; 9 = extrêmement bon.

Et nous avons choisi 3 critères pour l'odeur : 1= très bonne ; 2=bonne ; 3= mauvaise, et 3 critères pour la couleur : 1= rouge ; 2= marron, 3= vert.



Résultats et discussions

II-Résultats et discussion

Dans le but d'étudier l'effet de l'huile essentielle de *pinus sylvestre* sur la conservation de la saucisse, nous avons comparé 3 échantillons incorporées avec trois différentes concentrations de L'HE (20ul, 40ul, 60ul) avec un échantillon témoin. L'effet de cette huile à été observé par le suivi de ces paramètres suivants :

- le potentiel d'hydrogène ;
- le taux d'oxydation lipidique ;
- l'effet microbiologique ;
- la qualité organoleptique ;

II-1- Analyses physicochimiques

Dans cette étude, nous avons analysé des valeurs du potentiel d'hydrogène (pH), et le taux d'oxydation lipidique au niveau de la saucisse. Sachant que le pH est classé parmi les indicateurs de qualité et de sécurité des aliments les plus importants, le potentiel d'hydrogène des aliments crus tel que la viande est mesuré pour garantir que les normes de qualité on bien été respecté.

Le taux d'oxydation nous renseigne aussi sur l'altération et les dégradations qui causent les détériorations des aliments.

II-1-1) Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH du muscle in vivo est proche de la neutralité pH=7. Après l'abattage l'accumulation de l'acide lactique, produit par la dégradation de glycogène musculaire, entraine l'abaissement du pH intramusculaire. L'épuisement des réserves de glycogène induit la stabilité du pH ultime qui se situe généralement autour de 5,6. La valeur finale influence d'une manière très importante l'aptitude à la conservation et à la transformation des viandes (BILGGLI, 2002).

Les résultats de l'évolution du pH pendant les 7 jours de conservations de la saucisse sont rapportés dans la (figure 16).

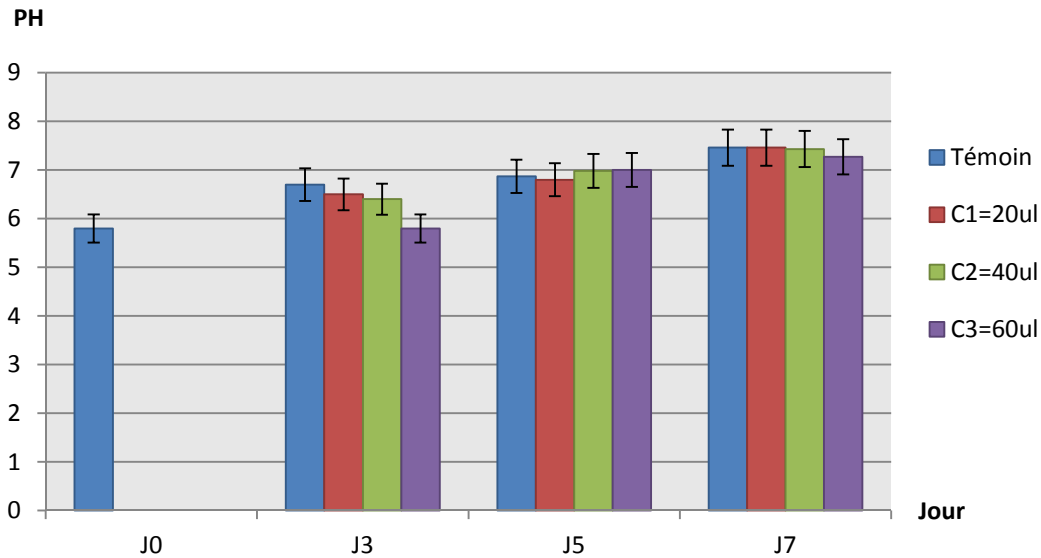


Figure 16: Evolution du potentiel d'hydrogène pendant la période de conservation.

D'après la figure, nous constatons que le pH de la saucisse non traitée avec l'huile essentielle varie entre 5,70 et 7,46 pendant la période de conservation. Pour les échantillons traités avec l'huile essentielle à des concentrations de 20ul, 40ul, et 60ul, nous observons que le pH varie entre 6 et 7 durant toute la période de conservation. L'addition de l'huile essentielle de pinus sylvestris n'affecte pas les variations du pH.

Nos résultats sont en accord avec ceux (MOOR et GILL, 1987), qui ont rapporté qu'il n'ya pas de changement ou à la rigueur une légère augmentation du pH durant le stockage de la viande. Cela peut être expliqué par le pouvoir tampon de la viande qui ne permet pas de grandes fluctuations du pH (DJENANE et al, 2003).

II-1-2) Evaluation de taux d'oxydation lipidique

Les résultats de l'évolution du taux d'oxydation sont rapportés dans la (figure 17). L'estimation de taux d'oxydation lipidique de la viande a été exprimé en équivalent de MDA (mg de MDA /Kg de viande).

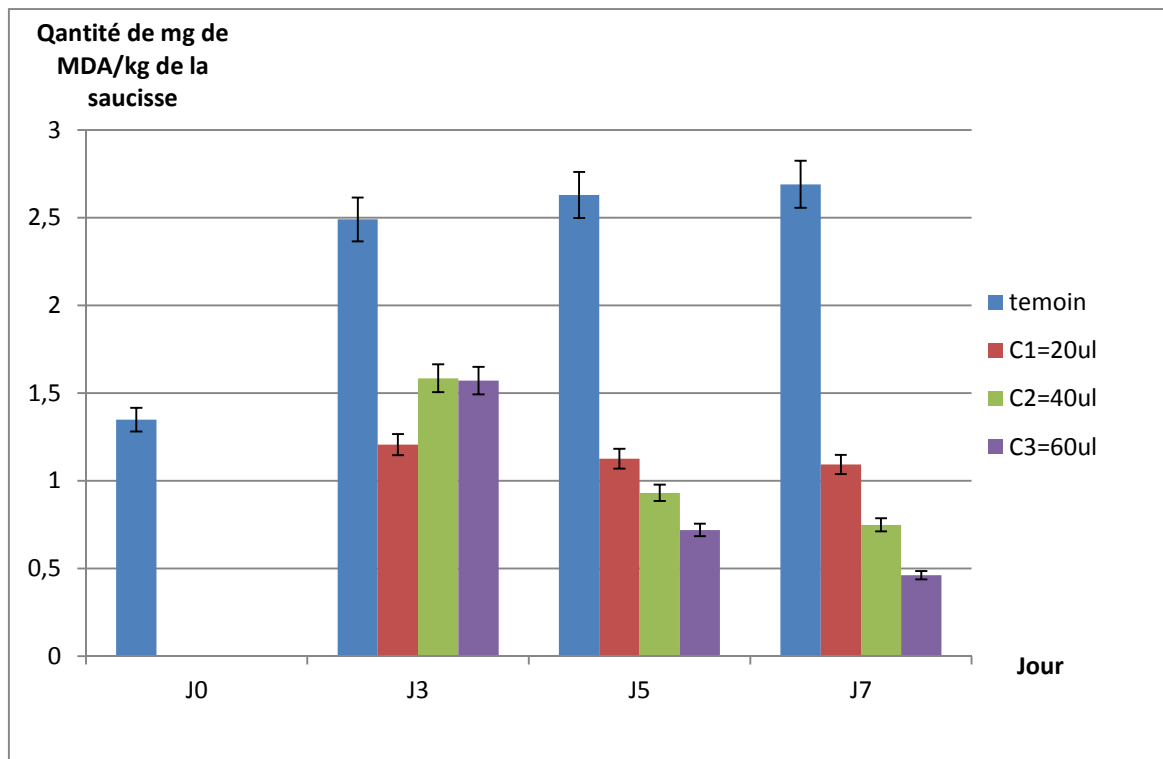


Figure 16: Evolution de taux d'oxydation pendant la durée de conservation

La figure (16) révèle que le taux d'oxydation des échantillons non traités avec l'huile essentielle de *pinus sylvestris* (témoin) augmente de façon proportionnelle avec l'augmentation de la durée de la conservation, pour atteindre les valeurs de 1,349, 2,49, 2,63, 2,70mg de MDA/kg respectivement le : 1^{er} j, 3^{ème} j, 5^{ème} j, et 7^{ème} j.

Donc, à partir du 3^{ème} jour de conservation, Le témoin atteint des valeurs au dessus de la limite fixée par la norme et qui est égale à 2mg de MDA/kg.

Pour l'échantillon traité avec la concentration de 20ul, nous constatons que leur taux d'oxydation diminue légèrement (presque constante) pour atteindre les valeurs de: 1,205, 1,126 1,093mg de MDA/kg respectivement le : 1^{er} j, 3^{ème} j, 5^{ème} j, et 7^{ème} j.

Les échantillons traités avec 40ul de l'huile essentielle de *pinus sylvestris* laisse apparaitre une brusque diminution du taux d'oxydation pour atteindre les valeurs suivantes : 1,584, 0,931, 0,748mg de MDA/kg respectivement le : 3^{ème} j, 5^{ème} j, et 7^{ème} j.

Quant aux échantillons traités avec 0.01%, nous observons une diminution remarquable du taux d'oxydation pendant la durée de conservation pour atteindre les valeurs suivantes : 1,570, 0,719, 0,461 mg de MDA/kg respectivement avec le : 3^{ème} j, 5^{ème} j, et 7^{ème} j.

Nous concluons que l'huile essentielle de *pinus sylvestris* à un effet antioxydant, en particulier à une concentration de 60ul où son effet antioxydant est très remarquable.

Nos résultats sont conforme à ceux de DJENANE et al (2011c). Les HES possèdent des propriétés antioxydantes et antiradicalaires qui améliorent la durée de vie des aliments. Ainsi l'incorporation des HES directement dans les aliments, sous forme de vapeurs ou dans un emballage actif contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation.

L'effet antiradicalaire des huiles essentielles pourrait être dû à la présence d'une grande proportion des composés phénoliques (VELIOGLU et al., 1998). Il est rapporté que les composés phénoliques peuvent donner un atome d'hydrogène aux radicaux libres arrêtant de ce fait la réaction en chaîne de propagation pendant le processus d'oxydation des lipides (SANCHEZ- MARENO et al., 1998).

II-2-Analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique est une étape très importante de la chaîne analytique, elle nous permet de mesurer la FMAT et la FPAT. Ces dernières sont des indicateurs d'hygiène importante, en effet ils permettent d'évaluer le nombre d'UFC présente dans un produit ou dans une surface.

II-2-1-Résultats de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale à 30°C

Les résultats du dénombrement de la FMAT sont représentés dans la figure (16).

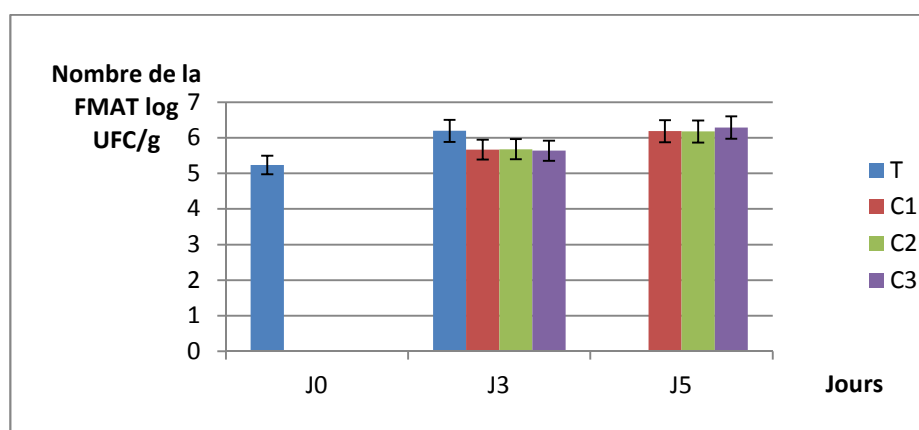


Figure17 : Le développement de la FMAT pendant la durée de la conservation.

D'après la figure, nous avons enregistré une valeur initiale de 5,24logUFC/g dans l'échantillon témoin le premier jour de la conservation, cette valeur est légèrement inférieure au seuil fixé par la norme qui est de l'ordre de 5,69logUFC/g. Au 3^{ème} jour de la conservation, le taux de croissance microbien augmente dans l'échantillon témoin pour atteindre la valeur de 6,20logUFC/g.

Pour ce qui est des échantillons avec l'HE, nous constatons une diminution du taux de la FMAT comparé à l'échantillon témoin. Les résultats affichent des valeurs de 5,67logUFC/g, 5,68logUFC/g, 5,64logUFC/g avec l'incorporation respective de 20ul, 40ul, 60ul de l'huile essentielle de *pinus sylvestris*.

Pour le 5^{ème} jour de la conservation le taux de croissance microbien dans les échantillons additionné avec les concentrations suivantes 20ul, 40ul, 60ul atteint les valeurs de: 6,19logUFC/g, 6,18logUFC/g, 6,29logUFC/g, ce sont toute des valeurs supérieures à la limite fixé par la norme.

Pour le dernier jour (7^{ème} jour) les boites pétries pour la FMAT sont indénombrables, le produit est altéré.

II-2-2-Résultats de dénombrement de la flore psychrotrophe aérobie totale

Pendant le 1^{er} jour de conservation, la saucisse présente une valeur initiale de 5,18logUFC/g dans l'échantillon témoin. Au delà les boites pétries sont indénombrables.

Le 3^{ème} jour de conservation nous avons enregistré des valeurs de la FPAT qui atteignent de 5,68logUFC/g, 5,66logUFC/g, 5,62logUFC/g avec des concentrations respectives de 20ul, 40ul, 60ul de L' HE.

Au bout du 5^{ème} jour de la conservation le taux de la FPAT augmente brusquement, les boites de Pétri sont indénombrable ce qui nous permet de conclure que le produit est impropre à la consommation.

A partir des résultats de notre étude, nous concluons que l'huile essentielle de *pinus sylvestris* a un effet antimicrobienne remarquable (Figures 17), mais à partir du 5^{ème} jour cette l'huile a perdu son effet antimicrobienne.

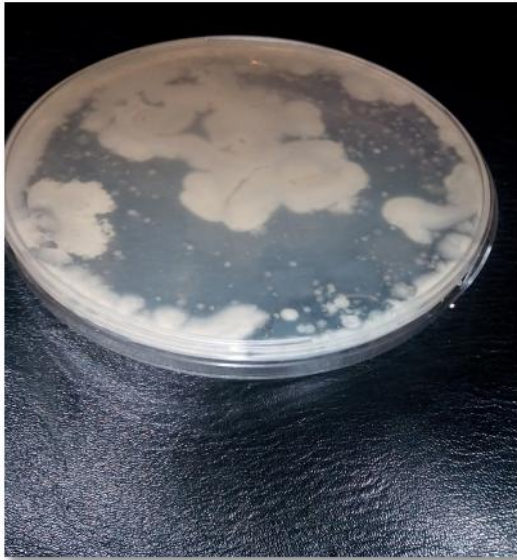


Figure18 : La lecture et le dénombrement de la FMAT de l'échantillon non traité avec l'HE (témoin) (original).



Figure19 : La lecture et le dénombrement de la FMAT de l'échantillon traité avec l'HE (original).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles peut être liée à la composition chimique des huiles, leurs configurations structurales, leurs groupements fonctionnels et les différentes interactions synergiques entre eux (DORMAN et DEANS, 2000). Plusieurs études ont montré que les composés à structure phénolique, comme le thymol, carvacrol et eugénol sont fortement actifs contre les bactéries (OUSSALAH et *al.*, 2006). Le potentiel antimicrobien de diverses huiles essentielles est en relation avec leurs compositions phénoliques (SIVROPOULOU et *al.*, 1996).

Outre les composés phénoliques, les hydrocarbures monoterpéniques comme (p-cimène, α -pinène ou limonène), les alcools, les aldéhydes et les cétones peuvent manifester une action similaire OUSSALAH et *al.*, 2006).

La perte progressive de l'efficacité de l'huile essentielle de *pinus sylvestris* peut être due aux mauvaises conditions de travail : les défauts de stérilisation, la température de la salle d'analyse, manque des moyennes et de matériels dans le laboratoire d'analyse. Elle peut être due également à une contamination initiale issue de l'abattoir (outillage mal nettoyé), ainsi qu'à la rupture de la chaîne de froid lors du transport, ou le taux élevé de la graisse dans la saucisse.

Nous attribuons ces résultats à ceux de CAILLET et LACROIX(2007), certains facteurs comme la T°, les conditions de stockage, le pH ou la composition de l'aliment, peuvent avoir une influence sur l'action des HEs. Il est établi que l'efficacité de l'huile augmente avec la diminution du pH de l'aliment, de la température de stockage ou encore de la quantité d'oxygène dans l'emballage. Il est également prouvé qu'une même huile sera plus efficace dans un aliment pauvre en gras et/ou en protéines et ce n'est pas le cas pour la viande. Les fortes teneurs en eau et en sels d'un aliment vont aussi favoriser l'action de l'HE.

TASSOU et ses collaborateurs ont supposé que généralement les niveaux élevés de la graisse et/ou des protéines dans les produits alimentaires protègent les bactéries contre l'action des HEs. Par exemple, si l'HE se dissout dans la phase lipidique de l'aliment, il y aurait relativement moins d'HE disponible pour agir sur des bactéries présentes dans la phase aqueuse.

CUTTER (2000) a supposé que l'activité antimicrobienne liée aux extraits d'herbes peut être diminuée par la présence de composants adipeux dans la viande hachée.

II-3-Analyse sensorielle

II-3-1) Le goût

Tableau n°4 : Résultats de l'évaluation du gout de la saucisse cuite.

Jour de conservation	Volume de l'huile	Critères								
		Extrêmement mauvais	mauvais	mauvais	Moyennement mauvais	Ni bon Ni mauvais	Moyennement bon	Bon	Très bon	Extrêmement bon
J0	Témoin							5		
3^{ème} jour	Témoin						5			
	20ul								1	4
	40ul					2	3			
	60ul	4	1							

Pour ce qui concerne le témoin 100% des dégustateurs ont apprécié le bon goût de la saucisse au premier jour de conservation et moyennement bon au troisième jour.

Le 3^{ème} jour de la conservation 80% des dégustateurs ont jugé le goût de la saucisse traitée avec 20ul comme étant extrêmement bon, 60% d'entre eux ont apprécié un goût moyennement bon pour les échantillons traité avec 40ul, et un gout extrêmement mauvais a été choisi par 80 % des dégustateurs pour les échantillons traité avec 60ul de l'HE de pin sylvestre.

II-3-2) L'odeur

Le tableau révèle les différents avis des dégustateurs sur l'odeur de la saucisse non traitée avec l'HE.

Tableau n° 5:Résultats de l'évaluation de l'odeur de la saucisse non traitée avec l'HE.

Critère Jour	Mauvais	Bonne	Très bonne
J1			5
J3		3	2
J5	5		
J7	5		

D'après le tableau 100% des dégustateurs ont jugé que l'odeur de l'échantillon témoin au premier jour été très bonne, au 3^{ème} jour de la conservation 60% d'entre eux disent que l'odeur de la saucisse est bonne, a partir de 5^{ème} jour la saucisse est caractérisé par une mauvaise odeur.

Tableau n°6: révèle les différents avis des dégustateurs sur l'odeur de la saucisse traité avec l'huile essentielle de *pinus sylvestris*.

Critère Concentration	Mauvais	Bonne	Très bonne
20ul		1	4
40ul	1	4	
60ul	5		

II-3-3) La couleur

La saucisse traitée avec différentes concentrations de l'huile essentielle garde relativement sa couleur rouge, pour devenir au bout du 7^{ème} jour de couleur marron. Alors que l'échantillon témoin a perdue sa couleur a partir de 3^{ème} jour de conservation.

Nous concluons d'après nos résultats que l'échantillon témoin perd ses qualités organoleptiques à partir de 3^{ème} jour de la conservation, c'est résultats et du peut être aux développements microbiens et/ou a l'oxydation lipidique. par contre les échantillons traités avec l'huile essentielle n'ont pas perdu leurs qualités organoleptique jusqu'au dernier jour de la conservation.

Conclusion :

Pour trouver des techniques alternatives pour la conservation des aliments contre l'oxydation et la contamination par les microorganismes, un grand nombre de plantes aromatiques ont été testées pour leurs propriétés antioxydante et antimicrobienne par plusieurs travaux de recherche qui se sont focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes.

Par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antioxydant et antimicrobiens naturels. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer in vitro l'effet de l'huile essentielle de pin sylvestre sur la conservation de la saucisse. Pour cela notre étude s'est portée sur l'analyse du potentiel d'hydrogène et de l'activité sensorielle de la saucisse d'une part et l'activité antioxydante et antibactérienne de l'HE d'autre part.

Les résultats de notre étude ont montré que l'application de l'huile essentielle de pin sylvestre révèle :

- ✓ Une légère augmentation du pH durant la période de la conservation de la saucisse ;
- ✓ Un effet antioxydant important de l'HE ;
- ✓ Un effet antimicrobien restreint de l'HE ;
- ✓ une bonne qualité organoleptique pendant les cinq (05) premiers jours de conservation. Au delà de ce délai, la qualité s'est détériorée.

D'après ses résultats, nous pouvons conclure que l'HE de pin sylvestre semble être approprié comme agent naturel dans la préservation des produits alimentaires.

Les perspectives de notre travail sont encore nombreuses sur ce sujet :

- Il serait intéressant de poursuivre par une étude plus poussée de l'activité antimicrobienne et antioxydante non seulement de l'HE utilisée seule ou ses composantes majoritaires, mais également l'activité d'une combinaison de plusieurs huiles nous permettant ainsi une éventuelle synergie donc des résultats beaucoup plus enrichis.
- Il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur l'HE du pin de sylvestre afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antioxydante et antibactérienne.

Enfin il apparaît important d'apporter des éléments complémentaires permettant d'affiner l'interprétation des résultats obtenus et d'ouvrir de nouvelles pistes de recherche dans ce domaine.

APROTOSOAIE A.C., SPAC A.D., HANCIANU M., MIRON A., TANASESCU V.F., DORNEANU V. and STANESCU U., 2010. The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill). *FARMACIA*, Vol. 58(1); pp. 46-54.

ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L., 2008. Biochimie alimentaire, DUNOD. 6^{ème} édition, Paris. pp. 67-71. Huiles essentielles. Ed. *Tec. & Doc.*, Paris, 522p.

ALAIS C et LINDEN G., 1997. Abrégé en biochimie alimentaire, 4^{ème} Ed, Masson, Paris.

ANTON R. and LOBSTEIN A., 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments.

BILGLI S.F., 2002. La qualité de l'abattage et la période de retrait alimentaire. *Word's Poultry Science Journal*.18, 123-233.

BRUNETON J., 1999. Pharmacognosie .Phytochimie, plantes médicinales *Tec. Et Doc.* Lavoisier, 3^{ème} édition, Paris.

BELAICHE P., 1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie tome 1 :l'aromatogramme. Ed. Maloine. Paris.

BENINI C., 2007. Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109p.

BURT, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int J Food Microbiol.*, 94(3): 223-253.

BRUNETON J., 1993. Phytochimie. Plantes médicinales. *Tec& Doc* lavoisier, paris P915

BENJILALI B., TANTAOUI-ELARAKI A., ISMAILI-ALAOUI M, et AYADI A., 1986. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 20 (2): 155-167.

BUCHBAUER G., 2000. The detailed analysis of essential oils leads to the understanding of their properties. *Perfumer & Flavorist* 25: pp.64-67.

BACHELOT, C., BLAISE, A., CORBEL, T., LE GUERNIC, A., 2006. Les huiles essentielles. Semestre I. Licence de biologie. Université Bretagne Nord. P : 1-27.

BENDEDOUCHE B., 2001. Cours nationale d'hygiène et de microbiologie des aliments : les contaminations des viandes fraîches. Institut pasteur d'Alger.

BOURGEOIS C.M; MUSCLE J.F et ZUCCA J., 1996. Microbiologie alimentaire(Tome1) : Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

BOUMENDJEL M., 2005. Conservation des denrées alimentaires. Cours multimédia interactif à usage pédagogique centre universitaire d'EL-TAREF % 20LA%20conservation%20par%20froid.pdf

BRUNI R., 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry* 91: pp. 621-632.

COLIN 2000IN AZZOUG ET LAMRAOUI COLLIN G., 2000. Quelques techniques d'extraction de produits naturels. Info-essences. 13.

CHAHARDEHI A.M., IBRAHIM D., and SULAIMAN S.F., 2010. Antioxidant, antimicrobial activity and toxicity test of pileamicrophylla. *International Journal of Microbiology*, Article ID 826830, 6p.

CONNER, D. E., 1993. Naturally occurring compound. In P. Davidson et A . L. Branen, Antimicrobials in foods (pp.441-468). New York.

CE., 2001. Commission Européenne : proposition de la commission en matière de lutte contre la résistance microbienne. Bruxelles. *In* Kechkar M., 2008. Extraction de Silymarine et étude de son activité antimicrobienne. *Mémoire de magister*. Université Mentouri Constantine. Algérie, 99p.

CUVELIER M.E. et MAILLARD M.N., 2012: Stabilité des huiles alimentaires au cours de Leurs stockage.OCL ; 19 (2): 125-132.

CRISTIANI M., D'ARRIGO M., MANDALARI G., CASTELLI F., SARPIETRO M .G & MICIELI D ., 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes : Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55.6300-308.

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.

CHAUDIEU G., 1985. Manuel pratique de boucheries modernes et des techniques nouvelles, Edition DUNOD. Paris.

CUTTER C.N., 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against E.coli O157 :H7.Lesteria monocytogenes and Salmonella Typhimurium associated with beef. Journal of Food Protection,63(5),601-607.

DJENANE D ., LEFSIH K ., YANGUELA Y . et RONCALES P., 2011. Composition chimique et activité anti-*Salmonella Enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, *Lavandula angustifolia* et *Satureja Hortensis* ; Test in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à $7\pm 1^{\circ}\text{C}$. Phytothérapie. (Accepté pour publication).

DJENANE D., AIDER M., YANGUELA J., IDIR L., GOMEZ D. & RONCALES P., 2012. Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Mentha essential oils in minced beef inoculated with E.coli O157: H7 and S.aureus during storage at abuse refrigeration temperature. Meat Science, 92, 666-674.

DJENANE D ., SANCHEZ A., BELTRAN J.A.& RONCALES P., 2001. Extension of retail display life of fresh beef packaged in modified atmosphere by varying lighting conditions. Journal of Food Science, 66, 181-186.

DJENANE D., SANCHEZ-ESCALANTE A., BELTRAN J.A. & RONCALES P., 2003. The shelf-life of beef steaks treated with dL-lactic acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. Food Microbiology, 20, 1-7.

DORMAN H. J. D. et DEANS S. G., 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88, 308-316.

DILMI-BOURAS A., 2004: Biochimie alimentaire. Edition office des publications universitaire. Pp 69-91.

DURAND D., GAHELLIER P. et PARAFITA E., 2010: Muscle et viande de ruminant. Chapitre 14 : stabilité oxydative et qualité des viandes. Edition Quae. Pp : 183-186

DARINMOU., 2000. Conseil pour le consommateur. Laboratoire darinmoub. Site darinmoub.com /pdf.

DAOUDI A ; FRENTZ T. C; MATIN J.L; MEKHTICHE L., 2006. Les produits carnes halal. Charcuteries et préparations bouchères. Science et Technologie des métiers de bouche. Edition MAE-ERTI. Rome.

ELABED D et KAMBOUCHE N., 2003 les huiles essentielles Ed. Dar elgharb.

EMILIE F., 2009. Connaissance des aliments. Basas alimentaires et notionnelles de la diététique. 2^{ème} Edition Lavoisier. Lavoisier, ISBN, : 987-7430-1156-7.

FREEMAN L., CAREL Y., 2006. Aromathérapie. *NUTRA NEWS* Science, Nutrition, Prévention et Santé. [http:// www. nutranews.org](http://www.nutranews.org).

GERALDINE D., 2009. Le sucre dans tous ses états. Décryptage des informations nutritionnelles. Haute école de sante Genève filière nutrition et diététique.

GHESTEM A., SEGUINE E., Paris M. et ORECCHIONI A.M., 2001 - Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.

GARNERO J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. *Encyclopédie des médecines naturelles*, Paris, France, pp. 2-20.

GENOT C. et MICHALSKI M.C., 2010. Impact métabolique des structures et de l'oxydation des lipides dans les aliments. *Innovation agronomique* ; 10: 43-67.

GRAND B., 1983. Evaluation de la contamination microbienne superficielle des viandes par ATP-metrie. Utilisation d'un photomultiplicateur. Thèse pour le doctorat vétérinaire. ENV d'ALFORT, Pp1-18.

GAUTHIER M ; CARLIER V ; BOLNOT F et ROZIER J., 1996. Activité de l'eau et microorganismes. RTVA n° 219.

GRANDIN T., 1988. Stress de manipulation des animaux .REV.Méd. Vet, 10 ,813-821.

GUIRAUD J. P., 1998. Microbiologie alimentaire, 2ème éd, Dunod, Paris.

HARKATI B., 2011: Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae: *Scorzonera undulata*. Thèse de Doctorat. Université de Constantine.

HULIN V., MATHOT A.G., MAFART P. et DUFOSSE L., 1998. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'aromes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.

HOSSAIN M.A., ISMAIL Z., RAHMAN A. and KANG S. C., 2008. Chemical composition and antifungal properties of the essential oils and crude extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Industrial Crops And Products* 2, 7: pp. 328–334.

- HIMED., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon* : application à la margarine. *Mémoire de Magister*. Université Mentouri Constantine, Algérie. 91p.
- HOBBS B.C., 2004.** Microbiological hazards of meat production. *Food manufacture*, 10.
- HANN A., 1980.** Répertoire des colorants usuels, colorants à usage alimentaire, Edition SCM, France.
- INOUYE S. et ABE S., 2007.** Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie*. 1, 2-4.
- JEAN M., 2014.** Les techniques de conservation par le froid.
- JAMES I., KUIPERS B., 2000.** La conservation de fruits et des légumes. *Agro- Dale*. P52-53.
- JEAN-PIERRE D., 2000.** La conservation des aliments. Lycée de Métiers de l'hôtellerie et du Tourisme. Alexandre Dumas Strasbourg-Illich.
- LAMBERT PA., 2005.** Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57: 1471-1485.
- LASTA J.A ; RODIRIGUEZ R et ZANELLI M.C., 1992.** Bacterial count from bovin as an indicator of hygiene at slaughtering places. A proposal for sampling places. *Food prot.*
- MARTINEZ M., 1999.** Guide de préparation des charcuteries N ° B2-17-99 de 06 mai 1999
- MOLL M., 1998.** Additifs alimentaires et auxiliaires technologique. Ed. DUNOD. Paris. pp. 89-99.
- Molyneux P., 2004.** Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* Vol. 26 № 2. 212p.
- MOHAMMAD S., ABU-DARWISH and ABU-DIEYEH Z.H.M., 2009.** Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan. *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 11, N° 1, pp.59-63.
- MANCHADO et CHEYNIER V., 2006:** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec&Doc Lavoisier.
- MURIELLE M., 2009.** Nutrition humaine et sécurité alimentaire. Edition Lavoisier, ISBN, : 987-2-7430-1072-0.

MORGANE D., 2013. Les différents moyens de conservation des aliments.

MAFART., 1991. Génie Industriel Alimentaire TOMI. Les procédés physiques de consommation. Edition Lavoisier. ISBN : 2-85206-707-2.P-60-72.

MACHACINE A., 2007. Apport du procédé de lyophilisation sur la qualité des fraises marocains. ISSN 1454-2358.D.P.B.SCI. Bull. Séries D. Vol 69 N°2.2507.

MARIEL J.L; BORDIGUEZ R et ZANELLI M., 2002. Bacterial cont from bovine carcasses as an indicator of hygiene at slaughtering places of food protection.

MORISSE J.P; HUONNIC.D et COTTE J.P., 1985. Les salmonelles sur les carcasses des vaches de réforme et veaux des boucheries: fréquence et caractéristiques de souches isolées. Le point vétérinaire.

NAKAHARA K., ALZOREKY N.S., YOSHIHASHI T., NGUYEN H.T.T. and TRAKOONTIVAKORN G., 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella Grass). *JARQ* 37 (4), pp. 249-252.

OUSSALAH M., CAILLET S., SAUCIER L. & LACROIX M., 2006. Mechanism of action of Spanish oregano Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 69(5), 1046-1055.

OURAINI D., AGOUMIL A., ISMAILI-ALAOUI M., ALAOUI K., CHERRAH Y., AMRANI M. & BELLABA M. A., 2005. Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, 4,147-157.

OUMOKHTAR B., KARIB H., BOUHRITI N. et ARABA A., 1998: Appréciation de la qualité bactériologique de la viande et des abats de taurillons fraîchement abattus dans les abattoirs de Rabat. *Actes Int. Agro. Vet. (Maroc)*, vol.18 (3): 169-176.

PLUSQUELLE A., 1991. Viandes et produits carnés, In « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires ». Volume3 : Le contrôle microbiologique. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

PANDIT, V.A. and L.A. SHELEF., 1994. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Microbiol.* 11: pp.57-63.

POKORNY J., YANISHLIEVA N. & GORDON H., 2001. Les antioxydants dans les aliments. Les applications pratiques. Woodhead Publishing limited . CRC press. Cambridge Angleterre.

PARE J., 1997. Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles, 4 :p.4.

PIBIRI M.C., 2005. Assainissement de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. *Thèse de doctorat.* Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.

PADRINI, F., LUCHERONI, M.T., 1997. Les huiles essentielles pour retrouver la vitalité, le bien-être, la beauté. Ed. Vecchi S.A- Paris.95P.

QUEBEC., 2014. Guide des bonnes pratiques d'hygiène et de salubrité alimentaire.

ROSSET R., 1988. Microbiologie de la viande et des produits carnés ; in « qualité microbiologique et produits crus ». Comptes rendus de l'académie d'agriculture de France n° 17, Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

ROZIER J ; CARLIER V et BOLNOT F., 1986. Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Edition la SEPAIC, 205p.

RAHILI G., 2002: Les huiles essentielles et leurs intérêts. La forêt algérienne n°4. Institut national de la recherche forestière. Bainem Alger.

RICHARD H et LOO A ., 1992. Nature, origine et propriétés des Epices des aromates brutes ; in « Epices et Aromates ». Ed, Apria, Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

RICHARD H ., 1982. Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. Edition Apria, Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

ROMAIN J.et al., 2007. Science des aliments. Biochimie-microbiologie- procédés produits. Volume2 technologie des alimentaires. Edition Lavoisier ISBN : 978-2-7430-0888-8.

SIVROPOULOU A., PAPANIKOLAOU E., NIKOLAOU, KOKKINI S., LANARAS T., & ARSENAKIS M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. J. Agric. Food, 44: 1202-1205.

SALIFOU C.F.A., YOUSAOA.K.I., AHOUNOUG.S., 2012. critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de La carcasse et de qualité de la viande bovine. Annales de médecine vétérinaire.

SALLE J.L. et PELLETIER J., 1991 - Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45.

SCHEFFER J.J.C., 1996 - Various methods for the isolation of essential oils. *Phytother. Res.*, 10:S6-S7.

SANCHEZ MORENO C. & LARRANI J. A., 1998. Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Science and Technology International*, 4, 391-399.

SOINNEAU O., 1993. La contamination superficielle de la carcasse bovine, origine, prévention et décontamination. Thèse pour doctorat vétérinaire. ENV d'ALFORT, 111p

STARON T., 2002. L'événement agro-alimentaire, viande et alimentation humaine. Ed , Apria , Tec et Do, Lavoisier, Paris.

SYLVIE VERBOIS., 2001. Huiles Essentielles et Parfums qui Guérissent et qui Relaxent, La Voie De l'Ayurveda, Ed. Trajectoire.

SACCHETTI G., MAIETTI S., MUZZOLI M., SCAGLIANTI M., MANFREDINI S., RADICE M. and TASSOU C.C., KOUTSOUMANIS F ; NYCHAS G. J. E. 2000. Inhibition of Salmonella Enteritidis and Staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil. *Food Research International*, 33,273-280.

TEUSCHER E., ANTON R. et LOBSTEIN A., 2005. plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris

VELIOGLU Y. S., MAZZA G., GAO L. & OAMAH B.D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: pp. 4113-4117.

VIGNEAU, J ., 1985 . Plantes médicinales thérapeutique-Toxicité . Ed. Masson,Paris . 290P .

VIERLING E., 1998: Aliments et boissons. Technologie et aspects réglementaires. Doin éditeur, Centre Régional de Documentation d'Aquitaine. Biosciences et techniques. Pp: 73-91.

WANNISSORN B., JARIKASSEM S., SIVIWANGCHAIN T. and THUBTHIMTHED S., 2005. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76: 233- 236.

WERNER J., BAUER, RAPHAEL B., JURG L., 2010. Science et technologie des aliments. 1^{er} Edition Presses polytechniques et universitaires romandes. ISBN : 987-88074-754-1.P423-448-560-565-60.

YOLANDE B., 2001. Le séchage des aliments, un procédé de sante.

ZAGOREC M. et CRISTIEANS S., 2013. Flores protectrices pour la conservation des aliments. Edition Quae. Pp. 1-5.

ZHIRI A., 2006. Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra News. Science, Nutrition, Prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix, 12, 8.

I) Composition de Gélose Nutritive :

Extrait de viande de bœuf (1g).

Extrait de levure (2g).

Peptone (5g).

Chlorure de sodium (5g).

Agar (15g).

PH= 7,2 à 7,4

II) Composition de l'eau physiologique stérile:

Chlorure de sodium (Nacl)9g.

Eau distillée.....1000ml.

PH=7.

Stérilisation à 121°C /15mn.

Résumé :

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* les activités antioxydante, antibactérienne de l'huile essentielle extraite de *pin sylvestre*.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de pin de sylvestre a été évaluée par la méthode de sr-TBA. La concentration la plus efficace est 0,01%, à marquée une valeur de 0.461 à la fin de la période de la conservation, pour ce qui concerne l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *pin sylvestre* sur la flore aérobique mésophile total à 30°C et la flore psychrotrophe à 7°C , les différentes concentration utilisés ont marqué une faible activités antimicrobienne et un faible effet sur le potentiel d'hydrogène de la saucisse. Pour ce qui est de la qualité sensorielle nous avons constaté une bonne qualité organoleptique pendant les cinq (05) premiers jours de conservation. Au delà de ce délai, la qualité s'est détériorée.

A l'essor de cette étude, nous pouvons conclure que l'huile essentielle de *pin sylvestre* pourrait être considérée comme un agent conservateur très prometteur pour l'industrie alimentaire capable d'empêcher l'oxydation des aliments et de réduire les croissances microbiennes responsables d'altération des aliments.

Mots clés : Huile essentielle, pin sylvestre, activité antioxydante, activité antibactérienne.