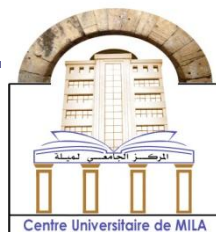


N° Ref :.....



## Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

### Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Étude de l'effet de la supplémentation en huile essentielle de  
Myrte sur les caractéristiques microbiologiques du lait bovin**

Présenté par :

- BELATTAR Seyf Eddine
- SAIFI Randa
- BOUAFIA Asma

Devant le jury composé de :

Présidente :	<b>BENMEKHLOUF Zoubida</b>	M.C.A. Centre Universitaire de Mila.
Examinatrice:	<b>BOUCHEKRIT Moufida</b>	M.C.A. Centre Universitaire de Mila.
Encadreur :	<b>BOUTELLAA Saber</b>	M.C.A. Centre Universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2022/2023

## **Remerciement**

---

*Nous souhaitons exprimer notre sincère gratitude envers **Dieu** le tout-puissant pour sa grâce, sa miséricorde et sa bienveillance qui ont été présentes à chaque étape de notre parcours d'étude. Nous reconnaissons que sans sa bénédiction, nous n'aurions pas pu atteindre nos objectifs.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre encadreur de recherche, **Dr BOUTELLAA Saber**, pour son encadrement exceptionnel. Nous sommes reconnaissants pour ses conseils avisés, sa patience, son soutien constant et sa disponibilité tout au long de notre projet de recherche.*

*Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers les membres du jury pour le temps qu'ils ont pris pour évaluer minutieusement notre travail.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude envers tout le personnel du Laboratoire de biologie et de microbiologie.*

*Nous sommes également reconnaissants envers tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

---

*Je dédie ce travail à mes parents, qui ont été mes plus grands soutiens tout au long de mon parcours d'étude. Leur amour, leur encouragement et leur dévouement ont été une source constante de motivation pour moi, et je ne serais pas arrivé là où je suis aujourd'hui sans leur soutien inconditionnel.*

*Je dédie également ce travail à mon frère, qui a toujours été présent pour moi, me soutenant dans les moments difficiles et partageant avec moi les moments de joie et de réussite.*

*Je voue ce travail à mes amis Amine, Amir, Ammar, Khaled, Loulou, Hamza, Mohammed et Hamid qui m'ont accompagné tout au long de cette étude. Leurs conseils avisés, leur soutien constant et leur amitié ont été d'une grande aide pour moi tout au long de cette expérience.*

*Je suis reconnaissant pour tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce projet, et je leur suis profondément reconnaissant pour leur soutien, leur encouragement et leur amitié tout au long de mon parcours d'étude.*

A handwritten signature in black ink, reading "Jeff Eddine". The signature is written in a cursive, flowing style with large, elegant loops and flourishes.

## *Dédicace*

---

*« L'obstination est le chemin de la réussite »*

*-Charlie Chaplin-*

*Je dédie ce travail*

*A mes très chers parents et surtout ma mère, pour leur encouragement, leur  
patience et leur soutien...*

*A tous ceux qui me sont chers:*

*Saifi Randa*

## *Dédicace*

---

*Avec la grâce de Dieu tout-puissant, qui guide nos vies,*

*Je dédie ce travail à mes chers parents :*

*À mon père **Ali**, qui a été le pilier fondamental de ma réussite.*

*À ma mère **Dalila**, mon ange gardien dans la vie, source d'amour et de tendresse.*

*À toute ma famille, mes frères **Ahmed**, **Abir**, **Tasnime** et **Wissal**.*

*Et enfin, à toutes les personnes qui occupent une place spéciale dans mon cœur.*

*Asma*

## *Table des matières*

---

**Remerciement**

**Table des matières**

**Liste des abréviations**

**Listes des figures**

**Listes des tableaux**

**Introduction**

**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Chapitre I *Lait cru de vache et Méthodes de conservation***

1. Le lait dans le monde .....	1
2. Définition du lait cru .....	2
3. Composition du lait .....	3
3.1. Eau .....	4
3.2. Glucides .....	4
3.3. Lipides .....	5
3.4. Matériaux azotés .....	5
3.4.1. Caséines .....	6
3.4.2. Protéines non caséiniques .....	6
3.4.3. Fraction non protéique .....	6
3.5 Minéraux .....	6
3.6. Vitamines .....	7
3.7. Enzymes .....	8
4. Propriétés physico-chimiques du lait .....	9
4.1. Densité .....	9
4.2. Acidité .....	9
4.3. pH du lait .....	9
4.4. Point de congélation .....	9
4.5. Point d'ébullition .....	10
5. Constituants chimiques indésirables du lait .....	10

5.1. Antibiotiques .....	10
5.2. Pesticides .....	10
5.3. Métaux .....	10
6. Qualité du lait .....	10
6.1. Caractéristiques organoleptiques .....	10
6.1.1. Couleur .....	11
6.1.2. Odeur .....	11
6.1.3. Saveur .....	11
6.1.4. Flaveur .....	11
6.2. Qualité microbiologique .....	11
6.2.1. Flore originale (indigène) .....	12
6.2.2. Flore de contamination .....	13
6.2.2.1. Levures .....	13
6.2.2.2. Moisissures .....	13
6.2.2.3. Flore d'altération .....	14
6.2.2.4. Coliformes .....	14
6.2.2.5. Flore pathogène .....	14
6.2.2.6. Bactéries infectieuses .....	14
6.2.2.7. Bactéries toxigènes .....	15
6.3. Principales Activités des micro-organismes dans le lait .....	16
6.3.1. Acidification .....	16
6.4. Différentes stades de contamination .....	16
6.4.1. Contamination au stade de production .....	16
6.4.2. Contamination par l'animale .....	17
6.4.3. Contamination au cour de la traite .....	17
6.4.4. Contamination au cour de transport .....	17
6.5. Facteurs d'altération de la composition du lait .....	17
6.5.1. Facteurs liés aux conditions internes .....	18
6.5.1.1. Âge .....	18
6.5.1.2. Facteurs génétiques .....	18

6.5.1.3. Stade de lactation .....	18
6.5.2. Facteurs liés aux conditions extrinsèques .....	18
6.5.2.1. Alimentation .....	18
6.5.2.2. Saisons et climat .....	19
7. Méthodes de conservation de lait .....	19
7.1. Microfiltration .....	19
7.2. Pasteurisation .....	19
7.3. Stérilisation .....	20
7.4. Refroidissement .....	20
8. Méthodes de conservation naturelles .....	20
<b>Chapitre II <i>Myrtus communis</i> L.</b>	
1. Aperçu sur les plantes médicinales .....	23
1.1. <i>Myrtus communis</i> L. ....	23
1.2. Dénominations .....	23
1.3. Classification botanique .....	24
2. Localisation et répartition géographique du <i>M. communis</i> .....	24
3. Description botanique .....	24
4.1. Composés phénoliques .....	25
4.2. Composés nutritifs .....	25
4.3. Huiles essentielles .....	27
4.3.1. Définition .....	27
4.4. Principaux constituants des HEs de <i>M. communis</i> .....	27
5. Activités biologiques de l'huile essentielle de <i>M. communis</i> .....	29
5.1. Activité antibactérienne .....	29
5.2. Activité antioxydante .....	32
5.3. Activité antifongique .....	32
6. Utilisations de <i>M. communis</i> .....	33
6.1. Utilisations traditionnelles .....	33
6.2. Utilisation dans la conservation des aliments .....	34

## **PARTIE EXPERIMENTALE**



### Chapitre III *Matériel et Méthodes*

1. Lieux des expérimentations .....	37
2. Matériel végétal .....	37
2.1. Provenance du matériel végétal .....	37
2.2. Région de la récolte .....	38
2.3. Séchage .....	38
2.4. Broyage et stockage .....	38
3. Procédés d'extraction et conservation de l'huile essentielle .....	39
3.1. Extraction par hydrodistillation de type Clevenger .....	39
3.1.1. Principe .....	39
3.1.2. Séparation de l'huile obtenue .....	40
3.2. Conservation de l'HE de <i>M. communis</i> .....	41
3.3. Rendement de l'extraction .....	42
3.4. Caractéristiques organoleptiques .....	42
4. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle .....	42
4.1. Origine des bactéries et préparation de l'inoculum .....	42
4.1.1. Souches bactériennes testées .....	42
4.2. Conservation des souches bactériennes .....	43
5. Stérilisation des instruments utilisés .....	44
6. Milieux de culture .....	44
6.1. Préparation de l'eau physiologique .....	44
6.2. Gélose nutritive .....	45
6.3. Gélose Mueller Hinton .....	45
7. Préparation des dilutions de l'huile essentielle .....	46
8. Préparation de l'inoculum .....	47
9. Aromatogramme .....	47
10. Lecture d'aromatogramme .....	48
11. Échantillonnage du lait .....	49
11.1. Prélèvement .....	49
11.2. Caractéristiques de la vache d'étude .....	50

12. Suivre de la cinétique de croissance microbienne .....	51
12.1. Ajout d'huile essentielle de <i>M. communis</i> au lait cru .....	51
12.2. Préparation des dilutions décimales .....	52
12.2.1. Mode opératoire .....	53
13. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) .....	53
13.1. Lecture des résultats .....	53
14. Détermination du nombre UFC/mL .....	55
14.1. Analyse biomathématique .....	55
14.1.1. Modèle Baranyi et Roberts .....	55
14.1.2. Modèle Gompertz .....	56
15. Analyses des paramètres physique du lait .....	57
15.1. Test d'ébullition du lait .....	57
15.1.1. Expression des résultats .....	57
15.2. Contrôle du PH .....	57
15.3. Contrôle de l'acidité .....	58
15.3.1. Préparation d'un solution de NaOH .....	58
15.3.2. Expression des résultats .....	58
<b>Chapitre IV Résultats et discussion</b>	
1. Résultats et discussion .....	61
1.1. Rendement d'extraction .....	61
1.2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de myrte commun .....	61
2. Activité antibactérienne .....	62
3. Paramètres physiques et microbiologique du lait additionné d'HE de <i>M. communis</i> .....	65
3.1. Paramètres physique .....	65
3.1.1. Contrôle de pH .....	65
3.1.2. Contrôle de l'acidité .....	66
3.1.3. Test d'ébullition .....	68
3.2. Analyse microbiologique du lait .....	69
3.2.1. Aspect macroscopique de la Flore Totale Aérobie Mésophile .....	69
3.2.2. Suivi de la cinétique de croissance bactérienne de la FTAM .....	69

3.2.2.1. Modèle Baranyi et Roberts .....	70
3.2.2.2. Corrélation entre la croissance microbienne maximale ( $X_{\max}$ ) et les concentrations de l'HE de <i>M. communis</i> .....	74
3.2.2.3. Modèle Gompertz .....	75
3.2.3. Durée de conservation (Shelf-life) .....	78

## **Conclusion et perspectives**

## **Références bibliographiques**

## *Liste des abréviations*

---

**°C**: Degrés Celsius

**°D** : Degrés Dornic

**AFNOR**: Association Française de Normalisation

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**CMI** : Concentration minimal d'inhibition

**CML** : Concentration minimale létale (la plus petite concentration d'antibiotique)

**CN 10**: Gentamicine

**CNIEL** : Centre national interprofessionnel de l'économie laitière

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**EQM** : Erreur quadratique moyenne

**FAO**: Food and agriculture organization

**FTAM**: Flore Totale aérobie Mésophile

**IL** : Interleukine

**IPMPT**: Integrated Predictive Modeling Program Tools

**ISO** : International Standard Organisation

**JORA** : Journal officiel de la république algérienne

**PCR** : Réaction en chaîne par polymérase

**qPCR** : Réaction en chaîne par polymérase quantitative

**SE of Fit** : Standard Error of the Fit

**UFC/ml** : Unité formant de colonie par millilitre

**UHT** : Ultra Haute Température

**USDA**: United States Department of Agriculture

**X<sub>max</sub>** : Charge bactérienne maximale

**Λ**: Phase de latence

**μ<sub>max</sub>**: Taux de croissance maximal.

## Listes des figures

---

<b>Figure 01</b> : Composition minérale du lait de vache .....	7
<b>Figure 02</b> : Les principaux composants polyphénoliques du <i>Myrtus communis</i> L.....	26
<b>Figure 03</b> : Représentation de $\alpha$ -pinène (A), limonène (B), cinéol (C).....	27
<b>Figure 04</b> : Photographie de <i>M. communis</i> récolté dans la région de Mila à Mechtat El Badsi. .	37
<b>Figure 05</b> : Séchage des feuilles de <i>M. communis</i> .....	38
<b>Figure 06</b> : Stockage du matériel végétal.....	39
<b>Figure 07</b> : Méthodologie de séchage et du Stockage des feuilles de <i>M. communis</i> .....	39
<b>Figure 08</b> : Photographie originale du montage d'hydrodistillation de type Clevenger.....	40
<b>Figure 09</b> : Huile essentielle de <i>M. communis</i> obtenue après l'extraction.....	41
<b>Figure 10</b> : Tubes de stockage d'huile essentielle.....	41
<b>Figure 11</b> : conservation des souches bactériennes à 4°C.....	43
<b>Figure 12</b> : Stérilisation par autoclave.....	44
<b>Figure 13</b> : Préparation de l'eau physiologique.....	44
<b>Figure 14</b> : Préparation de la gélose nutritive.....	45
<b>Figure 15</b> : Préparation de la gélose Mueller Hinton.....	46
<b>Figure 16</b> : Gamme de dilutions de l'huile essentielle de myrte.....	46
<b>Figure 17</b> : Repiquage des bactéries.....	47
<b>Figure 18</b> : Dépôt des disques sur la gélose Mueller-Hinton.....	48
<b>Figure 19</b> : Méthode d'aromatogramme.....	48
<b>Figure 20</b> : Secteur de prélèvement: Lemkhalfa dans la commune de Mila.....	49
<b>Figure 21</b> : Prélèvement du lait cru de vache.....	50
<b>Figure 22</b> : Ajout de l'huile essentielle de myrte au lait cru.....	52
<b>Figure 23</b> : Méthode des dilutions décimales.....	52
<b>Figure 24</b> : Préparation des séries de dilutions.....	53
<b>Figure 25</b> : Étapes opératoires de l'évaluation de la flore mésophile aérobie totale.....	54
<b>Figure 26</b> : Test d'ébullition du lait.....	57
<b>Figure 27</b> : Suivi du PH pendant 10 jours.....	58

<b>Figure 28</b> : Montage du titrage de lait. ....	59
<b>Figure 29</b> : Photos représentant les zones d'inhibition des micro-organismes testés par l'HE de <i>M. communis</i> . ....	62
<b>Figure 30</b> : Variation du pH durant la période du stockage à froid du lait supplémenté en HE de <i>M. communis</i> (4°C) (T= non additionné); C1=10mg/mL ; C2= 5 mg/mL; C3= 2,5mg/mL). ....	66
<b>Figure 31</b> : Variation de l'acidité Dornic des différents échantillons du lait durant la période du stockage à froid du lait supplémenté en HE de <i>M. communis</i> (4°C) (T (non additionné); C1=10mg/mL ; C2= 5 mg/mL; C3= 2,5mg/mL). ....	67
<b>Figure 32</b> : Flore totale du lait cru sur gélose nutritive. ....	69
<b>Figure 33</b> : Évolution de la croissance microbienne des FTAMs du lait additionné de l'HE de <i>M.communis</i> et stocké à froid (4°C) (non modalisé). ....	70
<b>Figure 34</b> : Évolution de la croissance microbienne des FTAMs du lait additionné à l'HE de <i>M.communis</i> et stocké à froid (4°C) (modèle de Baranyi et Roberts) ....	71
<b>Figure 35</b> : Résultats des paramètres cinétiques de croissance microbienne ( $X_{\text{initiale}}$ , $X_{\text{max}}$ , $\mu_{\text{max}}$ et $\lambda$ ) obtenus à l'aide du modèle de Baranyi et Roberts. ....	72
<b>Figure 36</b> : Corrélation entre la croissance microbienne maximale ( $x_{\text{max}}$ ) et les concentrations de l'EH de <i>M. communis</i> . ....	75
<b>Figure 37</b> : Résultats des paramètres de croissance microbienne ( $X_{\text{initiale}}$ , $X_{\text{max}}$ , $\mu_{\text{max}}$ et $\lambda$ ) obtenus à l'aide du modèle Gompertz. ....	76
<b>Figure 38</b> : Évolution de la croissance microbienne des FTAMs du lait additionné à l'HE de <i>M. communis</i> et stocké à froid (4°C) (modèle de Gompertz) ....	77

## Listes des tableaux

---

<b>Tableau 01</b> : Production des différents laits dans le monde dans la période 2009 à 2013 .....	2
<b>Tableau 02</b> : Composition moyenne du lait de vache .....	4
<b>Tableau 03</b> : Profil d'acide gras de la matière grasse du lait .....	5
<b>Tableau 04</b> : Principaux vitamines présentes dans le lait cru de vache .....	8
<b>Tableau 05</b> : Flore originale du lait cru de vache .....	13
<b>Tableau 06</b> : Composés nutritifs de 100g de fruit frais de <i>Myrtus communis</i> L.....	25
<b>Tableau 07</b> : Principaux composants d'huile essentielle de myrte de divers pays la méditerranée .....	29
<b>Tableau 08</b> : Concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle de <i>M. communis</i> de divers pays.....	31
<b>Tableau 09</b> : Coordonnées géographiques du Mechtat El Badsî-Hamala- Wilaya de Mila.....	38
<b>Tableau 10</b> : Souches bactériennes utilisées dans la présente expérimentation.....	43
<b>Tableau 11</b> : Fiche technique de la vache d'étude.....	50
<b>Tableau 12</b> : Rendement de l'huile essentielle des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.....	61
<b>Tableau 13</b> : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> L....	61
<b>Tableau 14</b> : Diamètres des zones d'inhibition des micro-organismes testés par l'HE de <i>M. communis</i> .....	63
<b>Tableau 15</b> : Test d'ébullition des échantillons du lait.....	68

# ***INTRODUCTION***

---



## **Introduction**

---

### **Introduction**

Le lait est considéré comme un aliment complet car il fournit une quantité importante de protéines, de lipides, de sels minéraux tels que le calcium, le phosphore, ainsi que des vitamines (**Watier, 1992**). Les produits laitiers ont une importance considérable dans l'alimentation des pays africains, notamment en Algérie qui est le principal consommateur de lait dans la région du Maghreb (**Benderouiche, 2014**). Le lait est également une source majeure de nutriments pour les Algériens, grâce à sa haute teneur en énergie métabolisable et en nutriments essentiels tels que des protéines de qualité, des glucides, des lipides, des minéraux et des vitamines avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l (**Siboukeur, 2007**). Il est crucial de maintenir un contrôle strict sur la production de lait en raison des risques potentiels qu'elle représente pour la santé humaine. Les souches pathogènes qui peuvent proliférer dans le lait peuvent devenir résistantes à plusieurs antibiotiques, ce qui est très préoccupant. Une évaluation de la qualité hygiénique du lait est donc essentielle pour détecter les micro-organismes pathogènes et la microflore naturelle dans le lait (**Senoussi, 2011**).

Les micro-organismes peuvent altérer la qualité et la durée de conservation du lait, ainsi que produire des enzymes extracellulaires qui peuvent dégrader la qualité des aliments (**Raats et al., 2011**). Des déséquilibres microbiens dans le lait peuvent également causer des problèmes de santé, car la consommation de lait cru contaminé par des agents pathogènes peut causer des maladies grave (**McAuley et al., 2012**). Afin de garantir une protection optimale du consommateur, il est essentiel de maîtriser les conditions de conservation ainsi que les conditions d'hygiène à toutes les étapes, de la traite jusqu'au produit fini (**Guiraud, 1998**). Même après les multiples traitements thermiques administrés par les industries agroalimentaires dans le but de conserver le lait, il reste toujours possible qu'il subisse des altérations indésirables. C'est pourquoi il est indispensable de maintenir une surveillance rigoureuse et fréquente du lait, tant au cours de sa transformation que pendant sa conservation et son stockage (**Oudot, 1999**).

Il existe plusieurs techniques pour conserver le lait à des températures plus basses, telles que la réfrigération et la congélation, ainsi que des techniques de conservation thermique comme la pasteurisation et la stérilisation, et l'utilisation de certains produits chimiques (**Khalil et al., 2021**). Cependant, ces techniques ont des effets négatifs sur le plan nutritionnel et sensoriel (**Hintz et al., 2015**), ainsi que des risques sanitaires tels que des maladies tératogènes, cancérigènes et une toxicité résiduelle (**Tzima et al., 2015**). De plus, Ces techniques conventionnelles présentent des limites dans la mesure où elles peuvent réduire la biodiversité microbienne du lait. En effet, les bactéries présentes dans le lait, comme les bactéries

## **Introduction**

---

psychrotrophes, mésophiles et thermophiles, ont chacune des conditions optimales de croissance différentes en termes de température. La température qui entraîne la mort de certaines peut favoriser le développement d'autres (**Vithanage *et al.*, 2016**).

Les industries alimentaires recourent aux additifs alimentaires pour préserver leurs produits, mais certains additifs synthétiques peuvent s'accumuler et causer des dégâts sur la santé des consommateurs à long terme. L'intérêt croissant des consommateurs pour une alimentation plus naturelle a suscité un nouvel intérêt des scientifiques pour ces substances (**Essawi et Srour, 2000**). Plusieurs substances extraites de plantes ont démontré une activité antimicrobienne contre certains microorganismes les plus fréquemment responsables de la détérioration des aliments et de leur péremption (**Tajkarimi *et al.*, 2010**). Des études ont examiné l'utilisation des huiles essentielles pour développer de nouvelles applications dans le domaine alimentaire et exploiter leurs propriétés naturelles. Les huiles essentielles sont couramment utilisées comme arômes alimentaires, mais leur capacité à avoir des effets antimicrobiens peut les rendre utiles comme agents de conservation des aliments (**Mehani, 2015**).

Il est important de noter que le domaine de l'utilisation des huiles essentielles et de produits naturels en tant qu'additifs conservateurs pour garantir la qualité et la sécurité des aliments est relativement peu développé. Cette observation est particulièrement pertinente dans le cas de la préservation du lait par l'huile essentielle de *Myrtus communis* L., pour laquelle il existe peu d'informations bibliographiques disponibles. Il est donc crucial de mener des recherches et des études approfondies pour mieux comprendre l'utilisation de conservateurs biologiques dans la conservation alimentaire, en particulier du lait. Le renforcement de la recherche dans ce domaine peut permettre de découvrir de nouvelles possibilités pour les conservateurs naturels et de fournir des alternatives plus sûres et plus saines aux conservateurs chimiques traditionnels. L'expansion de l'utilisation de conservateurs biologiques dans la préservation du lait pourrait non seulement garantir la sécurité alimentaire et offrir des avantages pour la santé humaine, mais aussi préserver la qualité de ce produit important de notre alimentation. Il est donc crucial de continuer à examiner et à développer les options disponibles pour les conservateurs naturels dans le cadre de la conservation des aliments. Ce travail a pour objectif principal de répondre à un besoin persistant de trouver de nouvelles substances naturelles efficaces pour la conservation et l'allongement de la durée de vie du lait. Il vise à mettre en évidence l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. Les résultats de cette étude pourraient potentiellement contribuer à l'utilisation d'huile essentielle de

## **Introduction**

---

---

myrte comme alternative naturelle aux méthodes de conservation traditionnelles du lait cru de vache.

Le travail présenté se décompose en quatre chapitres dans lesquels le premier aborde le lait cru de vache et méthodes de conservation. Le second chapitre expose les notions clés indispensables à la compréhension de l'étude, incluant les informations relatives à l'espèce étudiée ainsi que les connaissances générales sur les huiles essentielles de *Myrtus communis* L. et leur composition chimique. Le troisième chapitre détaille la méthodologie suivie pour mener à bien cette recherche tandis que le quatrième chapitre analyse les résultats obtenus et leur discussion. Enfin, le travail s'achève sur une conclusion qui synthétise les résultats et les conclusions de l'étude, ainsi que les perspectives de recherche pour l'avenir dans ce domaine.

# ***PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE***

---

# **Chapitre I**

## ***Lait cru de vache et Méthodes de conservation***

---

**1. Le lait dans le monde**

L'homme consomme du lait depuis 12 000 ans, et l'on trouve les premières traces d'élevages caprins et ovins au Proche-Orient. Puis ce fut au tour du bétail d'être domestiqué dans les montagnes de Turquie, de Macédoine et de Grèce. La place du lait et des produits laitiers dans l'alimentation a évolué au fil des millénaires (CNIEL, 2013).

La production laitière de quelques mammifères seulement a des implications directes sur l'alimentation humaine, même si le lait d'autres espèces animales est de meilleure qualité nutritionnelle. En fait, la quasi-totalité de la production mondiale de lait provient de bovins, de buffles, de chèvres, de moutons et de chameaux. La présence et l'importance de ces espèces varient considérablement entre les régions et les pays. Différents paramètres déterminent leur présence dans les exploitations, à savoir : l'alimentation, l'eau, le climat, la demande du marché, les traditions alimentaires et les caractéristiques socio-économiques de chaque ménage (par exemple, les ménages pauvres ont tendance à être plus dépendants des petits ruminants) (CNIEL, 2013). Bien que les bovins puissent être élevés dans un large éventail d'environnements, d'autres espèces laitières peuvent produire du lait dans des environnements défavorables.

Les moutons fournissent des produits laitiers dans les régions semi-arides autour de la mer méditerranée, les chèvres dans les régions pauvres en sols d'Afrique, les juments dans les steppes d'Asie centrale, les chameaux dans les terres arides et les buffles dans les régions tropicales humides (FAO, 2015).

Les chiffres de la production mondiale de lait varient selon la source. Par conséquent, ils doivent être pris avec prudence. Selon le CNIEL (2013), la production mondiale de lait a augmenté régulièrement entre 2009 et 2013 à un rythme proche de la croissance démographique (tableau 01). Il convient de noter que le lait de loin le plus produit est le lait de vache, représentant 83 % de la quantité produite en 2013 (équivalent à 646 millions de tonnes).

**Tableau 01** : Production des différents laits dans le monde dans la période 2009 à 2013 (CNIEL, 2013).

Différent type du lait	2009	2010	2011	2012	2013
Lait de vache	596.5	610.5	626.2	640.1	646.1
Lait de bufflonne	89.7	93.1	97.0	99.8	103.1
Lait de chèvre	17.0	17.7	18.2	18.4	18.7
Lait de brebis	9.4	9.8	9.7	10.0	10.1
Autres laits	3.6	3.8	3.8	3.7	3.7
<b>TOTAL</b>	<b>716.2</b>	<b>734.9</b>	<b>755.0</b>	<b>772.1</b>	<b>781.9</b>

**Unité** : Millions de tonne

En 2013, 69 millions de tonnes de lait et de produits laitiers ont été échangées sur le marché mondial, soit à peine 9 % de la production mondiale. Les principaux fournisseurs mondiaux de produits laitiers sont l'Europe et la Nouvelle-Zélande. Ce dernier pays a une place particulière. Sa production est relativement modeste (20 millions de tonnes en 2013), mais sa faible consommation intérieure soutient les exportations (CNIEL, 2013).

## 2. Définition du lait cru

Le lait a été défini par le **Codex Alimentaire (1999)** comme la sécrétion normale de la glande mammaire d'animaux en lactation obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans ajout ni retrait, destinée à la consommation sous forme de lait liquide ou à une transformation ultérieure. Le lait est un liquide opaque blanc terne, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en matières grasses et en bêta-carotène, avec une légère odeur et un goût sucré, il est sécrété par les glandes mammaires des mammifères femelles après la naissance des petits. Selon le Congrès international pour la répression des fraudes à **Genève (1908)** : « Le lait est tout le produit de la traite totale et ininterrompue d'une vache laitière en bonne santé, bien nourrie et non transformée, doit être correctement collecté et ne doit pas contenir de colostrum "(Alias, 1975).

Selon **Deforges et al., (1999)**, le lait cru est un lait qui n'a pas été chauffé au-dessus de 40°C, ni n'a subi de traitement non thermique d'effet équivalent, notamment en termes de réduction de la concentration en micro-organismes.

### 3. Composition du lait

Le lait est un liquide opaque au goût légèrement sucré et sans odeur distincte. Son pH moyen varie entre 6,6 et 6,8. Sa densité varie entre 1,028 et 1,034. Le résultat est une expression des teneurs (matières azotées et lipidiques), toujours légèrement inférieures en poids par rapport au volume (**Perreau, 2014**).

La composition du lait varie d'une espèce à l'autre des mammifères, car elle est adaptée aux besoins de chacun d'eux. Cependant, différents laits ont des caractéristiques communes, à savoir une richesse en calcium, une qualité considérable en protéines, du lactose comme sucre prédominant et une richesse en vitamines, notamment du groupe B. Sa composition dépend également d'autres facteurs tels que la race du vache, la saison et le climat. Certains de ces facteurs peuvent être contrôlés et donc modifiés pour améliorer le rendement laitier des vaches (**Mathieu, 1998**). Le lait contient principalement de l'eau, des glucides tels que le lactose, des lipides sous forme de globules gras, des protéines telles que les caséines, des sels et minéraux ioniques/moléculaires, ainsi que des oligoéléments, enzymes, vitamines, et autres nutriments essentiels.



Tableau 02 : Composition moyenne du lait de vache (Alais *et al.*, 2008).

Eléments		Composition (g/l)	Etat physique des composants
Eau		905	Eau libre (solvant) + eau liée 3,7%
Glucides (g/l)	lactose	49	Solution
Lipides (35 g/l)	Matière grasse	34	Emulsion de globules gras (3 à 5 µm)
	Lécithine (phospholipides)	0.5	
	Partie insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérols)	0.5	
Protides (34g/l)	Caséines	27	Suspension micellaire sephosphacaseinate de calcium Solution colloïdale Solution varie
	Protéines solubles (globulines albumine)	5.5	
	Substances azotées non protéique	1.5	
Sels (9 g/l)	Acide citrique	2	Solution ou état colloïdale
	Acide phosphorique	2,6	
	Acide chlorhydrique	1,7	
Constituants divers (Vitamines, Enzymes, gaz dissout)		Traces	—
Extrait sec total		127	—
Extrait sec non gras		92	—

### 3.1. Eau

C'est l'élément principal en termes de quantité. D'autres éléments composent les solides du lait (Perreau, 2014).

### 3.2. Glucides

Les glucides du lait sont principalement représentés par le lactose, mais le lait contient deux types de glucides :

-glucides libres et dialysables (oligoholosides).

-glucides liés aux glycoprotéines et non dialysables.

Le lactose est la principale matière carbonée pour le développement des bactéries lactiques (Jeant *et al.*, 2007). Sa teneur est très stable dans le lait de vache (48 à 50 g/l) et représente un

sucres spécifiques du lait (Hoden et Coulon, 1991). Les propriétés physiques les plus importantes pour le traitement industriel sont la solubilité, la cristallisation et la douceur (Amiot *et al.*, 2002).

### 3.3. Lipides

Les lipides sont formés par un mélange d'acides gras en suspension dans le lait sous forme de gouttelettes, formant une émulsion. Ils forment la partie la plus variable du lait, leur concentration varie de 35 à 40 g/l. Ils sont composés à 99 % de triglycérides (Vilain, 2010). Les acides gras nécessaires à la synthèse des triglycérides du lait sont obtenus à partir des lipides plasmatiques par digestion et absorption des graisses alimentaires, ou par mobilisation du tissu adipeux. Plus de 80% des lipides sériques proviennent de l'alimentation (Chandan *et al.*, 2016). Le **tableau 03** représente les acides gras de la matière grasse du lait.

**Tableau 03** : Profil d'acide gras de la matière grasse du lait (Chandan *et al.*, 2016).

Acide gras	Nom commun	Poids (%)
C4 :0	Acide butyrique	3,8
C6 :0	Acide caproïque	2,4
C8 :0	Acide caprylique	1,4
C10 :0	Acide caprique	3,5
C12 :0	Acide laurique	4,6
C14 :0	Acide myristique	12,8
C14 :1	Acide myristoleique	1,6
C15 :0	—	1,1
C16 :0 (ramifié)	—	0,30
C16 :0	Acide palmitique	43,7
C16 :1	Acide palmitoleique	2,6
C17 :0	—	0,34
C18 :0 (ramifié)	—	0,35
C18 :0	Acide stéarique	11,3
C18 :1	Acide oléique	27,42
C18 :2	Acide linoléique	1,5
C18 :3	Acide linoléique	0,59

### 3.4. Matériaux azotés

Ils représentent environ 27 % de la matière sèche du lait, soit une teneur de 32 à 36 g/L. Au sein de cette catégorie, une distinction est faite entre les fractions protéiques et non

protéiques (**Perreau, 2014**). Les protéines, dont 80 % de caséine, des protéines solubles (albumines et globulines), 19 % de protéines différentes (enzymes), en sont les composants de base (**Sikine, 2013**). L'azote non protéique du lait se présente sous forme de créatine (créatinine), d'ammoniaque, d'acides aminés libres, de vitamines, de nucléotides, d'urée (**Pacclin et Galantier, 1986**).

### **3.4.1. Caséines**

Les caséines représentent 82 % des protéines du lait de vache (**Vilain, 2010**) à une teneur d'environ 26 à 30 g/l. Les caséines sont présentes dans le lait sous forme de complexe organique et minéral (**Eigel et al., 1984**). Ce sont ces protéines qui sont coagulées par l'action des bactéries lactiques naturellement présentes dans le lait et par l'action de la présure ajoutée lors de la transformation fromagère (**Perreau, 2014**).

### **3.4.2. Protéines non caséiniques**

Ces protéines sont appelées "whey" car elles proviennent du sérum sanguin, contrairement aux caséines, qui sont produites par les cellules mammaires. Ils ne coagulent pas lors de la transformation du fromage, mais sont « évacués » dans le lactosérum lors de l'égouttage après l'étape de coagulation (**Perreau, 2014**). Par rapport aux caséines ; ils forment un groupe plus hétérogène quant à leur composition chimique puisqu'ils sont constitués de : lactoglobulines, lactalbumines, albumine sérique, immunoglobulines et lactoferrine bovine (**Vilain, 2010**).

### **3.4.3. Fraction non protéique**

Il représente 1 à 1,5 g/l de lait, soit environ 5 % des matières azotées totales du lait, et est directement perdu lors de la fabrication du fromage. Ses principaux composants sont : l'urée, les acides aminés libres, l'ammoniaque, les enzymes sécrétées par les cellules sanguines et lactées ou les bactéries (**Perreau, 2014**).

## **3.5 Minéraux**

La fraction minérale, même si elle est négligeable dans la composition du lait, est considérée comme très importante tant d'un point de vue nutritionnel que technologique, le lait et ses dérivés constituant l'apport principal de calcium et de phosphore dans la ration alimentaire. Les sels minéraux du lait et des produits laitiers sont généralement divisés en deux groupes :

- Certains sont solubles dans la phase aqueuse du lait ou des produits laitiers

- D'autres sont à l'état solide, cristallin ou amorphe (Gaucheron *et al.*, 2004).

Composition minérale du lait (g.l<sup>-1</sup>)

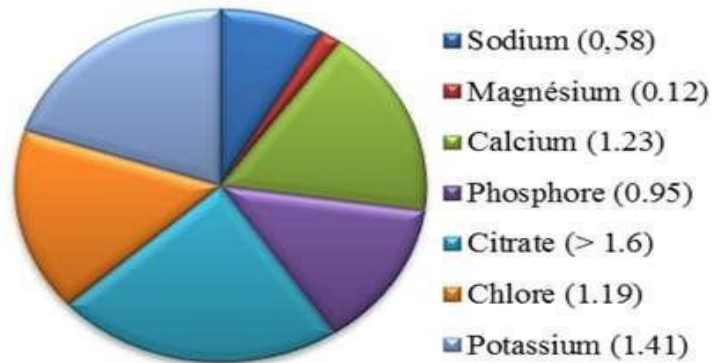


Figure 01 : Composition minérale du lait de vache (Jeantet *et al.*, 2008).

### 3.6. Vitamines

Le lait contient des vitamines liposolubles et hydrosolubles. Le lait entier est une excellente source de vitamine A, la vitamine D est importante pour la santé des os, la vitamine E est un antioxydant et la vitamine K se trouve dans le lait, mais uniquement comme complément alimentaire. Le lait est une source importante de vitamine B (**tableau 04**). Ils sont stables à une variété de conditions de chauffage et de transformation auxquelles le lait est normalement exposé. La riboflavine est sensible à la lumière et provoque des saveurs désagréables dans le lait lorsqu'il est exposé à la lumière du soleil. La teneur en acide ascorbique (vitamine C) du lait est très faible et insignifiante. La majeure partie de la vitamine C du lait est détruite lors de la pasteurisation (Chandan *et al.*, 2016).

Tableau 04 : Principaux vitamines présentes dans le lait cru de vache (Chandan *et al.*, 2016).

Vitamines	Teneur/ 100 g
Thiamine (B1)	45 µg
Riboflavine (B2)	175 µg
Niacine	90 µg
Pyridoxine (B6)	50 µg
Pantothenic acide	350 µg
Biotine	3,5 µg
Acide folique	5,5 µg
Vitamine B12	0,45 µg
Vitamine C	2 mg
Vitamine A	40 µg
Vitamine D	4 (IU)
Vitamine E	100 µg

### 3.7. Enzymes

De nombreuses enzymes laitières domestiques sont technologiquement importantes à certains points de vue (Fox, 2003) :

- Détérioration (lipase "potentiellement l'enzyme la plus importante du lait", protéinase, phosphatase acide et xanthine oxydase) ou préservation (lactoperoxydase, sulfhydryl oxydase, superoxydedismutase) de la qualité du lait.
- Activité antimicrobienne telle que le lysozyme et la lactoperoxydase (qui est utilisée dans le cadre du système lactoperoxydase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-thiocyanate pour la pasteurisation à froid du lait).
- comme source commerciale d'enzymes ; ceux-ci comprennent la ribonucléase et la lactoperoxydase.

#### 4. Propriétés physico-chimiques du lait

La connaissance des propriétés physico-chimiques du lait est d'une importance indéniable, car elle permet une meilleure évaluation de la qualité de la matière première et la planification de traitements et d'opérations technologiques appropriés (El Marnissi *et al.*, 2013).

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la densité, le point de congélation, le point d'ébullition, l'acidité et le pHi du lait.

##### 4.1. Densité

La densité du lait varie entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité du lait en vrac des laiteries est de 1,032 à 20°C. La valeur du lait écrémé est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et humide peut avoir une consistance normale (Labioui *et al.*, 2008).

##### 4.2. Acidité

L'acidité du lait est un concept important pour l'industrie laitière. Il permet d'évaluer l'état de conservation du lait. Il est exprimé en "degré Dornic" (°D), le second exprime la teneur en acide lactique : 1°D = 0,1g d'acide lactique. L'acidité titrable est comprise entre 15°D et 18°D. Il varie entre 0,15% et 0,18% équivalent acide lactique (Hogan, 1999).

##### 4.3. pH du lait

Le pH du lait varie d'une espèce à l'autre, en raison des différences de composition chimique, en particulier de caséine et de phosphate, ainsi que des conditions environnementales (Alais, 1984). La valeur du pH donne une idée de la fraîcheur du lait. Le lait de vache frais a un pH d'environ 6,7. (Kouame-Sina, 2010).

##### 4.4. Point de congélation

Mathieu, 1999 et Vignola, 2002 ont prouvé que le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure car la présence de solides dissous abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer si de l'eau a été ajoutée au lait. Sa valeur moyenne varie entre - 0,54 et - 0,55 °C, qui est aussi la température de congélation du sérum sanguin.

#### 4.5. Point d'ébullition

Selon **Amiot *et al.*, (2002)**, le point d'ébullition est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur d'une substance ou d'une solution est égale à la pression appliquée. Quant au point de congélation, le point d'ébullition est affecté par la présence de solides dissous. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5°C.

### 5. Constituants chimiques indésirables du lait

Le lait peut contenir des substances ingérées ou inhalées par les animaux sous forme de composants originaux ou de métabolites. Les substances exogènes peuvent provenir des aliments (engrais et pesticides) et de l'environnement (médicaments, antibiotiques, hormones) donnés aux animaux (**Mahieu *et al.*, 1977**).

#### 5.1. Antibiotiques

Résidus d'antibiotiques, notamment si ces substances sont servies par voie topique dans le traitement des mammites (**Jacquet, 1969**), leur présence dans le lait a un double effet incommode. Par conséquent, pour les consommateurs, il peut provoquer des allergies et une cancérogénicité (**Michell, 2005**). Chez les sujets sensibles, il peut contribuer à l'établissement d'une flore endogène résistante aux antibiotiques (**Morel, 1962**).

#### 5.2. Pesticides

Les détritres de pesticides sont des substances polychlorées liposolubles et s'accumulent donc dans les graisses stockées. Lors de la fonte des graisses, les substances stockées sont est remis brutalement en circulation et des manifestations d'intoxication peuvent apparaître (**Beroza et Bowman, 1966**).

#### 5.3. Métaux

Parmi les métaux pouvant contaminer le lait à des niveaux préoccupants pour la santé : sélénium, arsenic, plomb et mercure (**Vanier, 2005**).

### 6. Qualité du lait

#### 6.1. Caractéristiques organoleptiques

La qualité organoleptique englobe les caractéristiques : couleur, odeur, saveur et flaveur (**Fredot, 2005**). Les principales caractéristiques organoleptiques sont :

**6.1.1. Couleur**

Le lait est d'une couleur blanche matte porcelaine due à la diffusion de la lumière à travers les micelles de colloïdes. Sa richesse en matières grasses lui confère une teinte un peu jaunâtre (selon sa teneur en  $\beta$ -carotène) (**Martin, 2000**).

**6.1.2. Odeur**

La présence de graisse dans le lait lui confère une odeur caractéristique, car la graisse lie les odeurs animales. Ils sont associés à l'environnement de traite et à la nourriture. Pendant le stockage, le lait se caractérise par une odeur aigre due à l'acidification par l'acide lactique (**Vierling, 2003**).

**6.1.3. Saveur**

Il est difficile de définir cette caractéristique du lait normal car elle provient d'une combinaison d'éléments valorisés différemment par l'observateur. On distingue le goût sucré du lactose, le goût salé du NaCl, le goût particulier des lécithines, qui est équilibré et qui est atténué par la masse protéique (**Martin, 2000**).

Nourrir certaines plantes d'ensilage aux vaches laitières peut conférer des saveurs anormales au lait, en particulier un goût amer. Un goût amer peut également apparaître dans le lait suite à la prolifération de certains germes d'origine extra mammaire (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

**6.1.4. Flaveur**

Le goût du lait est le résultat d'un équilibre délicat entre de nombreux composés : acides, alcools, esters, amines, composés carbonylés et soufrés, etc. en interaction avec la masse lipidique et protéique (**Vierling, 1998**).

**6.2. Qualité microbiologique**

Le lait est l'aliment de prédilection en raison de sa composition ; contient des matières grasses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau. Grâce à son pH légèrement acide, il représente donc un substrat favorable au développement des micro-organismes (**Guiraud, 1998**).



Il provient d'une traite effectuée dans des conditions de propreté et d'hygiène normales, il peut contenir de nombreux agents pathogènes dont le développement rapide est assuré par la température à la sortie du pis (35°C) et aussi par l'abondance d'eau et de glucides (**Fredot, 2006**).

Ces aliments peuvent être contaminés par de nombreuses espèces microbiennes. Pour certains, c'est un bon support culturel qui leur permet de s'y développer. Il n'est qu'un véhicule occasionnel pour d'autres germes banals ou pathogènes (**Dieng, 2001**). Les micro-organismes du lait sont divisés par importance en deux classes principales : la flore indigène ou indigène et la flore contaminante. Celle-ci est divisée en deux catégories : la flore d'altération et la flore pathogène (**Vignola, 2002**).

### **6.2.1. Flore originale (indigène)**

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions sur un animal sain (moins de 10<sup>3</sup> germes/ml) (**Cuq, 2007**).

La flore originelle des produits laitiers est définie comme l'ensemble des micro-organismes présents dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement mésophiles (**Vignola, 2002**).

Ce sont des microcoques, mais aussi des streptocoques lactiques et des lactobacilles. Ces micro-organismes plus ou moins abondants sont étroitement liés à l'alimentation (**Guiraud, 2003**) et n'ont pas d'effet significatif sur la qualité du lait et sa production (**Varnam et Sutherland, 2001**). D'autres germes peuvent se retrouver dans ce nutriment lorsqu'il provient d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux d'un point de vue sanitaire. Ils peuvent provoquer des mammites (**Guiraud, 1998**).

Tableau 05 : Flore originale du lait cru de vache (Vignola, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
MICROCOCCUS SP.	30- 90
LACTOBACILLUS SP.	10 - 30
GRAM NÉGATIF	< 10
STREPTOCOCCUS SP ET LACTOCOCCUS SP	< 10

### 6.2.2. Flore de contamination

Ces flores sont autant de micro-organismes contaminant le lait, de la récolte à la consommation. Elle peut être constituée par des flores d'altération, qui provoquent des défauts sensoriels ou raccourcissent la durée de conservation des produits, et des flores pathogènes, dangereuses d'un point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

#### 6.2.2.1. Levures

Bien que souvent présents dans le lait, on les y trouve rarement. Peu d'entre eux sont capables de fermenter le lactose. Le genre *Torulopsis*, qui produit du gaz à partir du lactose, tolère des pressions osmotiques élevées et est capable de gonfler des boîtes de lait concentré sucré (FAO, 2007).

#### 6.2.2.2. Moisissures

Les moisissures sont des champignons microscopiques. Ce sont des eucaryotes hétérotrophes, ils sont obligés de recevoir du carbone et de l'azote nutritifs provenant des graisses, des sucres et des protéines. De manière générale, les aliments sont des substrats très favorables à leur développement, ces germes peuvent entraîner une dégradation par mauvaise apparence, mauvais goût ou, plus grave, la production de mycotoxines (Cahagnier, 1998).

### 6.2.2.3. Flore d'altération

La flore d'altération entraînera des défauts sensoriels de goût, d'odeur, d'apparence ou de texture et raccourcira la durée de conservation du produit laitier. Parfois, même certains micro-organismes nuisibles peuvent être pathogènes. Grands genres identifiés comme flore d'altération : bactéries coliformes et certaines levures et moisissures (**Essalhi, 2002**).

### 6.2.2.4. Coliformes

En microbiologie alimentaire, les "bactéries coliformes" sont des entérobactéries fermentant le lactose et produisant des gaz à 30°C. Cependant, en très grand nombre, les bactéries coliformes peuvent provoquer une intoxication alimentaire. Le nombre de coliformes a longtemps été considéré comme un indicateur de contamination fécale. Comme les entérobactéries totales, elles sont un bon indicateur de qualité hygiénique (**Guiraud, 2003**).

### 6.2.2.5. Flore pathogène

La contamination du lait et des produits laitiers par des germes pathogènes peut être d'origine endogène suite à l'excrétion d'un animal malade par la glande mammaire ; il peut aussi être d'origine exogène, auquel cas il s'agit d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport du milieu (eau) ou lié à l'homme (**Brisabois et al., 1997**). Parmi ces bactéries :

### 6.2.2.6. Bactéries infectieuses

Qui doit être vivant dans l'aliment au moment de sa consommation pour être efficace. Après ingestion, ils perturbent le système digestif. Divers symptômes bien connus tels que diarrhée, vomissements, maux de tête,...etc. apparaissent.

Principaux micro-organismes infectieux :

- **Salmonelle**

Ils sont principalement présents dans les intestins des humains et des animaux. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives. Ils se développent dans une plage de température variant entre 4 °C et 47 °C, avec un optimum entre 35 et 40 °C. Ils survivent aux basses températures et résistent au gel et au gel. En revanche, il est détruit par pasteurisation (72°C pendant 15 secondes). Ils sont capables de se multiplier dans la gamme de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique (**Jay, 2000 ; Guy, 2006**).

- **Listeria**

Les bactéries *Listeria* se présentent sous la forme de petits bacilles de forme régulière aux extrémités arrondies et ne forment ni capsules ni spores. Ils sont gram positifs (**Seelinger et Jones, 1986**). Leur croissance est possible entre 0°C et 45°C (température optimale : 30°C-37°C), pour un pH compris entre 4,5 et 9,6. Ils sont mobiles grâce aux flagelles péritriches (**Lovett, 1989**). *Listeria monocytogenes* peut être considérée comme le pathogène alimentaire "parfait" car elle est ubiquitaire, très résistante aux conditions extrêmes (température, pH...) et, surtout, elle est capable de se développer à des températures réfrigérées des aliments (**Kornacki et Marth, 1982**).

#### 6.2.2.7. Bactéries toxinogènes

Qui produisent une toxine dans les aliments, qui est responsable de l'intoxication du consommateur. Il ne suffit donc pas de détruire les bactéries pour prévenir l'apparition de maladies. De plus, certaines toxines sont très résistantes aux traitements thermiques comme la pasteurisation et même la stérilisation (**Lamontagne et al., 2002**).

Principaux micro-organismes toxigènes :

- **Staphylocoques**

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococcae*. Ce sont des cocci à Gram positif d'un diamètre de 0,5 à 2,5 µm, non sporulés et non mobiles (**Leyral et Vierling, 2007**). Ils surviennent assez souvent dans le lait et parfois en grande quantité. La source de contamination est une infection mammaire et peut-être plus souvent chez l'homme. Leur fréquence tend à augmenter du fait de leur résistance aux antibiotiques, en produisant des toxines thermostables, elles provoquent des intoxications plus ou moins graves, qui peuvent être effrayantes chez les enfants (**FAO, 2007**). Pour cela, les normes exigent leur absence dans les produits alimentaires (**JORA., 1998**).

- **Clostridies sulfito-réductrices**

Ce sont des bâtonnets sporulés, motiles, anaérobies stricts Gram+, généralement présents dans le sol et l'eau, mais aussi dans le tube digestif humain et animal, la pathogénicité étant due à la synthèse de toxines (**Lamontagne et al., 2002**).

### 6.3. Principales Activités des micro-organismes dans le lait

La détérioration du lait est associée à la croissance de levures, de moisissures et de bactéries. Les contaminations bactériennes sont les plus courantes et les plus importantes et leurs possibilités l'évolution la plus redoutée. Ces processus de dégradation sont possibles dans des conditions ambiantes favorables à la prolifération microbienne et à l'activité enzymatique. Défauts gustatifs graves a une odeur peut se produire (Kim *et al.*, 1982).

Ces activités comprennent :

#### 6.3.1. Acidification

Un tel processus conduit à la précipitation de la caséine et à la coagulation du lait. Selon la température du lait et les bactéries impliquées, le phénomène de précipitation sera plus ou moins rapidement : de 10°C à 37°C, le germe le plus souvent en cause est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association avec des bactéries coliformes, des entérocoques, des microcoques et des lactobacilles.

A une température supérieure à 37 °C, ces bactéries sont *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus bulgaricus*.

A des températures inférieures à 10°C, le processus est plus lent, la solidification nécessite un délai assez long. Le précipité peut être dégradé dans un second temps selon les espèces psychrotrophes protéolytiques : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *micrococci*... (Guiraud et Galzy, 1980; Leyral et Vierling, 2007).

### 6.4. Différentes stades de contamination

Le lait est contaminé par des microbes d'origines diverses : sol, nourriture, air et eau, manipulateurs, matériel de traite et de stockage, etc.

#### 6.4.1. Contamination au stade de production

La flore du lait est riche et évolue rapidement. Il faut donc ramener sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au moins une heure après la traite. Le lait cru doit toujours être conservé au frais. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité de développement de germes psychrotrophes et psychrophiles (plusieurs jours) (Guiraud et Galzy, 1980).

### 6.4.2. Contamination par l'animale

Le lait contient, lorsque l'animal est traité, des résidus d'antibiotiques qui sont source de troubles importants (**Ben Mahdi et Ouslimani, 2009**). La propreté des vaches a un effet significatif sur la santé de la mamelle, et notamment sur le taux d'apparition de mammites dans l'environnement. Garder les mamelles et les extrémités des vaches propres réduites la propagation des agents pathogènes de l'environnement dans le canal du trayon. Selon la superficie de l'animal souillé, on peut identifier les endroits de l'étable où le niveau de propreté est insuffisant et apporter les correctifs nécessaires (**Levesque, 2007**).

### 6.4.3. Contamination au cour de la traite

C'est à la surface des trayons que l'on trouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une dizaine de groupes microbiens sont systématiquement détectés entre la flore bénéfique, la flore carieuse et l'agent pathogène. Les groupes microbiens bénéfiques (bactéries lactiques) sont fortement dominants, avec des niveaux au moins 100 fois plus élevés que les groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive) (**Lemire, 2007**).

### 6.4.4. Contamination au cour de transport

La collecte et le transport se font à l'aide de citernes réfrigérées qui collectent régulièrement le lait des fermes. Afin de fournir un lait de qualité, ils doivent respecter un certain nombre de règles légales, notamment en conservant le lait au frais, qui vise à stopper le développement des micro-organismes. Il s'agit d'un traitement de stabilisation (**Weber, 1985**). La détérioration pendant le transport due à une mauvaise réfrigération peut avoir un impact sérieux sur la qualité du lait et entraîner des pertes financières importantes (**Jakob et al., 2011**).

## 6.5. Facteurs d'altération de la composition du lait

La composition chimique du lait et ses propriétés technologiques évoluent sous l'influence d'un grand nombre de facteurs (**Stoll et Posieux, 2003**), ces principaux facteurs de variation sont bien connus :

- Lien interne avec l'animal (âge, facteurs génétiques, stade de lactation, etc.)
- Facteurs externes liés à l'environnement et à l'élevage (saison, climat, alimentation).

### 6.5.1. Facteurs liés aux conditions internes

#### 6.5.1.1. Âge

La production laitière augmente généralement du 1<sup>er</sup> au 5<sup>ème</sup> vêlage, puis décroît nettement et relativement rapidement à partir du 7<sup>ème</sup> (**Veisseyre, 1975**). Le vieillissement des vaches entraîne l'appauvrissement de leur lait, ces variations de composition sont attribuées à la détérioration de l'état hygiénique du pis ; Selon l'âge, le nombre de mammites augmente et la proportion de protéines solubles, notamment celles provenant du sang, augmente.

#### 6.5.1.2. Facteurs génétiques

**Jakob et Hänni** ont noté en **2004** l'existence de variants génétiques A et B résultant de mutations ponctuelles qui donnent naissance à différentes protéines qui ne diffèrent que par l'échange d'un ou deux acides aminés. Les variants génétiques des protéines du lait, en particulier la  $\kappa$ -caséine et la  $\beta$ -lactoglobuline, affectent la composition du lait et certains critères de performance des vaches.

#### 6.5.1.3. Stade de lactation

Au cours de la lactation, la quantité de matières grasses, de substances azotées et de caséines évolue de manière inversement proportionnelle à la quantité de lait produite. Les niveaux de graisse et d'azote, élevés au vêlage, diminuent pendant le premier mois et restent au minimum pendant le deuxième mois. Le lait en fin de lactation a les mêmes propriétés que le lait sécrété par les animaux plus âgés. De plus, ces deux niveaux, protéines et matière grasse, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (**Meyer et Denis, 1999**).

### 6.5.2. Facteurs liés aux conditions extrinsèques

#### 6.5.2.1. Alimentation

L'alimentation joue un rôle important; il permet d'agir sur les taux de lipides et de protéines de manière différente et à court terme. En effet, selon **Coulon et Hoden, (1991)**, le taux de protéines évolue dans le même sens que l'apport énergétique, et peut être amélioré par un apport spécifique en acides aminés (lysine et méthionine). Quant à la teneur en matière grasse, elle dépend à la fois de la proportion d'aliment concentré dans la ration alimentaire et de son mode de préparation et de distribution (finesse de hachage, nombre de portions, mélange d'aliments).

### 6.5.2.2. Saisons et climat

L'effet spécifique de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence en raison de l'effet combiné du stade physiologique et des facteurs alimentaires (Coulon et Hoden, 1991).

L'effet global se traduit par :

- Production maximale au printemps et minimale en été selon l'influence de la saison de vêlage.
- Teneur minimale en matière grasse à la fin du printemps et maximale en automne.
- Teneur minimale en calcium en été et maximale au printemps (Keiling et Wilde, 1985).

## 7. Méthodes de conservation de lait

### 7.1. Microfiltration

La microfiltration appliquée au lait écrémé élimine la quasi-totalité des micro-organismes sans perturber les enzymes internes du lait, tout en préservant ses propriétés nutritionnelles et sensorielles naturelles (Jeantet *et al.*, 2008).

### 7.2. Pasteurisation

La pasteurisation vise à éliminer toutes les formes végétatives des micro-organismes pathogènes du lait, il existe 3 types de traitement :

- **Basse pasteurisation (62-65°C/ 30 min)** : elle ne peut se faire que par lots et est omise en laiterie.
- **Haute pasteurisation (71-72°C/ 15- 40s)** : est réservée au lait de bonne qualité hygiénique. D'un point de vue organoleptique et nutritionnel, la haute pasteurisation a peu d'effets au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite, en revanche la peroxydase reste active, et le taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines est faible.



- **Flash pasteurisation (85-90°C/ 1-2s)** : réalisée sur du lait cru de qualité moyenne ; la phosphatase et la peroxydase sont détruites (**Jeantet *et al.*, 2008**).

### 7.3. Stérilisation

Stérilisation visant à éliminer tous les micro-organismes, qu'ils soient végétatifs ou sporulés. C'est un lait de moindre qualité nutritionnelle et organoleptique que le lait pasteurisé.

#### ✓ Stérilisation conventionnelle

le lait est pré-stérilisé (130-140°C / 3- 4s) (après homogénéisation dans le cas d'un lait avec matière grasse). Il est ensuite refroidi à 70-80°C et mis en bouteille avant de subir une deuxième stérilisation en autoclave (115°C / 15-20 min). Après un refroidissement brutal, ces laits présentent des défauts de couleur et de goût et nutritionnellement il y a une perte de vitamines B1, B12, B6.

#### ✓ Stérilisation UHT ultra haute température :

le lait est traité à (135-150°C / 1-6 s). Cette modification permet de mieux préserver les propriétés nutritionnelles et organoleptiques originelles du lait (**Jeantet *et al.*, 2008**).

### 7.4. Refroidissement

La conservation du lait cru par réfrigération est maintenant généralisée. Le lait est souvent stocké pendant 48 heures ou plus à 4-6°C (**Mottar, 1984**).

La pente de la phase exponentielle (en coordonnées semi-logarithmiques), également appelée vitesse de multiplication ou taux de croissance maximum ( $\mu_{max}$ ), représente la vitesse de croissance par unité de densité maximale (**Baranyi et Pin, 1999**).

## 8. Méthodes de conservation naturelles

**Li *et al.*, 2023** ont mené une étude qui a montré que l'ajout de Plantaricine FB-2, extraite de *Lactiplantibacillus plantarum* FB-2, à du lait liquide a prolongé la durée de conservation du lait cru de 3 jours (7 jours sans ajout) et du lait pasteurisé de 6 jours (31 jours avec Plantaricine FB-2 contre 25 jours dans le groupe témoin). En évaluant la croissance microbienne, l'acidité, la teneur en protéines et les changements sensoriels pendant le stockage, les résultats ont confirmé que la Plantaricine FB-2 peut prolonger efficacement la durée de conservation du lait cru et pasteurisé. La quantité optimale était de 0,3 g/kg pour le lait pasteurisé et de 0,4 g/kg pour le lait cru. Ces résultats sont importants pour l'industrie laitière, car ils fournissent une alternative

naturelle pour prolonger la durée de conservation du lait tout en maintenant sa qualité et sa sécurité alimentaire. De même, **El-Saadony *et al.*, (2021)** ont mené une étude qui a montré que la supplémentation du lait cru de bufflonne avec des peptides bioactifs tels que HPI, DPI, PSP et PKH a prolongé de manière significative la durée de conservation du lait après la traite et pendant la manipulation, tout en améliorant sa qualité. Les peptides bioactifs ont réduit la charge microbienne à un niveau acceptable, ont diminué la décomposition du sucre dans le lait, ce qui a entraîné une diminution de l'acidité titrable et une prolongation de la durée de conservation du lait. Le M-PSP a montré les scores de couleur et sensoriels les plus élevés par rapport au contrôle.

Les coques de châtaigne contiennent de nombreux phénols et tanins hydrolysables (**Massantini *et al.*, 2021**), qui ont montré des effets antimicrobiens sur les aliments d'origine animale. Les extraits d'éthanol de coques internes de châtaigne ont montré une activité antimicrobienne contre *C. jejuni* dans la viande de poulet (**Lee *et al.*, 2016**). De même, les extraits de châtaigne ont été étudiés pour leur capacité à prolonger la durée de conservation des boulettes de bœuf sous réfrigération (**Zamuz *et al.*, 2018**).

L'origan (*Origanum vulgare*) est régulièrement utilisé dans la cuisine méditerranéenne. L'huile essentielle d'origan possède des propriétés antibactériennes et antioxydantes reconnues pour prolonger la durée de conservation des aliments. Les effets antibactériens de l'origan sont dus à deux polyphénols bioactifs, le thymol et le carvacrol (**Jaspal *et al.*, 2021**). Ces études fournissent des alternatives naturelles pour prolonger la durée de conservation des aliments tout en maintenant leur qualité et leur sécurité alimentaire.

## **Chapitre II**

***Myrtus communis* L.**

---

## 1. Aperçu sur les plantes médicinales

Depuis de nombreux siècles, les plantes médicinales ont joué un rôle crucial dans la préservation de la santé humaine et la pérennité de l'espèce. À ce jour, on recense environ 500 000 espèces végétales à travers le monde, dont environ 10 000 possèdent des vertus thérapeutiques reconnues (Iserin, 2001). D'après la circulaire n°346 du 2 juillet 1979 du code de la santé publique en France, " une plante présentant des propriétés médicamenteuses, sans avoir ni ne pouvant avoir aucune utilisation alimentaire, condimentaire et hygiénique ". En revanche, les plantes ne présentant pas de propriétés médicamenteuses sont considérées comme des plantes aromatiques condimentaires (Veillot, 2001).

### 1.1. *Myrtus communis* L.

*M. communis*, tire son nom du grec ancien « **Myrtos** » lui même est dérivé du mot « **Muron** », qui signifie parfum, en référence à l'odeur de la plante, « **communis** » signifie commun (Beniston, 1984). Le myrte commun est un arbuste médicinal appartenant à la famille des Myrtacées, qui regroupe un grand nombre de genres et d'espèces allant de 48 à 134 genres et plus de 5650 espèces. (Balbinott *et al.*, 2022). Il pousse dans les zones bioclimatiques allant de semi-humides à humides, sur un sol riche en silice. Les feuilles du Myrte sont persistantes et restent sur l'arbre tout au long de l'année (Badr *et al.*, 2006) .

### 1.2. Dénominations

Selon les pays, le myrte commun peut être désigné par différents noms (Goetz *et al.*, 2012) :

**Arabe** : Arrayhan , A'as , اس,الريحان

**Français** : Myrte commun.

**Bérbère** : Tarihant.

**Anglais** : Common myrtle, Greek myrtle, sweet myrtle.

**Espagnol** : Arrayan, Mirto, Mortella, Mortin.

**Corse** : Morta, Mortula.

### 1.3. Classification botanique

Selon Grêté, (1965) la taxonomie de *M. communis* est la suivante :

**Règne:** *Plantae*.

**Sous-règne:** Eucaryote.

**Embranchement:** Spermaphytæ

**Sous-embranchement:** Angiospermae

**Classe:** Dicotylédones

**Ordre:** Myrtales

**Famille:** Myrtaceae

**Genre:** *Myrtus*

**Espèce:** *Myrtus communis* L.

### 2. Localisation et répartition géographique du *M. communis*

C'est une plante qui se retrouve principalement dans les régions méditerranéennes . Elle est présente dans plusieurs pays, dont certains situés en Macaronésie, tels que les Açores ou Madère. On peut également la trouver dans des zones irano-touaranie, ainsi qu'en Asie, notamment en Afghanistan et au Pakistan (Migliore *et al.*, 2012). Cette répartition géographique assez large montre l'adaptabilité de cette plante à différents climats et conditions géographiques. Le territoire algérien compte des régions côtières ainsi que l'Atlas tellien où l'on peut observer la croissance naturelle de *M. communis* (Quézel et Sana, 1962 ; Baba Aissa, 1991 ; Mimica-Dukic, 2010).

### 3. Description botanique

Le myrte commun est un arbuste persistant qui peut atteindre jusqu'à 3 mètres de hauteur et vivre jusqu'à 300 ans. Ses feuilles ovales lancéolées contiennent de nombreuses cavités sécrétoires qui fournissent l'huile essentielle (Franceschini, 2016). Ces cavités de sécrétion matures ont un diamètre situé entre 30 et 100µm et se forment de manière continue durant le développement de la feuille. Elles apparaissent tôt et leur formation ralentit pendant l'expansion de la feuille (Kalachanis et Psaras, 2005). Les fleurs blanches apparaissent à partir de la mi-juin et les baies noires bleutées atteignent leur pleine maturité en novembre (Nicolas, 2012).

#### 4. Composition biochimique de *M. communis*

##### 4.1. Composés phénoliques

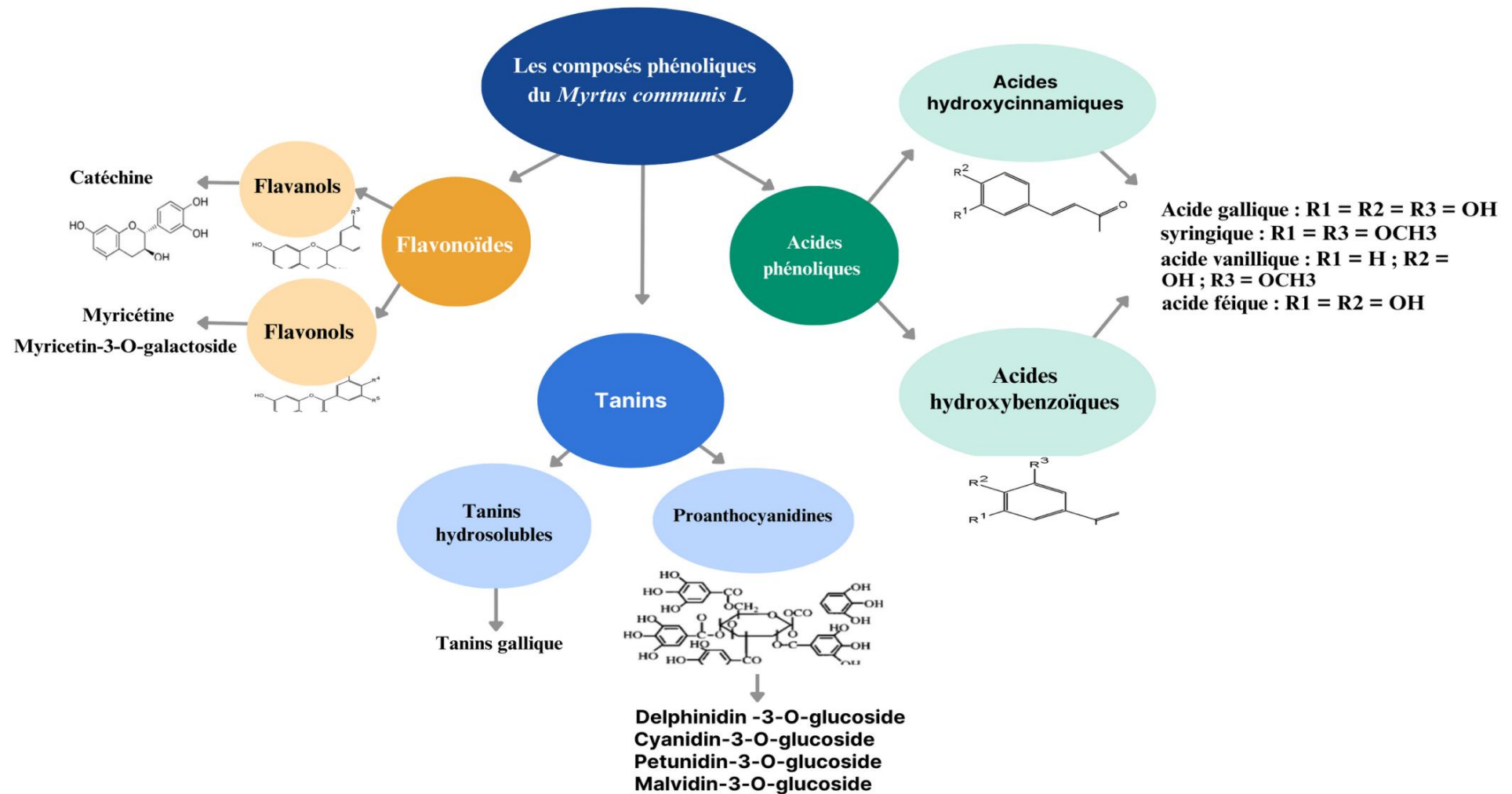
Le myrte commun contient principalement des polyphénols et des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Parmi les huiles essentielles, certaines espèces de *Myrtus* ont été identifiées comme étant particulièrement riches en huiles non volatiles (Satrani *et al.*, 2006), D'autres constituants importants comprennent des acides phénoliques (Romani *et al.*, 1999), des flavonoïdes (Romaniet *et al.*, 1999 ; Joseph *et al.*, 1987), des tanins (Diaz et Abeger, 1986) et des pigments anthocyaniques (Martin *et al.*, 1990). Des études antérieures ont également révélé la présence de tanins et de composés flavonoïdes dans les parties aériennes de *M.communis* (Chryssavgi *et al.*, 2008). Les feuilles et les fleurs présentent une composition comprenant des huiles essentielles, des acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins (Messaoud *et al.*, 2005 ; Aidi Wannas *et al.*, 2010). Les baies sont quant à elles riches en anthocyanes et en tanins (Martin *et al.*, 1990 ; Messaoud *et al.*, 2011). Les composés polyphénoliques présents dans la composition de *M. communis* ont été étudiés et regroupés en trois grandes classes: acides phénoliques, tanins et flavonoïdes (figure 02). Ces informations ont été dérivées de diverses sources de recherche qui comprennent des études telles que celles menées par Montoro *et al.*, (2006) et Tuberoso *et al.*, (2010).

##### 4.2. Composés nutritifs

Le tableau Ci-dessous présente les constituants nutritifs des fruits myrtes.

**Tableau 06** : Composés nutritifs de 100g de fruit frais de *M. communis* (Cevat *et al.*, 2007).

<b>Humidité (%)</b>	<b>74,44</b>
<b>Matière sèche (%)</b>	<b>25.56</b>
<b>Cellulose (%)</b>	<b>17,41</b>
<b>Sucres réducteurs (%)</b>	<b>8,64</b>
<b>Tanins (%)</b>	<b>0.0761</b>
<b>Huile végétale (%)</b>	<b>2,37</b>
<b>Huile essentielle (%)</b>	<b>0,01</b>
<b>Protéines (%)</b>	<b>4.17</b>
<b>Extraits solubles dans l'eau (%)</b>	<b>52,94</b>
<b>Cendres (%)</b>	<b>0,72</b>
<b>Acidité (% , malique)</b>	<b>0,14</b>
<b>Valeur énergétique Kcal/g</b>	<b>11.21</b>



**Figure 02 :** Les principaux composants polyphénoliques du *M. communis* (Aleksic et Knezevic, 2014) et structures chimiques (Heim *et al.*, 2002).

### 4.3. Huiles essentielles

#### 4.3.1. Définition

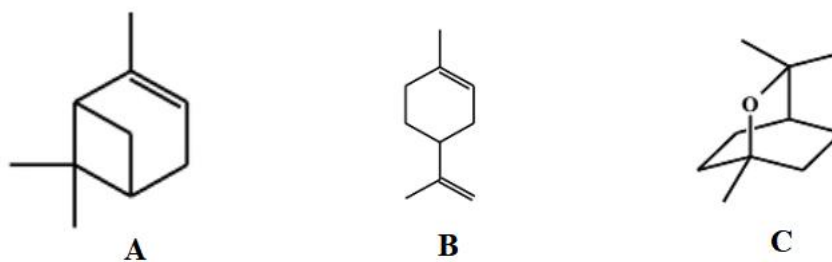
Il existe plusieurs expressions proposées pour définir « huile essentielle », mais nous en avons retenue trois dont nous estimons répondre à notre thématique.

Selon les normes établies par l'Organisation Internationale de Normalisation (**ISO, 9235**) ainsi que par l'Association de Normalisation Française (**AFNOR, 1987**), une huile essentielle est « un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec » (**AFNOR, 1987 ; ISO/DIS., 1997**). Selon **Lardry et Haberkorn, (2007)**, une huile essentielle est une substance liquide, odorante, volatile et de consistance huileuse, contenues dans les plantes, offrant une forte concentration en principes actifs. Pour **Kalembe et Kunicka, (2003)**, Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolées des plantes par hydrodistillation ou par expression mécanique.

#### 4.4. Principaux constituants des HEs de *M. communis*

Des recherches ont été entreprises pour étudier la composition de l'huile essentielle de *M. communis*. Les études bibliographiques liées à cette huile essentielle seront présentées en premier lieu. Ensuite, une synthèse bibliographique est réalisée pour explorer les activités biologiques de cette huile essentielle.

Plusieurs études ont été menées sur la composition chimique de l'huile essentielle de *M. communis* et ont été répertoriées par (**Chalchat et al., 1998 ; Pereira et al., 2009 ; Toudert et al., 2014**). Les principaux composants des huiles essentielles de feuilles de myrte sont le 1,8-cinéole (**Figure 03-C**), l' $\alpha$ -pinène (**Figure 03-A**), le limonène (**Figure 03-B**), le linalol et, occasionnellement, l'acétate de myrtényle.



**Figure 03** : Représentation de  $\alpha$ -pinène (A), limonène (B), cinéol (C).



les huiles essentielles de différentes origines ont été classées en deux groupes en fonction de leur teneur en  $\alpha$ -pinène: supérieure à 50% (Corse et Tunisie) ou inférieure à 35% (Maroc, Liban, Yougoslavie) (**Chalchat *et al.*, 1998**). Par ailleurs, une classification basée sur la présence ou l'absence appréciable d'acétate de myrtényle a été proposée par le laboratoire «Chimie et Biomasse» de l'Université de Corse, qui distingue plusieurs compositions :

Les huiles essentielles contenant une quantité élevée d'acétate de myrtényle sont originaires d'Espagne (**Boelens, 1991**), du Portugal (**Pereira *et al.*, 2009**) et de l'île grecque de Zakynthos (**Gardeli *et al.*, 2008**).

Les huiles essentielles qui ne contiennent pas d'acétate de myrtényle se distinguent par la présence remarquable d' $\alpha$ -pinène et de 1,8-cinéole, prélevés essentiellement de Corse (**Bradesi *et al.*, 1997**) et de Sardaigne (**Tuberoso *et al.*, 2006**). D'autres huiles essentielles sont caractérisées par une quantité notable de 1,8-cinéole, d' $\alpha$ -pinène et de limonène, obtenus à partir d'Italie continentale (**Flamini *et al.*, 2004**), de Sardaigne (**Rasooli *et al.*, 2002**), et d'Iran (**Weyerstahl *et al.*, 1994**). Les composants majeurs de l'huile essentielle du myrte d'Algérie ont été décrits dans trois publications différentes. Dans un échantillon provenant du centre algérien, le 1,8-cinéole (15,8%) et le limonène (8,7%) constituent les principaux composés tandis que l' $\alpha$ -pinène est présent en faibles quantités à 2,9% (**Moghrani *et al.*, 2008**). Dans un autre échantillon du centre algérien, l' $\alpha$ -pinène est présent en quantités plus élevées à 18,9%, suivi du 1,8-cinéole(26,2%) et du limonène (11,1% ) (**Toudert *et al.*, 2014**). Cependant, un échantillon atypique également provenant du centre algérien (Tizi Ozou) a été décrit, où les composants majeurs sont le 1,8-cinéole (46,98%) et le cis-géranol ( 25,18%) (**Djenane *et al.*, 2011**).

Le **tableau 07** ci-dessous présente les pourcentages d'abondance des principaux composants d'huiles essentielles de myrte provenant de différents pays de la région méditerranéenne.

**Tableau 07** : Principaux composants d'huile essentielle de myrte de divers pays la méditerranée (Franceschini, 2016).

COMPOSANTS	CORSE 27 ÉCHTLLS		ALGERIE 27ÉCHTLLS		MAROC 4 ÉCHTLLS		SARDAIGNE 2 ÉCHTLLS		PORTUGAL 2 ÉCHTLLS		TUNISIE 1ÉCHTLL
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	
COMPOSANTS											
ISOBUTYL ISOBUTYRATE	0.1	1.2	0.1	1.8	0.2	0.4	0.6	0.7	0.1	0.1	0.4
α -PINÈNE	42.8	68.0	40.6	64.0	5.7	25.7	54.0	60.7	43.5	43.7	52.2
ISOBUTYL2- METHYLBUTYRATE	0.2	0.9	0.1	2.2	0.2	0.6	0.2	1.2	0.1	0.4	0.4
2 METHYLBUTYL ISOBUTYRATE	0.1	0.5	0.1	1.0	0.1	0.2	0.1	0.5	0.1	0.1	0.2
LIMONENE	3.5	9.7	2.9	13	9.5	11.4	5.4	7.5	15	15.5	8.4
1.8 -CINÉOLE	9.8	31.9	10.9	29.1	29.7	32.4	18.3	20.6	22.9	25.3	21.9
LINALOOL	0.3	5.3	1.3	4.5	1.3	2.7	0.3	1.4	2.2	2.7	2.8
1- METHYLBUTYL 2- METHYLBUTYRATE	0.1	1.4	0.1	1.5	0.2	0.5	0.2	1.0	0.3	0.7	0.4
α -TERPINEOL	0.8	3.0	2.5	3.9	2.9	5.0	2.0	2.7	1.5	1.8	1.7
MYRTENYL ACETATE	0.0	0.0	0.0	0.0	14.9	33	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
GERANYL ACETATE	0.8	4.8	1.1	3.7	2.0	3.8	1.7	1.8	0.9	1.6	2.1
METHYL EUGENOL	0.4	1.3	0.7	2.1	0.7	1.6	0.9	1.2	0.7	2.1	0.5
(E)-B-CARYOPHYLLENE	0.1	1.9	0.3	0.9	0.1	0.3	0.2	1.0	0.4	0.4	0.7
DIONE	0.2	1.3	0.5	2.3	0.2	0.6	1.0	1.2	0.1	0.1	0.1

## 5. Activités biologiques de l'huile essentielle de *M. communis*

### 5.1. Activité antibactérienne

Plusieurs études ont été menées pour explorer les propriétés antibactériennes des huiles essentielles de myrte commun. Les recherches ont porté sur l'efficacité de l'huile extraite des feuilles de myrte contre différentes souches bactériennes. Les résultats ont révélé une variation de l'activité antibactérienne en fonction de la composition chimique de l'huile, des méthodes utilisées et des spécificités des bactéries étudiées.

D'après plusieurs études, l'huile essentielle de myrte possède des propriétés antibactériennes efficaces contre différents types de bactéries. En particulier, Les bactéries Gram-positives se sont avérées plus sensibles que les bactéries Gram-négatives (Owlia *et al.*,

2009 ; De Laurentis *et al.*, 2005). Des exemples de l'activité antibactérienne de l'huile de myrte ont été recensés à partir de différentes sources (**tableau 08**).

Diverses études ont mesuré la capacité antibactérienne qui a présenté une variété de niveaux d'efficacité sur les bactéries à Gram positif et négatif. A titre d'exemple, voici quelques résultats obtenus dans le **tableau 08**.

Sept échantillons d'huile essentielle de myrte récoltés dans différentes régions d'Italie ont été testés pour leur activité antibactérienne. Leur composition chimique varie en fonction de la région de récolte, avec des teneurs variables en 1,8-cinéole et en acétate de myrtényle. Trois souches bactériennes ont montré une sensibilité accrue à ces huiles essentielles, à savoir *Bacillus subtilis* 6633, *Staphylococcus aureus* 25923 et *Staphylococcus aureus* 29213, avec des concentrations minimales inhibitrices comprises entre 1,5 et 5,8 mg/mL (**De Laurentis *et al.*, 2005**).

Des essais ont été effectués par **Djenane *et al.*, (2011)** sur l'huile essentielle extraite des feuilles du myrte commun de Tizi Ouzou (1,8-cinéole 46.98 %, Cis-geranio 25.18%,  $\alpha$  terpinéol 5.16%, Linalylacetate 5.13%) pour tester son efficacité contre diverses souches bactériennes. Ils ont été démontrés que la souche bactérienne *S. aureus* [CMI= 0,12% (v/v), soit 1,2  $\mu$ l/mL] était plus sensible à l'huile essentielle *M.communis* que *E. coli* [CMI= 0,22% (v/v), soit 2,2  $\mu$ l/mL] (**Djenane *et al.*, 2011**). L'huile essentielle extraite des feuilles provenant de Tizi Ouzou a démontré une plus grande sensibilité envers *S. aureus* plutôt qu'envers *E. coli*, avec des valeurs respectives de CMI(s) évaluées à 0,12 % et 0,22 % (v/v), soit 1,2 et 2,2  $\mu$ l/mL (**Djenane *et al.*, 2011**).

Tableau 08 : Concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle de *M. communis* de divers pays.

Parties de la plante/Pays d'origine	Bactéries	C.M.I	Références
Les feuilles de <i>M. Communis</i> (Salerno,Italie)	<i>S.aureus</i> DMS 25923	5 mg/ml	Lucia Caputo <i>et al.</i> , (2022)
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 50071	3 mg/ml	
	<i>P. carotovorum</i> DSM 102074	4 mg/ml	
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	3 mg/ml	
	<i>E. coli</i> DSM 8579	6 mg/ml	
Les feuilles de <i>M.communis</i> (Nord du Portugal)	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC679	31.25 µL/ml	Cristina Saraiva <i>et al.</i> , (2021)
Les feuilles de <i>M. communis</i> (Ouazzane,Maroc)	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.32 mg/ml	El Hartiti <i>et al.</i> , (2020)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.64 mg/ml	
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2.64 mg/m	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16.6 mg/ml	
Les feuilles de <i>M. communis</i> (Blida,Algerie)	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.125 mg/ml	M. Touaibia, (2015)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.25 mg/ml	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0.563 mg/ml	
	<i>Bacillus subtilis</i>	9.0 mg/ml	
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	18.0 mg/ml	
	<i>Escherichia coli</i>	1.125 mg/ml	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	4.5 mg/ml	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.5 mg/ml	
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	18 mg/ml		
Les feuilles de <i>M. communis</i> (Jijel ,Algerie)	<i>Escherichia coli</i>	100 µg/ml	Boudjada et Boufelgha, (2015)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100 µg/ml	
Les parties aériennes de <i>M.communis</i> (Le nord du Maroc)	<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 976	8 µL/ml	Cherrat, L <i>et al.</i> , (2014)
	<i>Listeria monocytogenes</i> EGD-e	2 µL/ml	
	<i>Listeria monocytogenes</i> CECT4031	1 µL/ml	
	<i>Enterococcus faecium</i> CECT 493	4 µL/ml	
	<i>Bacillus subtilis</i> CECT 4071	14 µL/ml	

**C.M.I:** Concentration minimale inhibitrice; **HE:** huile essentielle.

## 5.2. Activité antioxydante

Les plantes telles que le myrte, qui sont à la fois aromatiques et médicinales, renferment des antioxydants naturels grâce à leur richesse en métabolites secondaires tels que les phénylpropanoïdes et les huiles essentielles. Depuis longtemps, ces huiles et extraits végétaux ont été utilisés pour la conservation des aliments, les médicaments, les thérapies alternatives et naturelles. **(Burt, 2004)** a souligné leur importance dans ces domaines.

Plusieurs recherches ont identifié des propriétés antioxydantes dans divers extraits et composants issus des feuilles de myrte **(Romani et al., 2004)**. Par ailleurs, l'étude de **Tuberoso et al., (2010)** a établi un lien étroit entre la concentration de polyphénols dans les myrtes sauvages et leur capacité à lutter contre les radicaux libres et les effets néfastes de l'oxydation. D'après les recherches menées par **Romani et al., (2004)**, des antioxydants connus tels que les tanins et tocophérols ont été identifiés dans les extraits de *M.communis*. Cette plante présente une activité antioxydante notable. Dans une étude menée par **Montoro et al., (2006)**, les anthocyanes et les flavonols extraits des baies de *M.communis*. ont été identifiés comme les principaux responsables de l'activité antioxydante de cette plante. Les oligomères de proanthocyanidines sont principalement efficaces dans le traitement des maladies vasculaires. Ils peuvent capturer les peroxydes lipidiques et les radicaux libres et inhiber de manière non compétitive la xanthine oxydase, qui est une source importante de radicaux libres **(Fine, 2000)**.

## 5.3. Activité antifongique

Le nombre d'études portant sur l'activité antifongique de l'huile essentielle de *M. communis* est plus limité que celles axées sur son activité antibactérienne. Cependant, des recherches ont été menées sur son efficacité contre diverses souches de *Candida sp.* et d'*Aspergillus sp.* L'huile essentielle de myrte d'Iran, avec des teneurs appréciables en 1,8-cinéole (17,9%), d' $\alpha$ -pinène (29,1%), de limonène (21,5%) et de linalol (10,4%), a démontré une meilleure sensibilité (CML = 4 $\mu$ L/mL) contre *Candida albicans* que contre d'autres souches **(Yadegarinia et al., 2006)**. L'huile essentielle de myrte d'Iran, riche en 1,8-cinéole (36,1%) et en  $\alpha$ -pinène (22,5%), a un effet synergique avec l'amphotéricine B, un antifongique synthétique, contre les isolats de *Candida albicans* et les champignons filamenteux d'*Aspergillus*. Cette combinaison a démontré une activité antifongique supérieure **(Mahboubi et Ghazian, 2010)**.

Une étude ultérieure a révélé que l'huile essentielle de myrte d'Iran, composée à 39,2% d' $\alpha$ -pinène, à 22,0% de 1,8-cinéole et à 18,4% de linalol, était capable d'inhiber la croissance de

sept espèces de *Candida*, avec des valeurs de CMI allant de 0,03 à 8 µL/mL, ainsi que deux espèces d'*Aspergillus* à des concentrations allant de 4 à 16 µL/mL (Zomorodian *et al.*, 2013).

## 6. Utilisations de *M. communis*

### 6.1. Utilisations traditionnelles

Le myrte commun est bien plus qu'une plante au parfum agréable. En effet, il possède des propriétés préventives et curatives remarquables, souvent méconnues du grand public. Utilisé depuis longtemps dans la pharmacopée traditionnelle méditerranéenne, le myrte est notamment réputé pour ses vertus toniques et stimulantes. Il s'agit d'un arbuste précieux qui mérite d'être davantage connu et reconnu pour ses bienfaits sur la santé. Bien que son parfum soit agréable, le myrte est peu utilisé comme épice à grande échelle, car son goût est très fort, amer et désagréable. Il est donc limité à la région d'origine, telle que l'Italie, pour une utilisation culinaire (Gortzi *et al.*, 2008).

En Italie, en particulier en Sardaigne, les baies et les feuilles servent à la préparation de liqueurs populaires (Messaoud *et al.*, 2012). De plus, des parties de la plante sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour ajouter une saveur particulière à la viande et aux sauces (Chalchat *et al.*, 1998). En Turquie, la feuille de myrte est connue pour ses propriétés médicinales. Elle a été utilisée traditionnellement pour traiter les troubles pulmonaires (Clark, 1996). Mais aussi pour atténuer les douleurs et la paralysie par application cutanée. L'ingestion des feuilles est recommandée pour réguler le taux de sucre dans le sang des diabétiques. Les affections de la prostate peuvent également être soignées avec une décoction de feuilles de myrte. Les fruits et les feuilles du myrte sont tous deux utilisés pour leurs propriétés antiseptiques depuis des siècles (Baytop, 1999).

En Algérie, la poudre de feuilles de myrte est employée pour la fabrication d'un cérat utile pour soigner le panaris ainsi que les maladies des angles. Les fruits sont également utilisés pour traiter différents problèmes de santé tels que les hémorragies, les maladies infectieuses y compris la diarrhée et la dysenterie. Par ailleurs, les fleurs de myrte sont utilisées pour traiter le diabète et l'hypertension, selon les études de (Kanoun, 2011) et de (Mahmoudi, 2014). Les baies de myrte sont largement utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour leurs vertus bienfaisantes sur la santé. Elles sont particulièrement connues pour leurs propriétés antiseptiques, astringentes, carminatives, stimulantes des cheveux, anti-douleur, cardiotoniques, diurétiques, anti-inflammatoires, digestives, protectrices des reins, antidotes, hémostatiques, tonifiantes pour le cerveau et antidiabétiques (Sumbul *et al.*, 2011).

## 6.2. Utilisation dans la conservation des aliments

Il est intéressant de noter que l'étude menée par **Smeti *et al.*, (2021)** a également montré que l'administration alimentaire d'huile essentielle de myrte commun à des chevreaux n'a pas eu d'effet négatif sur leurs performances de croissance, les caractéristiques des carcasses et les qualités de la viande. Cette étude a également suggéré que l'utilisation d'huile essentielle de myrte commun comme additif alimentaire peut améliorer la qualité de la viande de chevreau en augmentant sa teneur en polyphénols et en protégeant contre la décoloration et l'oxydation. Des recherches menées par **Saraiva *et al.*, (2021)** ont révélé que l'huile essentielle de myrte commun pouvait empêcher la croissance de *L. monocytogenes* dans les produits laitiers. Étant donné que les produits laitiers doivent être exempts de *L. monocytogenes* avant de quitter le contrôle immédiat de l'opérateur alimentaire, l'utilisation de cette huile essentielle peut aider à contrôler la croissance éventuelle de cette bactérie en cas de contamination croisée tout au long de la chaîne alimentaire.

**Tibaoui *et al.*, (2023)**, ont mené une étude sur l'ajout de distillat de feuilles de myrte (MDL) dans l'alimentation des brebis, et les résultats ont montré que cela a amélioré la couleur, l'arrière-goût et la jutosité de la viande. De plus, l'ajout de poudre de myrte a amélioré l'activité antioxydante de la viande et a retardé l'oxydation lipidique jusqu'à 6 jours pendant le stockage réfrigéré. Les échantillons traités avec la poudre de myrte avaient également une teneur plus élevée en composés phénoliques et en  $\alpha$ -tocophérol que les échantillons témoins. Cependant, la qualité microbiologique n'était sûre que jusqu'à 4 jours de stockage. La formulation de viande avec de la poudre de MDL n'a pas eu d'effet sur la croissance microbienne. Les extraits naturels de myrte pourraient être utilisés comme conservateurs dans la viande pour prolonger sa durée de conservation.

# ***PARTIE EXPERIMENTALE***

---



# Chapitre III

## *Matériel et Méthodes*

---

L'objectif de cette étude est de prolonger la durée de vie (shelf-life) du lait réfrigéré grâce à l'ajout de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. à différentes concentrations. La méthode sera considérée efficace si l'huile essentielle de myrte ralentit la croissance bactérienne dans le lait, par rapport au lait témoin (non traité). Les résultats de l'expérience permettront de déterminer si l'utilisation de l'huile essentielle de myrte commun est une stratégie viable pour prévenir la croissance bactérienne dans le lait, et si elle peut être utilisée dans des applications industrielles de production laitière.

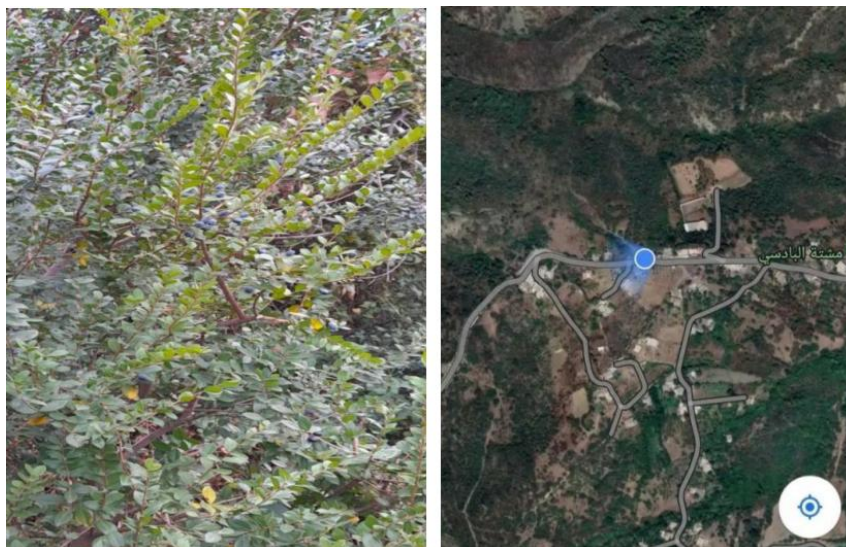
## 1. Lieux des expérimentations

La première partie expérimentale qui consistait à extraire l'huile essentielle de *M. communis* par hydrodistillation de type Clevenger, a été effectuée au sein du laboratoire de recherche de l'université Ferhat Abbas-Sétif 1. L'activité antibactérienne, les mesures des paramètres physique du lait et le suivie de la cinétique de croissance microbienne ont été entrepris au niveau du laboratoire du centre universitaire Abd el hafid Boussouf-Mila.

## 2. Matériel végétal

### 2.1. Provenance du matériel végétal

Notre huile essentielle a été obtenue à partir de la partie aérienne (feuilles) du myrte commun sauvage (*Myrtus communis* L.), connue localement sous le nom «**Hilmouche**» et également appelé «**Rihane**» en arabe (**figure 04**).



**Figure 04** : Photographie de *M. communis* récolté dans la région de Mila à Mechtat El Badsî.

## 2.2. Région de la récolte

Des échantillons de feuilles de *M. communis* ont été récoltés le 16 décembre 2022, dans la région de « Mechtat El Badsî » de la commune de Hamala, dans la wilaya de Mila (Nord-Est algérien). Cette région est connue pour être une source importante de cette plante. Les coordonnées géographiques de cette région sont indiquées dans le tableau ci-dessous (**Tableau 09**).

**Tableau 09** : Coordonnées géographiques du Mechtat El Badsî-Hamala- Wilaya de Mila.

Région	Localisation	Altitude	Latitude	Longitude
Mechtât El Badsî -Hamala-	Wilaya de Mila	594 m	36.6090141	6.2909442

## 2.3. Séchage

Les feuilles de Myrte Commun sont soigneusement nettoyées pour éliminer toute trace de poussière. Ensuite, elles sont séchées à l'abri du soleil sur un tissu propre, à l'air libre, sans être exposées à l'humidité. Cette méthode de séchage permet de préserver les composants actifs de la plante, en évitant tout traitement thermique qui risquerait de les altérer (**Figure 05**).



**Figure 05** : Séchage des feuilles de *M. communis*.

## 2.4. Broyage et stockage

Une fois le séchage terminé, il est procédé au broyage des feuilles à l'aide d'un broyeur électrique. Les fractions récupérées sont conditionnées dans des bocaux en verre, à l'abri de la lumière et de l'humidité, jusqu'à leur utilisation ultérieure (**Figure 06**).



Figure 06 : Stockage du matériel végétal.

- La **figure (07)** illustre la méthode complète de séchage et de stockage des feuilles.

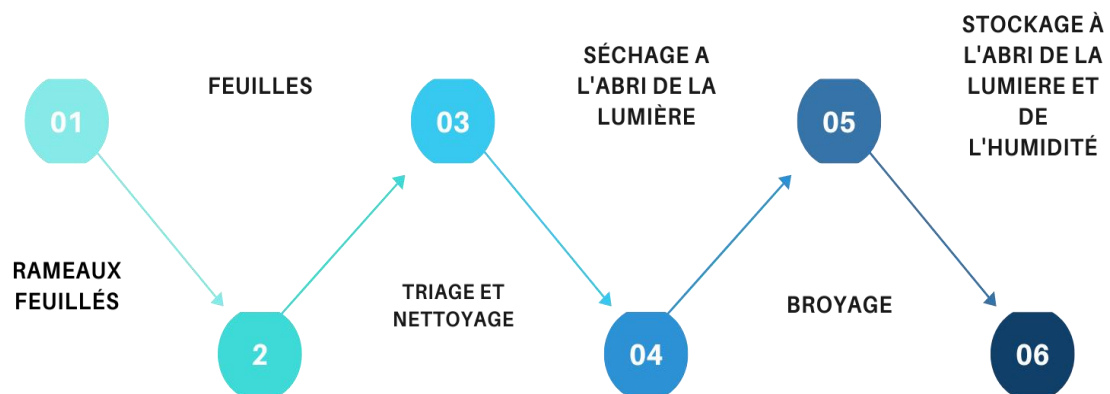


Figure 07 : Méthodologie de séchage et du Stockage des feuilles de *M. communis*.

### 3. Procédés d'extraction et conservation de l'huile essentielle

#### 3.1. Extraction par hydrodistillation de type Clevenger

##### 3.1.1. Principe

L'huile essentielle est obtenue à partir de feuilles de myrte sauvage par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928).

Pour extraire les molécules odorantes de feuilles de myrte commun, une quantité de 1133,4g de matière végétale est introduite dans un ballon en verre contenant de l'eau distillée à mi-hauteur pour éviter les débordements pendant l'ébullition. Le mélange est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon, ce qui provoque l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qu'elles contiennent (**figure 08**). La vapeur d'eau ainsi générée entraîne ces molécules odorantes vers un réfrigérant, où elles se condensent en gouttelettes qui s'accumulent dans un tube (réservoir de récupération de l'huile). La distillation a été effectuée par ébullition pendant trois heures.



**Figure 08** : Photographie originale du montage d'hydrodistillation de type Clevenger.

### 3.1.2. Séparation de l'huile obtenue

Les gouttelettes ainsi produites se séparent en deux couches, en raison de leur différence de densité, : une phase aqueuse (appelée hydrolat), qui se situe en dessous, et une phase organique surnageante (appelée huile essentielle) (**Figure 09**).



**Figure 09** : Huile essentielle de *M. communis* obtenue après l'extraction.

### 3.2. Conservation de l'HE de *M. communis*

Afin de préserver les propriétés des huiles essentielles, il est important de les protéger des facteurs oxydants, volatils et inflammables. Pour ce faire, il est recommandé de les conserver dans un tube en verre de couleur sombre qui protège contre les rayons ultraviolets du soleil (**figure 10**). Ce tube doit être fermé hermétiquement pour éviter la perte des molécules volatiles et prévenir toute oxydation des composés. Enfin, il est recommandé de stocker ces huiles à une température de 4°C jusqu'à leur utilisation.



**Figure 10** : Tubes de stockage d'huile essentielle.



### 3.3. Rendement de l'extraction

Le rendement en huile essentielle est calculé en divisant la masse de l'huile essentielle obtenue par la masse de la matière végétale sèche traitée (Carré, 1953). Le rendement est exprimé en pourcentage.

$$R = m/m_0 \times 100$$

**R** : rendement en H.E exprimée en pourcentage.

**m** : masse en gramme de l'H.E.

**m<sub>0</sub>** : masse en gramme de la matière végétale sèche.

### 3.4. Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles sont des caractéristiques physiques et sensorielles qui peuvent être perçues par les sens humains, comme l'odeur, l'aspect et la couleur. La qualité d'une huile essentielle peut être évaluée en fonction de la pureté, de la fraîcheur et de la concentration de ses composants actifs, qui peuvent être reflétées dans ses propriétés organoleptiques.

## 4. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle

Cette partie a pour but de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de myrte commun vis - a vis les souches bactériennes utilisées par la méthode de diffusion de l'huile sur gélose (Dahiya et Purkayastha, 2012).

### 4.1. Origine des bactéries et préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été fournies par le laboratoire de recherche en microbiologie appliquée de l'Université Ferhat Abbas à Sétif 1.

#### 4.1.1. Souches bactériennes testées

Pour l'étude de l'activité antibactérienne, des souches bactériennes pathogènes provenant de l'ATCC (American Type Culture Collection) ont été sélectionnées. Dans cette étude, quatre souches bactériennes ont été utilisées pour tester l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de myrte commun, dont deux souches Gram-négatives et deux souches Gram-positives. Les souches bactériennes testées sont présentées dans le tableau ci-dessous (**tableau 10**).

**Tableau 10** : Souches bactériennes utilisées dans la présente expérimentation.

Bacteries	Micro-organismes	Référence
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>		ATCC 25923
<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram+	ATCC 29212

#### 4.2. Conservation des souches bactériennes

La conservation des souches bactériennes dans des tubes inclinés implique la préparation d'une suspension bactérienne à partir d'une culture fraîche, suivie de l'inoculation d'une petite quantité de la suspension sur la surface de la gélose nutritive dans le tube incliné. Cela permet la formation d'une pellicule microbienne visible après une période d'incubation de 24 à 48 heures. Les tubes inclinés sont ensuite stockés dans un réfrigérateur à une température de 4°C (**Figure 11**).

**Figure 11** : Conservation des souches bactériennes à 4°C.



## 5. Stérilisation des instruments utilisés

Les Eppendorf, les flacons en verre ,une pipette graduée, les tubes à vis, les embouts et les disques de papier enveloppés d'aluminium ont été stérilisés dans un autoclave à une température de 121 ° C pendant 15 minutes (**figure 12**).



**Figure 12** : Stérilisation par autoclave.

## 6. Milieux de culture

### 6.1. Préparation de l'eau physiologique

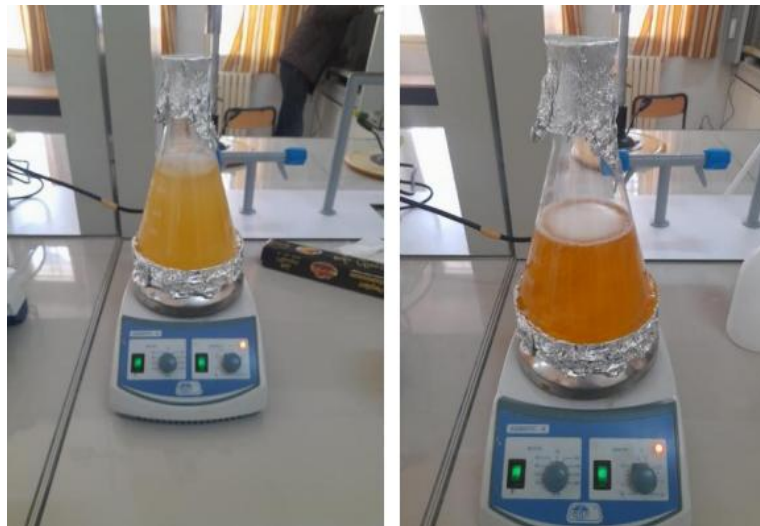
Pour la préparation de l'eau physiologique de concentration 0.9 %,il est nécessaire de dissoudre 9g de NaCl dans 1000 ml de l'eau distillée. Après que tout le solide se dissout, Répartir à raison de 9 ml par tube puis stériliser à l'autoclave à une température de 121°C pendant 15 minutes.



**Figure 13** : Préparation de l'eau physiologique.

## 6.2. Gélose nutritive

Pour préparer la gélose nutritive, il est important de suivre les instructions du fabricant avec précision. Tout d'abord, il faut suspendre 28g de poudre déshydratée de gélose nutritive dans 1000ml d'eau distillée. Ensuite, il faut chauffer et agiter le mélange jusqu'à ce que le solide soit complètement dissous. Il est important de bien agiter le mélange pour éviter la formation de grumeaux. Une fois que la gélose nutritive est complètement dissoute, elle doit être répartie dans des flacons propres et secs. Avant de procéder à la stérilisation, il est important de s'assurer que les flacons sont bien fermés et que le milieu de culture est à une température convenable. Pour stériliser la gélose nutritive, il est recommandé d'utiliser un autoclave à une température de 121°C pendant 15 minutes.



**Figure 14 :** Préparation de la gélose nutritive.

## 6.3. Gélose Mueller Hinton

Pour préparer de la gélose Mueller Hinton, il est important de suivre les instructions du fabricant avec précision. Tout d'abord, il faut suspendre 38g de poudre déshydratée de gélose Mueller Hinton dans 1000 ml d'eau distillée. Ensuite, il faut chauffer et agiter le mélange jusqu'à ce que le solide soit complètement dissous. Il est important de bien agiter le mélange pour éviter la formation de grumeaux. Une fois que la gélose Mueller Hinton est complètement dissoute, elle doit être répartie dans des flacons propres et secs. Avant de procéder à la stérilisation, il est important de s'assurer que les flacons sont bien fermés et que le milieu de culture est à une température convenable. Pour stériliser la gélose Mueller Hinton, il est recommandé d'utiliser un autoclave à une température de 121°C pendant 15 minutes.



Figure 15 : Préparation de la gélose Mueller Hinton.

### 7. Préparation des dilutions de l'huile essentielle

L'huile essentielle de myrte a été dissoute dans du DMSO pour préparer diverses concentrations allant de 40mg/ml à 1,25 mg/ml. sachant que la concentration de la solution mère est connue pour être de 100 mg/ml. Les différentes concentrations sont distribuées dans des Eppendorf stériles codés (A-B-C- D- E- F) (figure 16).

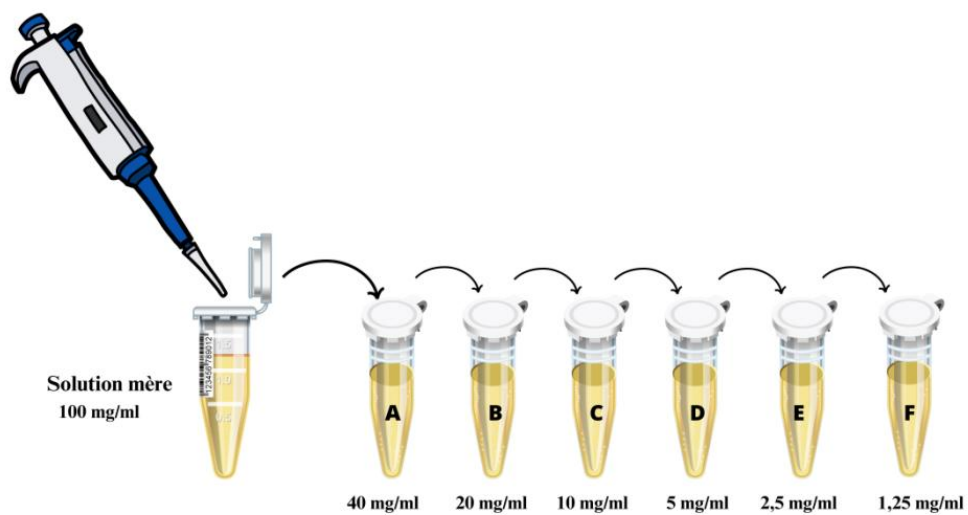
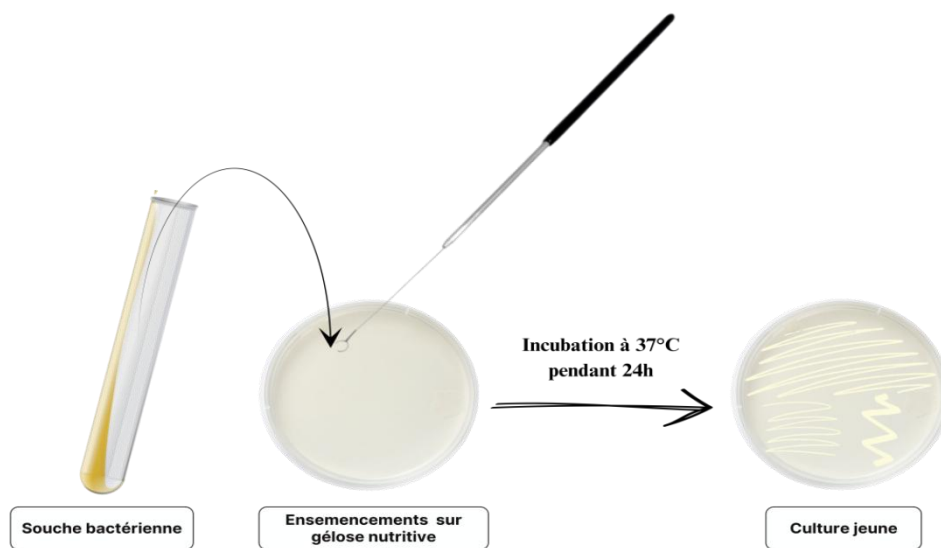


Figure 16 : Gamme de dilutions de l'huile essentielle de myrte.

## 8. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes utilisées sont ensemencées sur gélose nutritive solidifiés dans des boîtes de Pétri, et incubées pendant 24h à une température de 37°C pour avoir des culture jeune (**figure 17**). Après 24 heures d'incubation, des colonies bien isolées ont été raclées avec une pipette Pasteur et déchargées directement dans 9 ml de l'eau physiologique stérile, puis la suspension bactérienne a été bien agitée pour obtenir une densité optique de 0,08 à 0,10 à 625 nm, qui correspond à environ  $10^8$  UFC/ml.



**Figure 17 :** Repiquage des bactéries.

## 9. Aromatogramme

Pour réaliser un test d'activité antibactérienne de l'huile essentielle, il est nécessaire de suivre une procédure précise. Tout d'abord, il faut ensemencer l'inoculum bactérien à la surface d'une gélose Mueller-Hinton solidifiée en utilisant un écouvillon stérile. Ensuite, il faut placer délicatement les disques en papier Wattman stériles de 6mm de diamètre sur la surface de la gélose en utilisant une pince stérile (**Figure 18**). Une fois que les disques sont en place, il est nécessaire de déposer 10µl de l'huile essentielle sur chaque disque en son centre à l'aide d'une pipette stérilisée. Il est important de bien doser la quantité d'huile essentielle pour éviter toute contamination ou effet indésirable sur les bactéries. Ensuite, il faut fermer les boîtes de Pétri et laisser les disques reposer pendant 20 minutes. Cette période permet à l'huile essentielle de s'imprégner dans le papier filtre et de diffuser dans la gélose. Il est important de s'assurer que les boîtes de Pétri sont fermées pour éviter toute contamination extérieure. Une fois que les disques ont été imprégnés d'huile essentielle, il est possible de répéter les étapes ci-dessus pour chaque

disque utilisé. Enfin, les boîtes de Pétri sont retournées et incubées dans une étuve contrôlée à 37°C pendant 24 heures.

Les disques de DMSO (témoin négatif) et les disques d'antibiotique (témoin positif) ont été placés dans une même boîte de Pétri.



Figure 18 : Dépôt des disques sur la gélose Mueller-Hinton.

## 10. Lecture d'aromatogramme

Le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est mesuré avec un pied à coulisse. Chaque zone d'inhibition indique le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle utilisée (figure 19).

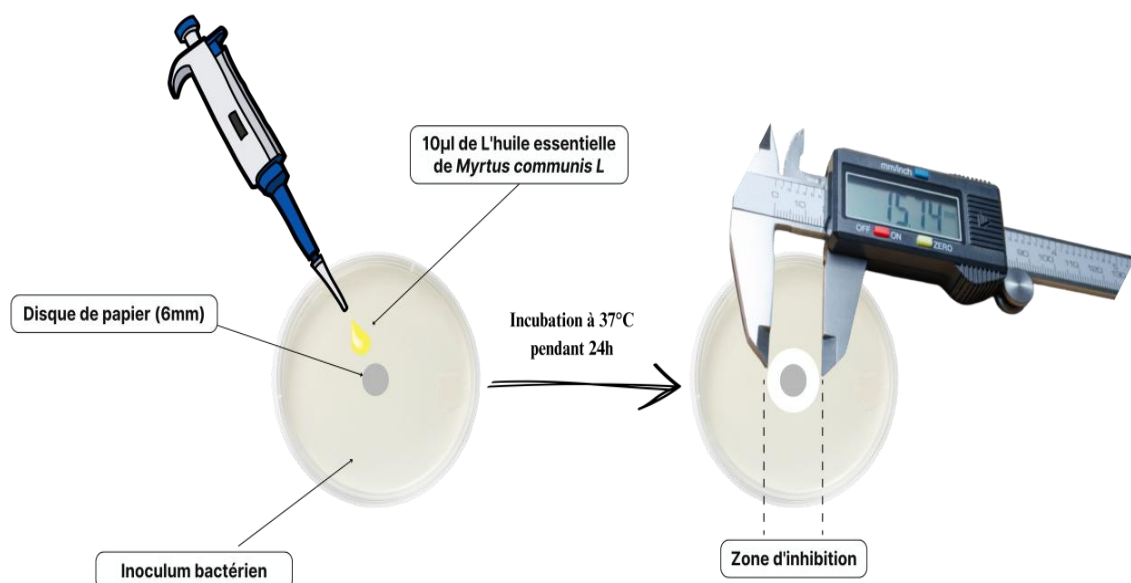
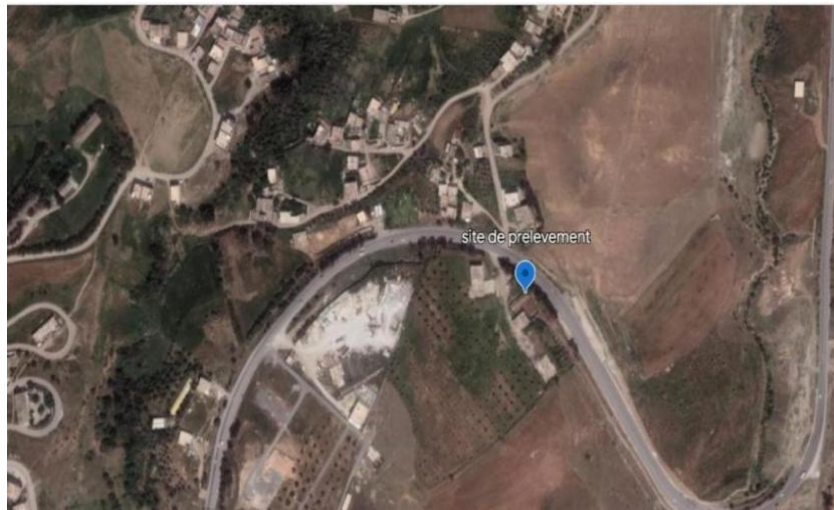


Figure 19 : Méthode d'aromatogramme.



## 11. Échantillonnage du lait

Lors de cette étude, des échantillons de lait cru ont été prélevés sur une exploitation privée située dans la commune de Mila à Lemkalfa, à une altitude de 487 mètres et des coordonnées géographiques de 36.45 de latitude et de 6.26667 de longitude. Cette localisation permet d'obtenir des données météorologiques précises pour mieux comprendre l'impact de l'environnement sur la qualité du lait (**figure 20**).



**Figure 20** : Secteur de prélèvement: Lemkhalfa dans la commune de Mila.

### 11.1. Prélèvement

Avant la traite, les trayons de la vache ont été minutieusement nettoyés pour éviter toute contamination du lait, les premiers jets qui peuvent contenir des impuretés, ont été rejetés et 4 litres de lait ont été collectés à partir des quatre mamelles. Une fois la traite terminée, des échantillons de lait ont été acheminés au laboratoire dans une glacière pour être traités et analysés (**Figure 21**).



**Figure 21** : Prélèvement du lait cru de vache.

### 11.2. Caractéristiques de la vache d'étude

Les caractéristiques de la vache laitière sont représentées dans le **tableau (13)** ci-dessous

**Tableau 11** : Fiche technique de la vache d'étude.

<b>RACE</b>	<b>Montbéliarde</b>
<b>ROBE</b>	<b>Pie rouge</b>
<b>AGE</b>	<b>2 ans</b>
<b>SANTÉ</b>	<b>Suivi régulier par un vétérinaire Vaccination à jour</b>
<b>TRAITE</b>	<b>Deux fois par jour</b>
<b>PRODUCTION LAITIÈRE</b>	<b>13 litres</b>
<b>ALIMENTATION</b>	<b>Alimentation à base de foin et de pâturage Accès à de l'eau propre en permanence Complément alimentaire en granulé</b>

## 12. Suivi de la cinétique de croissance microbienne



**FTAM** : Flore mésophile aérobie totale.

Le 26 mars 2023, des travaux expérimentaux ont été initiés pour étudier la croissance bactérienne de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) dans du lait cru de vache auquel a été ajoutée de l'huile essentielle de myrte commun, à différentes concentrations. Des échantillons ont été prélevés et stockés à une température constante de 4 °C pendant 8 jours, en effectuant des prélèvements à intervalles réguliers de temps (0, 2, 4, 6, 8 jours).

Cette expérience vise à approfondir la compréhension de l'action de l'huile essentielle de myrte en tant qu'agent de conservation naturel pour les produits laitiers, afin de réduire les besoins en conservateurs chimiques.

### 12.1. Ajout d'huile essentielle de *M. communis* au lait cru

Pour préparer les échantillons destinés à une analyse microbiologique du lait, il est important de suivre les étapes suivantes avec minutie. Tout d'abord, il faut stériliser les quatre flacons en verre en veillant à ce qu'ils soient propres et secs. Ensuite, il est recommandé d'agiter soigneusement le bocal de lait cru de vache pour bien mélanger son contenu. Il est ensuite nécessaire d'utiliser une pipette graduée pour verser 100mL de lait cru dans chacun des quatre flacons. À l'aide d'une micropipette chargée d'un embout stérile, il est recommandé d'ajouter respectivement 1; 0,5 et 0,25 gramme d'huile essentielle de myrte commun dans chaque flacon pour obtenir les dilutions de 10 mg/mL; 5 mg/mL ; 2,5 mg/mL. Le quatrième flacon doit rester un témoin sans ajout.

Avant et après l'ajout de lait, il est important de stériliser les cols des flacons en les passant rapidement dans une flamme bleue de bec Bunsen pour éviter toute contamination. Il est également recommandé de refermer rapidement les flacons pour éviter toute contamination extérieure. Enfin, il est important d'étiqueter les flacons pour les identifier et les différencier



(figure 22). Les mêmes étapes doivent être répétées pour préparer les échantillons destinés à l'analyse physique du lait.



Figure 22 : Ajout de l'huile essentielle de myrte au lait cru.

## 12.2. Préparation des dilutions décimales

La procédure consiste à prélever des échantillon de lait dans des flacons, à les diluer dans une solution d'eau physiologique et à réaliser des dilutions successives pour obtenir des échantillons de différentes concentrations allant de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-5}$  (Guiraud et Rosec, 2004 ; Dellarras, 2007). Il est nécessaire de travailler dans une zone stérile pour éviter toute contamination (Figure 23).

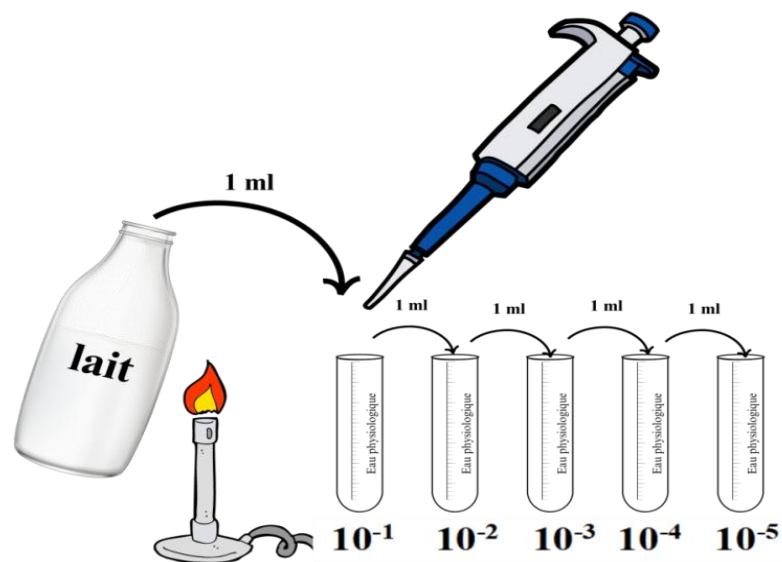
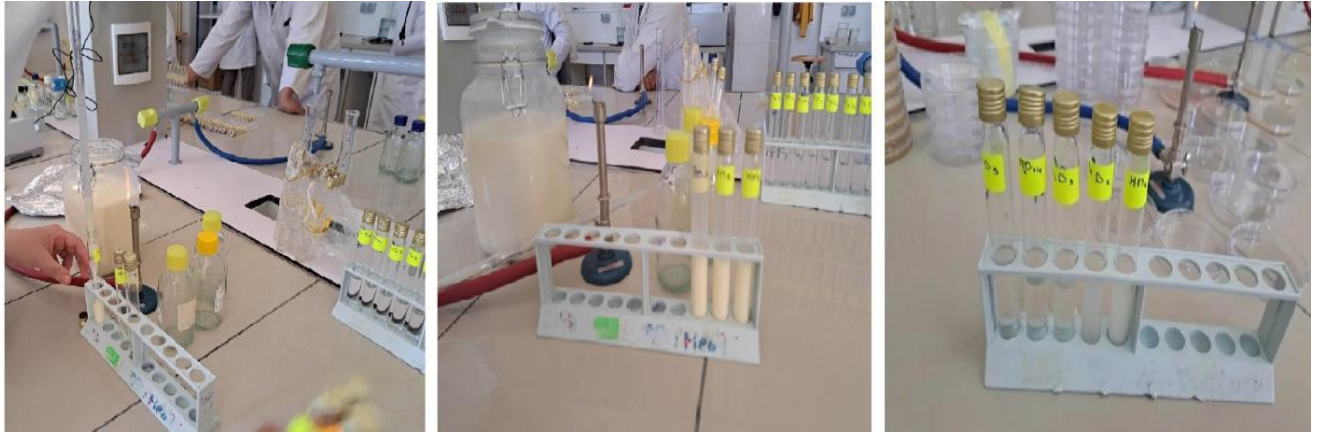


Figure 23 : Méthode des dilutions décimales.

### 12.2.1. Mode opératoire

Pour commencer, on mélange 1 ml d'échantillon et 9 ml d'eau physiologique stérile dans un tube à vis stérile pour obtenir une solution mère diluée à  $10^{-1}$ . Le contenu du tube est ensuite mélangé sur un vortex. Par la suite, des dilutions successives sont réalisées jusqu'à atteindre une dilution finale de  $10^{-5}$  (**figure 24**).



**Figure 24** : Préparation des séries de dilutions.

## 13. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

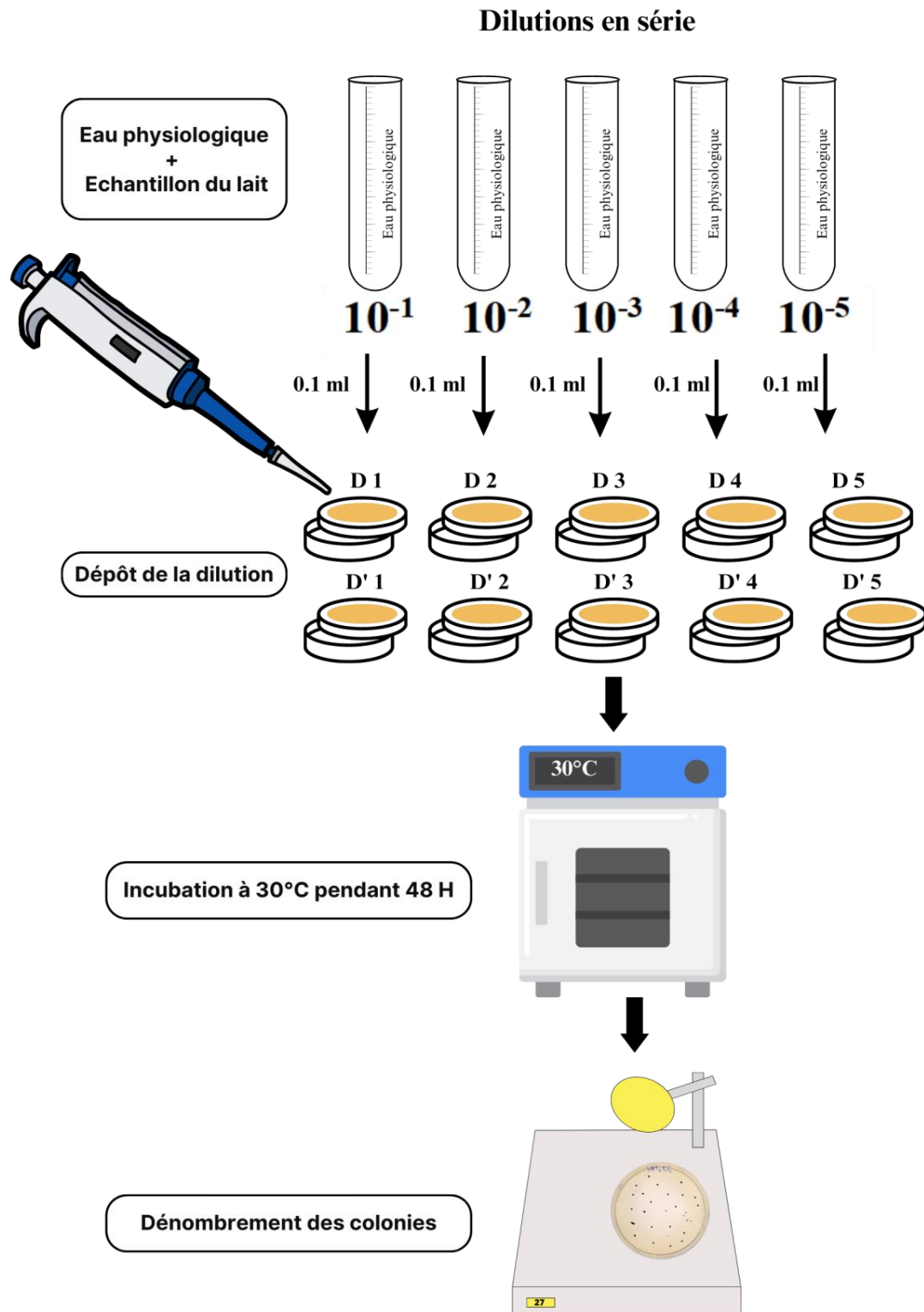
La méthode utilisée pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sur gélose nutritive est la méthode de comptage des colonies revivifiable (**Federation Internationale de Laiterie, 1991**).

### ➤ Mode opératoire

La technique consiste à préparer deux répétitions en utilisant deux boîtes de pétri pour chaque dilution, en identifiant soigneusement chaque boîte de pétri avec des codes distincts. Ensuite, 0,1 ml de chaque dilution ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-5}$ ) sontensemencés dans les boîtes, auxquelles de la gélose nutritive en surfusion maintenue à  $45^{\circ}\text{C}$  est ajoutée. Le mélange est réparti uniformément en effectuant des mouvements circulaires en forme de huit, puis le milieu de culture est laissé solidifier sur les boîtes de pétri avant d'être retourné pour être incubé dans une étuve à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures. Ces actions doivent être répétées à chaque intervalle d'analyse

### 13.1. Lecture des résultats

Après 48h d'incubation, compter les colonies présentes sur chaque boîte de pétri à l'aide d'un compteur de colonies (**figure 25**).



**Figure 25 :** Étapes opératoires de l'évaluation de la flore mésophile aérobie totale.

## 14. Détermination du nombre UFC/mL

Les colonies ont été comptées pour chaque dilution pour déterminer le nombre d'UFC/mL en utilisant la formule suivante :

➤ **En cas d'une seule boîte exploitable :**

$C_n = (\text{nombre d'UFC comptées} / \text{Volume d'inoculum déposé}) \times \text{Facteur de dilution}$  (**Hameed et al., 2015**).

➤ **En cas de deux boîtes exploitables :**

$C_n = (\text{la somme de nombre d'UFC comptées} / 1,1 \times \text{Volume d'inoculum déposé}) \times \text{Facteur de dilution (le moins fort)}$  Avec intervalle des boîtes exploitables ente [15-300].

### 14.1. Analyse biomathématique

La microbiologie prédictive est un domaine de recherche en microbiologie alimentaire qui gagne en importance en tant qu'outil d'analyse des risques et de prédiction de la durée de conservation. En microbiologie prédictive, des modèles mathématiques sont développés pour estimer la croissance ou l'inactivation des micro-organismes dans les aliments. Pour estimer la croissance des micro-organismes, les formes les plus élémentaires de modèles, appelées modèles primaires, sont utilisées pour décrire la croissance microbienne dans des conditions de température constantes. Ces modèles peuvent inclure des modèles empiriques tels que les modèles de Gompertz modifiés et logistiques (**Gibson et al., 1988**), ainsi que des modèles plus mécanistiques tels que le modèle de Baranyi (**Baranyi et Roberts, 1994, 1995**).

Dans notre étude, nous avons utilisé ces deux modèles pour analyser nos résultats.

#### 14.1.1. Modèle Baranyi et Roberts

On a utilisé le modèle Baranyi et Roberts avec les données de «Combase» pour ajuster les données de croissance bactérienne et estimer les paramètres de croissance bactérienne pour la flore totale du lait en suivant ces étapes :

- Transformer les données de comptages en échelle  $\log_{10}$  en utilisant un tableur Excel.
- Appliquer le modèle Baranyi et Roberts aux données en ajustant les paramètres de croissance bactérienne, y compris ( $X_{\text{initiale}}$ , phase de latence,  $X_{\text{Max}}$  et  $u_{\text{Max}}$ ).

- Évaluer la qualité de l'ajustement du modèle en utilisant des mesures telles que le coefficient de détermination ( $R^2$ ) et l'écart-type de l'ajustement (ES of Fit). Un meilleur ajustement est indiqué par un  $R^2$  plus élevé et un SE of Fit plus faible.

Utiliser un logiciel de modélisation mathématique «**GraphPad Prism 9.0**» pour tracer des courbes à partir des données exportées de Combase.

#### **14.1.2. Modèle Gompertz**

On a utilisé aussi le modèle Gompertz avec les données de «**IPMP 2013**» pour ajuster les données de croissance bactérienne et estimer les paramètres de croissance bactérienne pour la flore totale du lait en suivant les étapes suivantes :

- Les données de comptage ont été transformées en échelle logarithmique à l'aide d'un tableur Excel.
- Les données transformées ont été importées dans le logiciel IPMPT pour ajuster le modèle Gompertz.
- Les paramètres de croissance bactérienne, tels que le temps de latence, le taux de croissance maximale et la charge microbienne maximale , ont été estimés à partir de l'ajustement du modèle Gompertz dans IPMPT(**Huang, 2014**).
- La qualité de l'ajustement du modèle Gompertz a été évaluée à l'aide de mesures telles que le coefficient de détermination ( $R^2$ ) et l'erreur quadratique moyenne (EQM).

"**IPMP 2013**", "Integrated Predictive Modeling Program Tools", est un outil de microbiologie prédictive de nouvelle génération développé par Dr. Lihan Huang, chercheur au Service de recherche agricole de l'**USDA** (U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE). Ce logiciel est conçu pour analyser des données expérimentales couramment rencontrées en microbiologie prédictive et pour le développement de modèles prédictifs. Il utilise des modèles mathématiques basés sur les données expérimentales pour prédire la croissance bactérienne (**Huang, 2013**).

## 15. Analyses des paramètres physique du lait

### 15.1. Test d'ébullition du lait

Il s'agit d'une méthode simple qui consiste à faire bouillir 10 ml du lait dans béccher propre (figure 26).

#### 15.1.1. Expression des résultats

Lorsque le lait est dans un état normal, il est homogène et ne présente aucune séparation visible. Cependant, après quelques instants, une fine pellicule plissée de couleur blanche se forme à la surface du liquide. Cette pellicule est principalement constituée de calcium, de protéines et de matières grasses. En revanche, si le lait est acidifié (au 25°D), il coagulera sous l'effet de l'ébullition (Thieulin et Vuillaume, 1967).



Figure 26 : Test d'ébullition du lait.

### 15.2. Contrôle du pH

Par définition, la valeur du pH est une mesure de l'activité des ions  $H^+$  contenus dans une solution. La mesure du pH donne des informations sur l'acidité du lait. Ce dernier est considéré comme frais si son pH est compris entre [6,6 à 6,8] (Lapointe-Vignola, 2002). Le pH a été mesuré à chaque intervalle de temps (48 h).



**Figure 27** : Suivi du pH du lait réfrigéré à 4°C et supplémenté avec de l'HE de *M. communis* pendant 8 jours.

### 15.3. Contrôle de l'acidité

Il est basé sur le titrage de l'acide lactique avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) 1/9N en présence de phénolphaléine comme indicateur coloré, lorsque l'acide est neutralisé on atteint le point de virage, donc la solution prend une coloration rosée (Guiraud, 1998).

#### 15.3.1. Préparation d'une solution de NaOH

La préparation de la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) N/9 se fait par dissolution de 4,445 g d'hydroxyde de sodium en pastilles dans un litre d'eau distillée.

#### ➤ Mode opératoire

Pour réaliser la titration, il convient tout d'abord d'introduire 10 ml de l'échantillon dans un bêcher. Ensuite, il est recommandé d'ajouter 3 à 4 gouttes de la solution de phénolphaléine pour permettre de visualiser le changement de couleur. La titration peut alors commencer en ajoutant progressivement une solution de soude (NaOH) N/9 au mélange. Il est important de bien agiter le mélange entre chaque ajout de soude pour assurer une réaction homogène. La titration doit être poursuivie jusqu'à ce que la couleur du mélange vire vers le rose pâle.

#### 15.3.2. Expression des résultats

-1°D correspond à 0,1 g d'acide lactique dans 1 litre de lait (Mathieu, 1998).

D'ou

$$A = V \cdot 10$$

A : Acidité en degrés Dornic (°D).

V : volume en ml de solution d'hydroxyde de sodium .

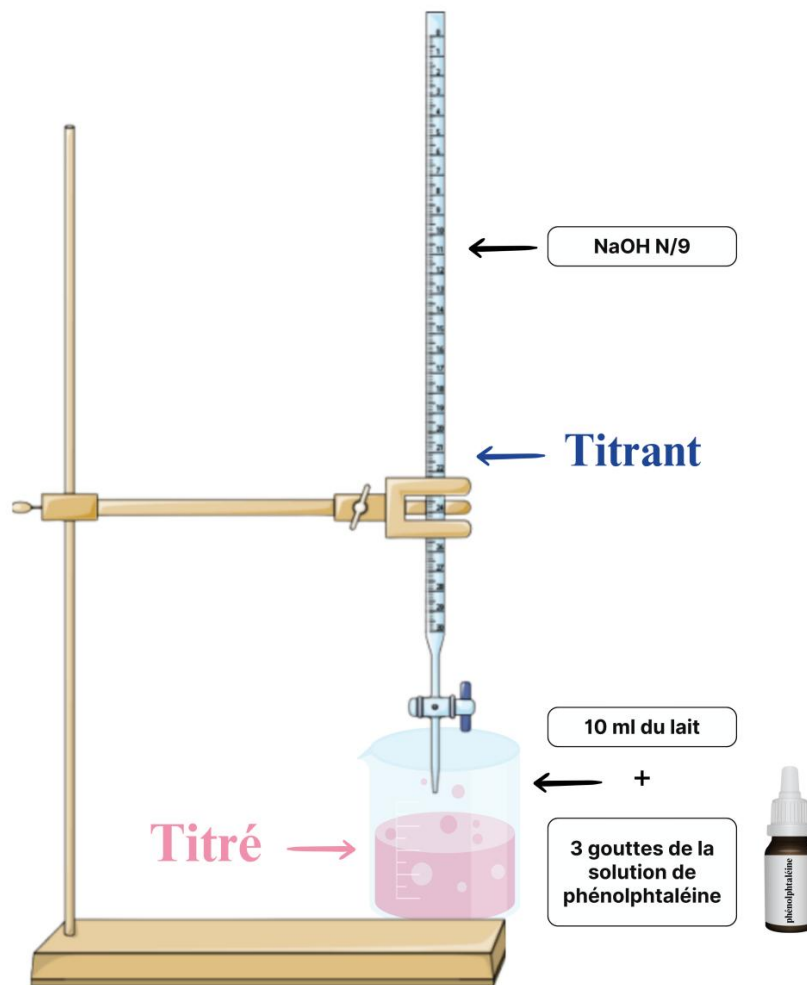


Figure 28 : Montage du titrage de lait.



# **Chapitre IV**

## ***Résultats et discussion***

---

## 1. Résultats et discussion

### 1.1. Rendement d'extraction

Le tableau présenté ci-dessous récapitule les résultats de rendement en huile essentielle des feuilles séchées du *M.communis* obtenus par la méthode d'hydrodistillation de type Clevenger.

**Tableau 12** : Rendement de l'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis* L.

Méthode	Partie de la plante	Masse végétale en (g)	Masse d'H E en (g)	Rendement en (%)
Hydrodistillation De type Clevenger	Feuilles	1133,4g	5,3211g	0,469%

Après avoir comparé nos résultats à d'autres études menées en Algérie sur la même espèce, nous avons constaté que notre rendement était supérieur à celui d'**Addouche Keira** pour l'année **2019** et celui de **Berka-Zougali et al., (2012)**, qui atteignaient respectivement 0,2% et 0,32%. Néanmoins, il faut noter que notre rendement demeure inférieur à celui obtenu par **Mohamadi et al., (2021)**, qui a atteint  $0.68 \pm 0.6\%$ .

Les différences de rendement observées dans les études d'extraction d'huile essentielle de myrte peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, notamment l'origine génétique de la plante, l'âge de la plante, la saison de récolte, les conditions climatiques telles que la température, l'humidité et l'ensoleillement, les spécificités du sol telles que le pH, la teneur en nutriments et les propriétés physiques, ainsi que les méthodes d'extraction utilisées.

### 1.2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de myrte commun

Pour évaluer cette huile essentielle, il est nécessaire de mener une analyse organoleptique qui comprendra une évaluation de l'odeur, de l'aspect et du couleur de l'HE (**tableau 13**).

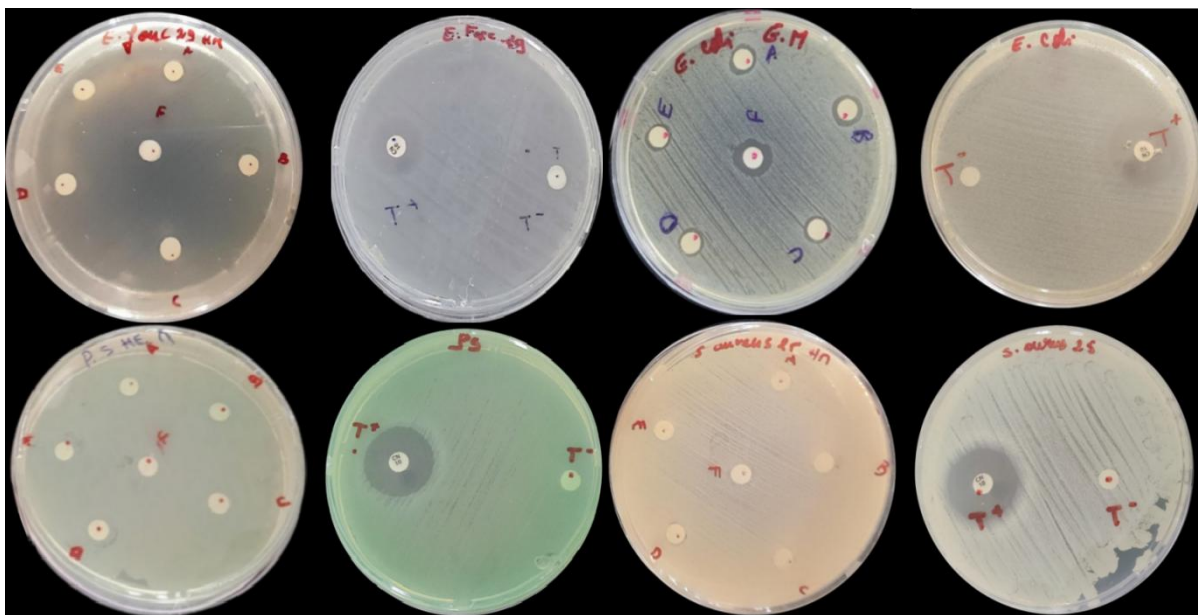
**Tableau 13** : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L.

HUILE ESSENTIELLE DE MYRTE COMMUN	COULEUR	ASPECT	ODEUR
	JAUNE CLAIR	HUILEUX	TRES AROMATIQUE

Les recherches menées par **Boulouaret et Boufroua, (2021)** ont conclu que l'huile essentielle de myrte présente des caractéristiques telles qu'une apparence huileuse, une couleur jaune foncé et une odeur très aromatique. Cependant, nos propres observations ont montré des différences mineures par rapport aux résultats obtenus par **Boulouaret et Boufroua, (2021)**. Ces variations peuvent être liées à des appréciations subjectives différentes des propriétés organoleptiques, car elles dépendent de l'opinion personnelle de chaque chercheur plutôt que de mesures objectives.

## 2. Activité antibactérienne

Nous avons mené une étude pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *M. communis* contre quatre souches bactériennes différentes. Cette étude visait à déterminer si l'huile de myrte avait un potentiel d'inhibition de la croissance bactérienne et si cet effet était similaire ou différent selon les souches testées (**figure 29**).



**Figure 29** : Photos représentant les zones d'inhibition des micro-organismes testés par l'HE de *M. communis*.

**Tableau 14** : Diamètres des zones d'inhibition des micro-organismes testés par l'HE de *M. communis*.

		Diamètres des zones d'inhibition (mm)						
Souches	Abréviation	F <sup>a</sup>	A	B	C	D	E	F
bactériennes	Concentration (mg/mL)	100	40	20	10	5	2.5	1,25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		11,25±0,5	8,6±0,7	8,4±1,15	7,6±1,41	7,25±0,7	6,67±0,7	nt
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram -	nt	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		nt	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Gram+	nt	-	-	-	-	-	-

**nt** : non testée ; - : aucune zone (ou  $DI \leq 6$  mm).

Les quatre souches bactériennes testées sont sensibles à l'antibiotique Gentamicine avec des zones d'inhibition allant de 17,04 à 21,98 mm. Aucune souche bactérienne n'a montré de résistance à cet antibiotique.

Les données présentées (**tableau 14**) ont été obtenues à partir d'une évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de myrte contre une souche d'*Escherichia coli* 25922. Les diamètres d'inhibition ont été mesurés en utilisant une méthode de diffusion en milieu solide pour différentes concentrations de l'huile de myrte. Les résultats indiquent que la concentration la plus efficace de l'huile de myrte est de 100 mg/ml, avec un diamètre d'inhibition de 11,25±0,5 mm. Les concentrations inférieures de 40 mg/ml et 20 mg/ml ont également montré des effets inhibiteurs, mais avec des diamètres d'inhibition de 8,6±0,7 mm et 8,4±1,15 mm respectivement. Les concentrations de 10 mg/ml, 2,5 mg/ml et 5 mg/ml ont montré une activité inhibitrice plus faible, avec des diamètres d'inhibition de 7,6 ±1,41 mm, 7,25 ±0,7 mm et 6,67 ±0,7 mm respectivement. Cependant, la zone d'inhibition de 21,5 ±0,7 mm a été observée pour la

Gentamicine, qui est généralement considérée comme l'un des antibiotiques les plus efficaces envers *E.coli*. Il est important de noter que les dilutions peuvent également affaiblir l'efficacité de l'huile de myrte.

Les résultats de notre étude montrent que l'huile de myrte testée présente une activité inhibitrice supérieure vis-à-vis d'*E.coli* par rapport à l'huile essentielle de myrte étudiée par **Mohamadi et al., (2021)**. En effet, nous avons observé des diamètres de zones d'inhibition pour toutes les concentrations testées dans notre étude, alors que **Mohamadi et al., (2021)** ont seulement rapporté une zone d'inhibition de  $9,3 \pm 1,2$  mm pour l'huile essentielle brute de myrte commun d'El kala et aucune inhibition pour la dilution 50 %. Nous avons également constaté que notre huile essentielle possède une activité inhibitrice contre *E. coli*, ce qui est cohérent avec certaines données de la littérature (**Sadiki et al., 2014 ; Pirbalouti et al., 2014 ; Fadal et al., 2017**). Cependant, d'autres auteurs signalent une activité faible voire nulle contre *E. coli* (**Aboutabl et al., 2011 ; Eliuz et al., 2017**).

Les tests réalisés sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ont révélé l'absence de toute zone d'inhibition de croissance, même en utilisant différentes dilutions d'huile de myrte allant de 40 mg/ml jusqu'à 2,5 mg/ml. En revanche, l'antibiotique Gentamicine a montré une zone d'inhibition de  $21,98 \pm 0,17$  mm, ce qui démontre son efficacité contre cette souche bactérienne. D'autre part, **Mohamadi et al., (2021)** ont obtenu des résultats différents, avec des zones d'inhibition mesurant respectivement  $13,3 \pm 3,1$  mm et  $11,7 \pm 1,5$  mm pour l'utilisation d'huile de myrte brute et diluée à 50% respectivement.

Pour la souche *E.faecalis*, les résultats de notre test indiquent qu'aucune concentration d'huile essentielle de myrte n'a eu d'effet inhibiteur sur la croissance de la souche *E.faecalis*. En revanche, l'antibiotique Gentamicine a montré une zone d'inhibition de  $17,04 \pm 0,44$  mm, ce qui est cohérent avec les résultats de l'étude de **Rasoli et al., (2002)** qui n'ont pas trouvé d'activité antibactérienne de l'huile essentielle de myrte contre *E.faecalis*. Toutefois, une autre étude menée par **Mohamadi et al., (2021)** a montré que l'utilisation d'huile de myrte brute ou diluée à 50% a entraîné des zones d'inhibition de  $17,7 \pm 0,6$  mm et de  $11,7 \pm 1,5$  mm, respectivement, contre *E.faecalis*.

En ce qui concerne la souche *Pseudomonas aeruginosa* 27853, aucune zone d'inhibition n'a été observée pour toutes les concentrations d'huile testées, y compris lorsqu'elle était diluée. Les résultats montrent que l'huile de myrte n'a aucun effet d'inhibition sur cette souche bactérienne, contrairement à l'antibiotique Gentamicine qui a montré une zone d'inhibition de

21,51 ±0,5 mm dans les mêmes conditions. Nos résultats ont montré que les bactéries Gram-négatives sont plus sensibles aux huiles de *M. communis* que les bactéries Gram-positives.

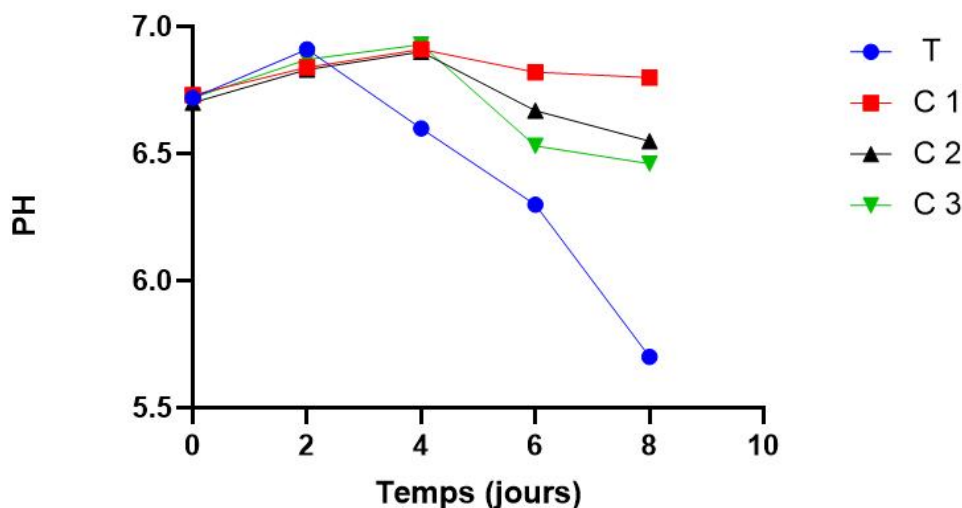
Les différences de résultats entre les études sont expliquées par la grande disparité de composition chimique, qui existe entre les huiles essentielles de cette espèce. Il est reconnu que l'efficacité des huiles essentielles contre une bactérie dépend directement de ses composants actifs, l' $\alpha$ -pinène, Le 1,8-cinéol, le  $\beta$ -pinène et le limonène sont responsables des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle de myrte, selon l'étude d'**Ebrahimabadi et al., (2016)**. D'autres études, telles que celle de **Randrianarivelo et al., (2009)** ont souligné le rôle important des terpènes oxygénés, en particulier le 1,8-cinéole, le linalol et l' $\alpha$ -terpinéol, dans l'activité antibactérienne du myrte commun. Tandis que **Carson et Riley (1995)** ont mis en évidence le rôle du linalol. Ces résultats ont été confirmés par plusieurs autres études, notamment celles de (**Hendry et al., 2009 ; Rivas da Silva ; al., 2012 ; Edouardo et al., 2017**).

### 3. Paramètres physiques et microbiologique du lait additionné d'HE de *M. communis*

#### 3.1. Paramètres physique

##### 3.1.1. Contrôle de pH

Dans cette étude, nous avons mesuré les variations de pH des échantillons de lait supplémenté en huile essentielle de Myrte Commun stockés à 4°C pour différentes concentrations d'huile essentielle, ainsi qu'un échantillon témoin non additionné. Les résultats obtenus pourront aider à déterminer les effets de l'huile essentielle de Myrte Commun sur les propriétés du lait et à évaluer son potentiel d'utilisation comme agent conservateur naturel (**Figure 30**).



**Figure 30 :** Variation du pH durant la période du stockage à froid du lait supplémenté en HE de *M. communis* (4°C) (T (non additionné); C1=10mg/mL ; C2= 5 mg/mL; C3= 2,5mg/mL).

En examinant les données de pH pour chaque échantillon de lait, on peut observer les variations suivantes :

**Au jour 0:** les valeurs de pH pour tous les échantillons de lait étaient similaires avec des valeurs comprises entre 6,70 et 6,73. Cette observation indique que les échantillons de lait étaient dans la plage normale pour le lait frais, qui est de 6,60 à 6,80, comme mentionné dans une étude de **Lapointe-Vignola en 2002.**

**Au jour 02:** On observe une augmentation des valeurs de pH pour tous les échantillons de lait. En revanche, les échantillons C1, C2 et C3 présentent des valeurs de pH plus basses que le témoin (T), ce qui peut indiquer que l'ajout d'un supplément d'huile essentielle de myrte, a un effet sur l'évolution du pH.

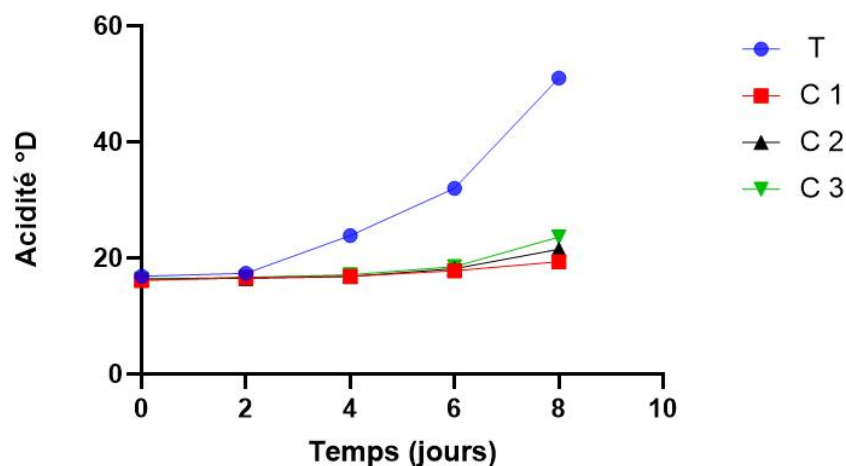
**Au jour 04:** il a été constaté que le pH des échantillons de lait C1, C2 et C3 s'est stabilisé, voire légèrement augmenté, par rapport au deuxième jour. En revanche, le pH du témoin (T) a diminué.

**Au jour 06:** Les valeurs de pH de tous les échantillons de lait accusent une chute marquée. En outre, il est à noter que les échantillons C1, C2 et C3 ont des pH plus élevés par rapport au témoin (T).

**Au jour 8:** On constate une baisse importante des valeurs de pH pour tous les échantillons de lait examinés, avec la particularité des échantillons C1 et C2 qui présentent une valeur de pH= 6.8 et 6.55 respectivement qui sont supérieures à celles des autres échantillons. Par ailleurs, l'échantillon témoin (T) se caractérise par une valeur de pH plus basse qui atteint jusqu'à 5,7. Ces résultats suggèrent que l'ajout d'huile essentielle de myrte peut avoir un effet sur l'évolution du pH dans le lait. Les échantillons supplémentés en huile essentielle de myrte commun présentent des valeurs de pH plus stables que le témoin. Ces résultats sont intéressants car ils suggèrent que l'huile essentielle de myrte peut avoir un effet sur la flore bactérienne présente dans le lait, ce qui peut affecter la production d'acide lactique et l'évolution du pH.

### 3.1.2. Contrôle de l'acidité

Les résultats de la mesure de l'acidité des différents échantillons de lait cru analysés sont représentés dans la **figure 31.**



**Figure 31 :** Variation de l'acidité Dornic des différents échantillons de lait pendant la période de stockage à froid du lait supplémenté en HE de *M. communis* (4°C) (T (non additionné); C1=10mg/mL ; C2= 5 mg/mL; C3= 2,5mg/mL).

En analysant les données de l'acidité pour chaque échantillon de lait, nous pouvons observer les variations de l'acidité au fil du temps et en fonction de la concentration d'huile essentielle de myrte commun ajoutée.

Les résultats de cette étude montrent que les valeurs d'acidité Dornic initiales (entre 16,1 et 16,9 °D) sont conformes à la norme **AFNOR (1985)**, fixée entre 16 et 18°D, indiquant donc que la qualité du lait au moment de l'échantillonnage était bonne. De plus, les niveaux d'acidité similaires pour tous les échantillons suggèrent que la manipulation des échantillons n'a pas eu d'effet significatif sur les niveaux d'acidité du lait.

En outre, l'huile essentielle de myrte commun a été observée pour avoir un effet sur l'acidité du lait, conduisant à une stabilisation de l'acidité avec des concentrations plus élevées d'huile. Par exemple, après 8 jours de stockage à froid, l'acidité des échantillons C1 (10 mg/ml) et C2 (5 mg/ml) a augmenté respectivement à 19,4 °D et 21,5 °D, tandis que la valeur du témoin est considérée exceptionnellement élevée à 51 °D.

Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de myrte a un effet sur l'acidité du lait en inhibant la croissance des bactéries acidifiantes, ce qui peut avoir des implications potentielles pour la conservation du lait et la production de produits laitiers. Des recherches antérieures de **Li et al., (2021)** ont montré que les bactéries lactiques et leurs métabolites, qui contiennent des acides organiques, favorisent l'augmentation de l'acidité du lait. Cette acidification peut altérer la qualité du lait, qu'il soit cru ou pasteurisé.



### 3.1.3. Test d'ébullition

Le test d'ébullition du lait est une méthode simple et rapide pour évaluer la qualité et la fraîcheur du lait. Le principe de ce test repose sur le fait que le lait frais et de bonne qualité ne doit pas se dégrader ou se contaminer pendant l'ébullition, tandis que le lait de mauvaise qualité ou contaminé peut cailler, dégager une odeur désagréable ou changer de couleur.

Dans notre cas, le test d'ébullition a été effectué sur des échantillons de lait cru additionnés d'huile de myrte avec des concentrations différentes (C1=10mg/ml, C2=5mg/ml et C3=2,5mg/ml), ainsi qu'un échantillon témoin (T) de lait cru non traité. Les échantillons ont été soumis à l'ébullition au jour 0, ainsi qu'aux jours 8 et 10 pour évaluer l'effet de l'huile de myrte sur la qualité et la fraîcheur du lait (**tableau 15**).

**Tableau 15** : Test d'ébullition des échantillons du lait.

Echantillon	J 00	J 08	J 10
T	+	-	-
C1	+	+	+
C2	+	+	+
C3	+	-	-

+: Test positif

- :Test négatif

j: jour

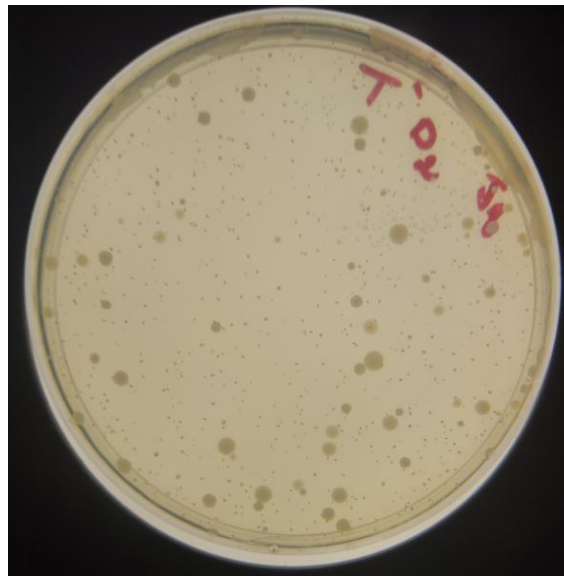
Les résultats de notre test ont montré que les échantillons de lait cru additionnés d'huile de myrte et l'échantillon témoin étaient de bonne qualité lorsqu'ils ont été testés initialement (jour 0) car les résultats des tests d'ébullition étaient positifs. Cependant, les échantillons (C1 et C2) de lait cru enrichis en huile de myrte ont continué à produire des résultats positifs lors des tests d'ébullition effectués aux jours 8 et 10, tandis que les deux échantillons (témoin et C3) étaient devenus caillés le jour 8, ce qui suggère que la qualité du lait avait dégradé.

Ces résultats suggèrent que l'ajout d'huile de myrte dans le lait cru a permis de prévenir la détérioration et la contamination bactérienne de manière plus efficace que dans l'échantillon témoin. Cependant, il convient de noter que ces résultats ne constituent qu'une indication préliminaire de la qualité du lait.

## 3.2. Analyse microbiologique du lait

### 3.2.1. Aspect macroscopique de la Flore Totale Aérobie Mésophile

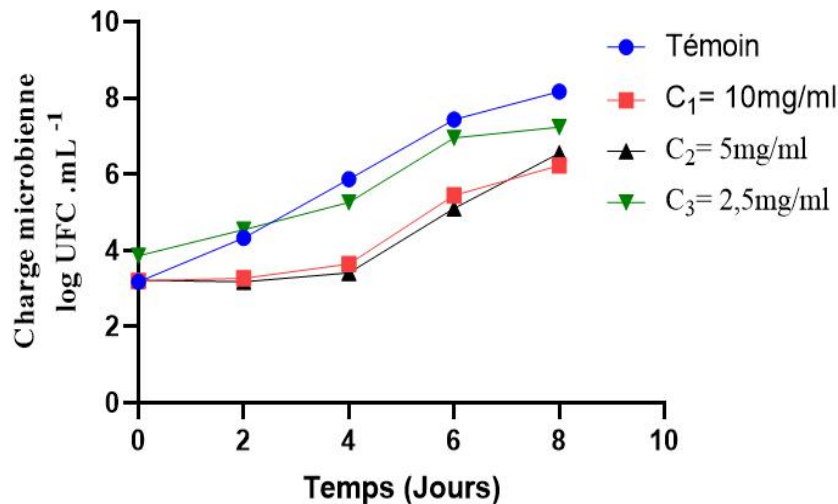
D'après nos observations macroscopiques, nous avons pu observer la présence de cultures de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) positives dans tous les échantillons de lait cru examinés sur la gélose nutritive. Ces cultures présentent une grande diversité phénotypique, comprenant notamment des colonies de tailles variées, de couleurs différentes, et de formes régulières ou irrégulières, se développant sur la surface ou dans la gélose sous forme de petits disques (**figure 32**).



**Figure 32** : Flore totale du lait cru sur gélose nutritive.

### 3.2.2. Suivi de la cinétique de croissance bactérienne de la FTAM

Les courbes de croissance de la flore mésophile dans le lait cru additionné de différentes concentrations d'huile essentielle de *M.communis* et réfrigéré pendant 8 jours, sont présentées dans **la figure (33)**.

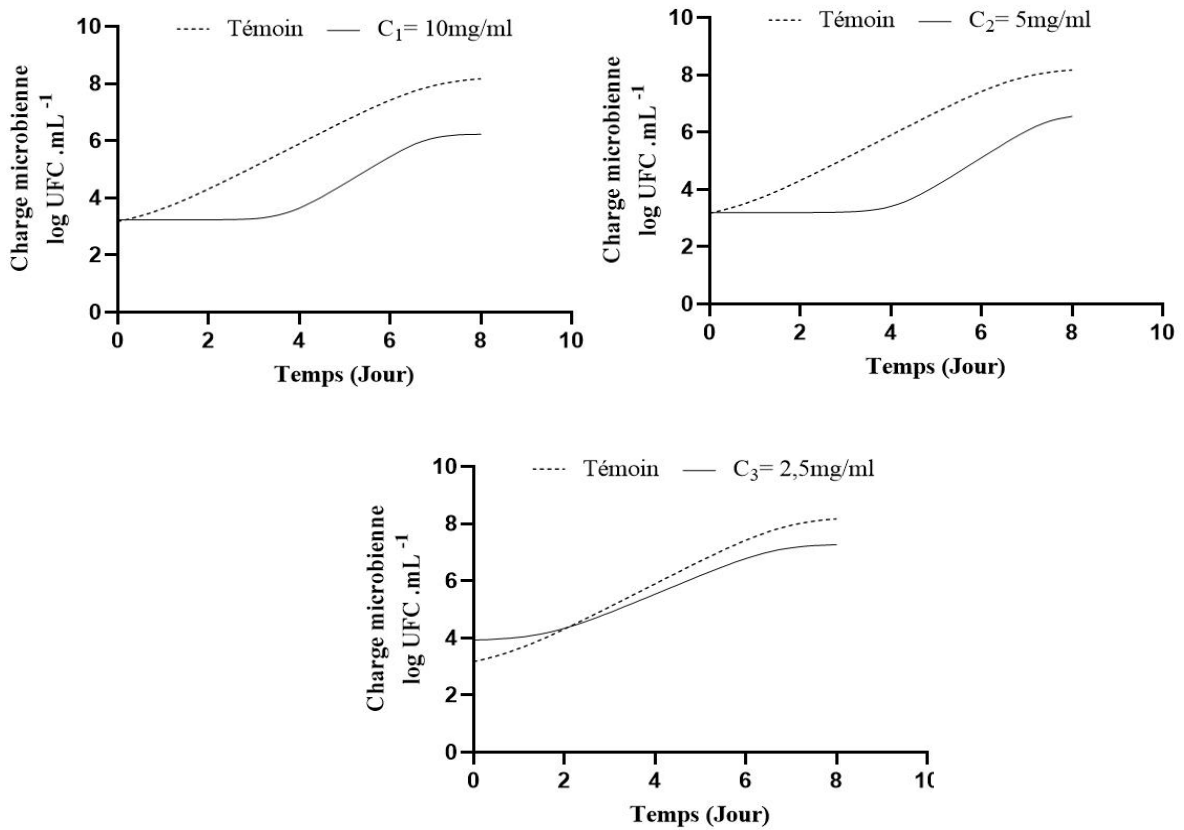


**Figure 33** : Évolution de la croissance microbienne des FTAMs du lait additionné de l'HE de *M.communis* et stocké à froid (4°C).

L'analyse des courbes de croissance de la flore mésophile dans le lait cru additionné d'huile essentielle de *M. communis* et réfrigéré pendant 8 jours montre que l'ajout d'huile essentielle a un effet inhibiteur sur la croissance des macro-organismes. Les résultats montrent que l'effet inhibiteur dépend de la concentration d'huile essentielle ajoutée, avec une inhibition plus remarquable observée à la concentration (C<sub>2</sub>=5 mg/mL) et (C<sub>1</sub>= 10 mg/mL).

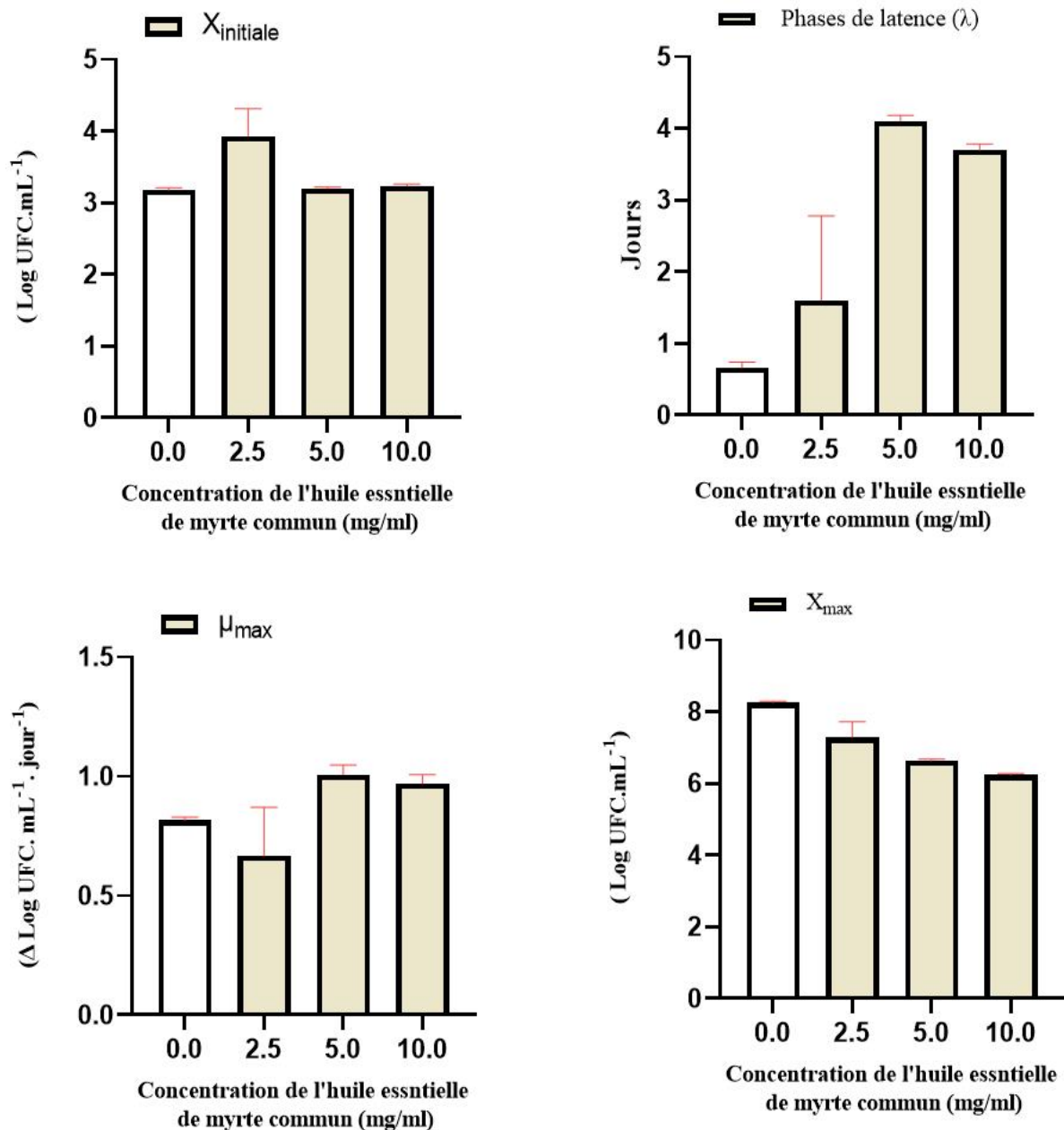
### 3.2.2.1. Modèle Baranyi et Roberts

Les dynamiques de la croissance microbienne sont importantes pour comprendre l'effet de l'huile de myrte commun sur la croissance des bactéries aérobies mésophiles dans le lait cru. La croissance microbienne suit généralement une courbe en forme de "S" appelée courbe de croissance microbienne. L'analyse des données moyennes de dénombrement bactérien total sur milieu gélose nutritive pour les échantillons de lait stockés à 4°C et additionnés d'huile de myrte avec différentes concentrations a été effectuée à l'aide du modèle de Baranyi et Roberts (**Baranyi et Roberts, 1994**) pour générer les courbes de croissance microbienne (**Figure 34**).



**Figure 34 :** Évolution de la croissance microbienne des FTAMs du lait additionné à l'HE de *M.communis* et stocké à froid (4°C) (modèle de Baranyi et Roberts).

Les données de "Combase" ont été utilisées pour obtenir les valeurs prédites des paramètres cinétiques de croissance microbienne (la croissance initiale ( $X_{initiale}$ ), le taux de croissance maximal ( $\mu_{max}$ ), la durée de la phase de latence ( $\lambda$ ) et la Charge microbienne maximale ( $X_{max}$ ), en utilisant le modèle de Baranyi et Roberts (**Baranyi et Roberts, 1995**).



**Figure 35 :** Résultats des paramètres cinétiques de croissance microbienne ( $X_{initiale}$ ,  $X_{max}$ ,  $\mu_{max}$  et  $\lambda$ ) obtenus à l'aide du modèle de Baranyi et Roberts.

La charge microbienne initiale des bactéries aérobies mésophiles dans le lait cru a été évaluée dans le cadre de notre étude. Les résultats de notre étude ont montré que la charge microbienne initiale des bactéries aérobies mésophiles dans le lait cru était de 3.178 log UFC. ml<sup>-1</sup> pour l'échantillon témoin et comprise entre 3.234 et 3.932 log UFC. ml<sup>-1</sup> pour les échantillons de lait additionné d'huile de myrte commun (**figure 35**).

Les résultats de notre étude ont montré que la charge microbienne initiale des bactéries aérobies mésophiles dans le lait cru était de  $3.178 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$  pour l'échantillon témoin et comprise entre  $3.234$  et  $3.932 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$  pour les échantillons de lait additionné d'huile de myrte commun. Ces valeurs étaient conformes aux normes de la limite d'hygiène de  $10^5 \text{ UFC/mL}$  (soit  $5 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$ ) établies dans les travaux de **Srairi et Hamama, (2006)**, **Ghazi et al., (2010)** ainsi que la réglementation nationale (**JORA, 1998**) qui considèrent qu'une charge microbienne supérieure à  $10^5 \text{ UFC/mL}$  ( $5 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$ ) signifie une contamination importante. Ces résultats suggèrent que les bonnes pratiques d'élevage ont été respectées, que la vache était en bonne santé et que l'environnement de ferme était hygiénique.

Par ailleurs, Les résultats de notre étude montrent que l'ajout d'huile de myrte commun au lait cru peut avoir un effet sur le taux de croissance des bactéries aérobies mésophiles. En effet, le taux de croissance maximale ( $\mu_{\text{max}}$ ) des bactéries aérobies mésophiles a été observé comme étant plus élevé dans l'échantillon C2 ( $1,00665 \pm 0,041 \Delta \log \text{ CFU/mL.jour}$ ), suivi de l'échantillon C1 ( $0,969 \pm 0,0389 \Delta \log \text{ CFU/mL.jour}$ ), puis de l'échantillon témoin T ( $0,815 \pm 0,0148 \Delta \log \text{ CFU/mL.jour}$ ), et enfin de l'échantillon C3 qui a enregistré un taux de croissance plus faible de  $0,667 \pm 0,203 \Delta \log \text{ CFU/mL.jour}$ . Il est important de noter que ces résultats semblent être en contradiction avec ceux obtenus par **Serrar et al., (2023)**, où une diminution de la vitesse de croissance maximale ( $\mu_{\text{max}}$ ) a été observée pour toutes les concentrations testées d'extrait aqueux d'origan. Cela suggère que les effets de l'huile de myrte commun sur la croissance microbienne dans le lait peuvent différer de ceux de l'extrait aqueux d'origan.

D'autre part, nos résultats indiquent que l'échantillon T, qui n'a pas été additionné avec de l'huile essentielle de myrte, a présenté la phase de latence la plus courte de 0,661 jour (soit 15,864 heures) . En revanche, les échantillons C1, C2 et C3, qui ont été supplémentés avec de l'huile essentielle de myrte, ont présenté des phases de latence plus longues, allant de 1,604 à 4,101 jours. De plus, il a été observé que la concentration  $C_2=5\text{mg/ml}$  avait entraîné la plus grande phase de latence de 4,101 jours, ce qui correspond à 98,424 heures (**figure 35**). Ces résultats sont cohérents avec une étude antérieure de **Serrar et al., (2023)** qui ont montré que l'utilisation de l'extrait aqueux d'origan a entraîné un retard de croissance microbienne dans le lait, caractérisé par un allongement du temps de phase de latence ( $\lambda$ ) de 22,08 heures. Le temps phase de latence est passé de  $4,12 \pm 0,11$  jour (98,88 heures) dans le lait sans supplémentation à  $5,04 \pm 0,97$  jour (120,96 heures) dans le lait supplémenté avec  $1,25 \text{ mg mL}^{-1}$  d'extrait aqueux d'origan.

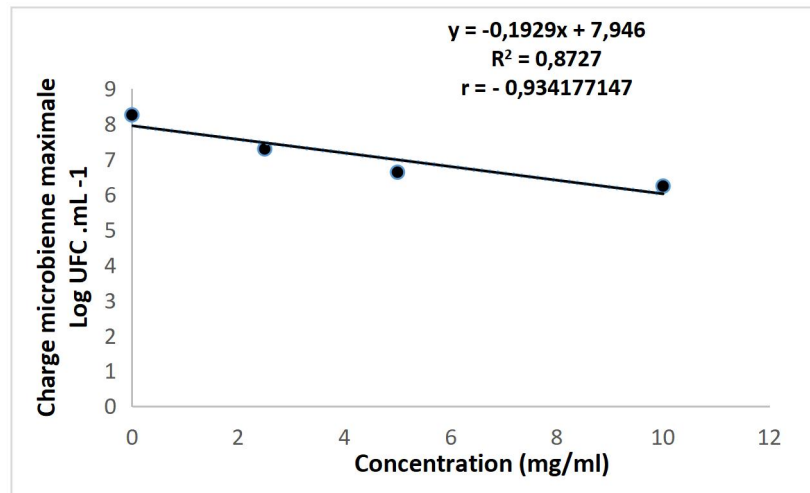
Ces résultats suggèrent que l'ajout d'huile essentielle de myrte au lait a un effet inhibiteur sur la croissance des micro-organismes présents dans le lait. Comme en témoigne la phase de

latence plus longue observée dans les échantillons supplémentés par rapport à l'échantillon témoin. Cependant, il est important de poursuivre les investigations en utilisant des méthodes et des analyses supplémentaires pour renforcer la validité et la pertinence des résultats.

Nos résultats montrent également que la charge maximale des bactéries aérobies mésophiles est la plus élevée dans l'échantillon témoin T ( $8.253 \pm 0.043 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$ ), suivi de l'échantillon C3 ( $7.289 \pm 0.435 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$ ), de l'échantillon C2 ( $6.63 \pm 0.0472 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$ ) et de l'échantillon C1 ( $6.237 \pm 0.0443 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$ ). Ces résultats suggèrent que la charge microbienne maximale diminue avec l'augmentation de la concentration d'huile de myrte commun (**figure 35**). Ces résultats sont cohérents avec ceux de l'étude menée par Serrar *et al.*, (2023), où une diminution importante du niveau de croissance maximale ( $X_{\max}$ ) a été observée pour toutes les concentrations d'origan testées. La valeur la plus faible de  $X_{\max}$  ( $4,45 \pm 1,34 \log \text{ UFC/mL}$ ) a été enregistrée avec les concentrations de 2,5 et 3,75 mg/mL d'extrait aqueux d'origan, par rapport au lait sans supplémentation qui a enregistré un  $X_{\max}$  de  $6,29 \pm 0,03 \log \text{ UFC/mL}$ . Ces résultats suggèrent que l'huile de myrte commun et l'extrait aqueux d'origan peuvent avoir des effets similaires sur la croissance microbienne dans le lait.

### 3.2.2.2. Corrélation entre la croissance microbienne maximale ( $X_{\max}$ ) et les concentrations de l'HE de *M. communis*

L'évaluation statistique de la relation entre les variations de  $X_{\max}$  et les concentrations de l'huile essentielle de myrte commun (**figure 36**) a abouti à l'équation de la droite de régression  $y = -0,1929x + 7,946$ . Le coefficient de corrélation est enregistré à -0,934, ce qui indique une forte corrélation négative entre les deux variables étudiées. Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) a une valeur de 0,8727, ce qui suggère que 87,27% de la variance dans les variations de  $X_{\max}$  peut être expliquée par les variations des concentrations de l'huile essentielle de myrte commun. Ces résultats indiquent que l'huile essentielle de myrte commun a un effet inhibiteur significatif sur la charge microbienne maximale ( $X_{\max}$ ).

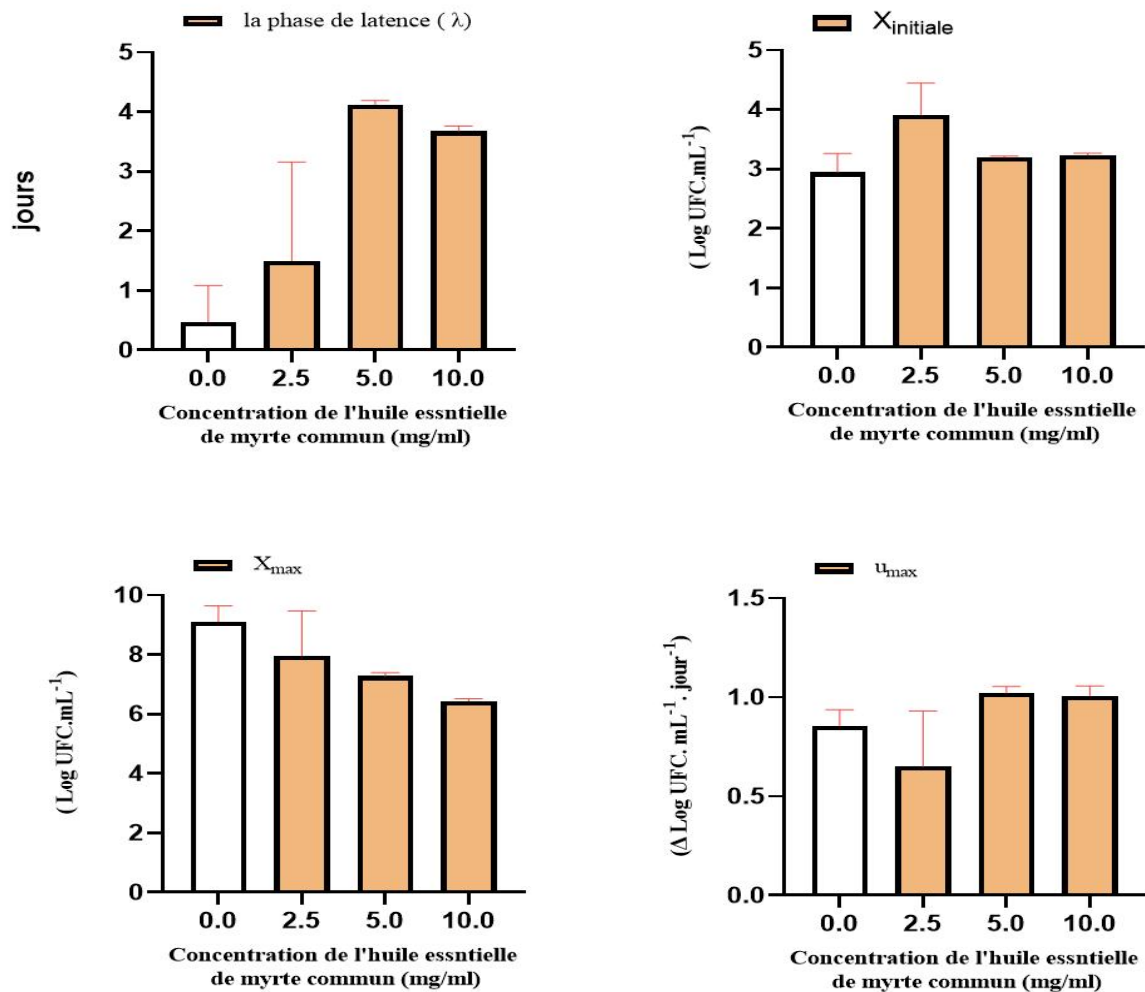


**Figure 36 :** Corrélation entre la croissance microbienne maximale ( $X_{\max}$ ) et les concentrations de l'EH de *M. communis*.

### 3.2.2.3. Modèle Gompertz

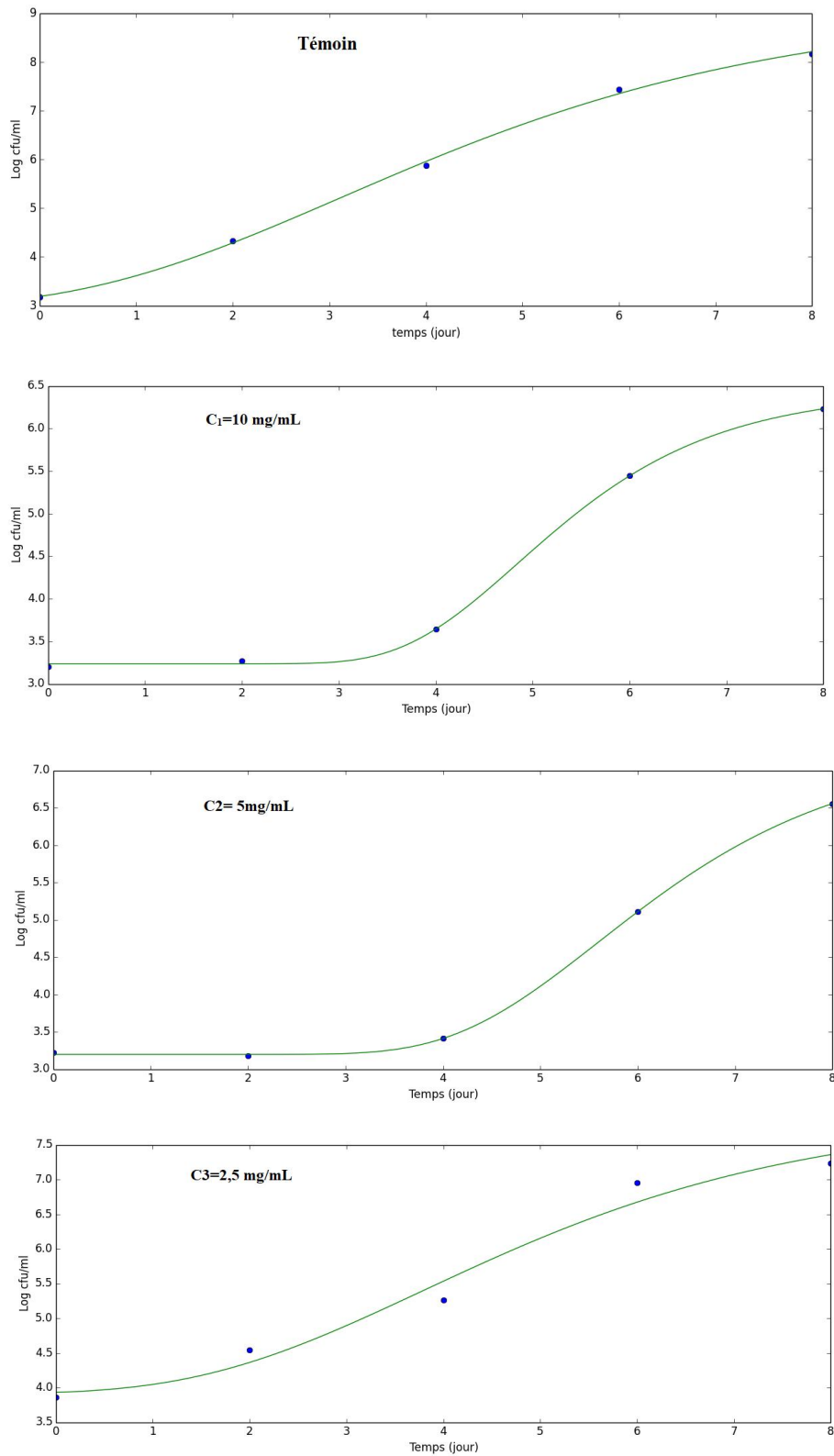
Les données de "IPMP 2013" ont été utilisées pour obtenir les valeurs prédites des paramètres de croissance microbienne  $X_{\text{initiale}}$ ,  $\mu_{\text{max}}$ ,  $\lambda$  et  $X_{\text{max}}$ , en utilisant le modèle Gompertz.





**Figure 37 :** Résultats des paramètres de croissance microbienne ( $X_{\text{initiale}}$ ,  $X_{\text{max}}$ ,  $\mu_{\text{max}}$  et  $\lambda$ ) obtenus à l'aide du modèle Gompertz.

L'analyse des données moyennes de dénombrement de la flore mésophile sur milieu gélose nutritive pour les échantillons de lait stockés à 4°C et additionnés d'huile de myrte avec différentes concentrations a été effectuée à l'aide du modèle Gompertz pour générer les courbes de croissance microbienne (voir **Figure 38**). Les courbes de croissance microbienne ont été tracées à l'aide d'un logiciel «IPMP 2013».



**Figure 38 :** Évolution de la croissance microbienne des FTAMs du lait additionné à l'HE de *M. communis* et stocké à froid (4°C) (modèle de Gompertz).

Les résultats des paramètres cinétiques obtenus à partir des modèles de Barany et Roberts ainsi que du modèle de Gompertz ont montré des similitudes dans la prédiction de la croissance microbienne des échantillons de lait cru enrichis en huile essentielle de myrte commun. Bien que les paramètres aient été légèrement différents entre les modèles, leur utilisation combinée a permis une meilleure compréhension des mécanismes de croissance microbienne.

### 3.2.3. Durée de conservation (Shelf-life)

Pour analyser la croissance microbienne et prédire la durée de conservation des échantillons de lait cru enrichis avec de l'huile essentielle de myrte commun, nous avons utilisé les modèles de Barany et Roberts. Ces modèles ont été utilisés pour analyser la contamination microbienne et prédire la croissance microbienne, ce qui nous a permis de déterminer la durée de conservation des échantillons de lait cru.

Nous avons utilisé l'équation proposée par **Fu et Labuza, (1993)** pour prédire la durée de conservation du lait en fonction de la croissance microbienne, dans des conditions idéales. L'équation est la suivante :  $ts = \ln(N_s/N_0)/k + tL$

$N_0$ : est le nombre initial de micro-organismes.

$tL$ : est la période de latence.

$k$ : est le taux de croissance des micro-organismes.

$ts$ : est le temps de seuil, c'est-à-dire le temps nécessaire pour que la population microbienne atteigne un niveau critique  $N_s$ .

$N_s$ : La limite maximale de sécurité est le niveau microbien maximum acceptable pour l'aliment en question. Cette limite est généralement déterminée par des réglementations ou des normes de sécurité alimentaire.

En utilisant cette équation, nous avons pu estimer la durée de conservation du lait en fonction de la concentration d'huile essentielle de myrte ajoutée, en supposant des conditions de stockage idéales. Les résultats obtenus ont permis de déterminer les concentrations optimales d'huile essentielle de myrte pour prolonger la durée de conservation du lait.

Dans cette étude, l'huile essentielle de myrte commun a été ajoutée au lait cru afin d'en évaluer les effets sur la croissance microbienne, l'acidité et le pH pendant le stockage. Le lait cru a une durée de conservation relativement courte, mais les résultats ont montré que l'ajout de l'huile essentielle de myrte commun à une concentration de 5 mg/ml et 10mg/ml a prolongé la

durée de conservation du lait cru. La durée de conservation a été prolongée de 8,178 jours avec une concentration de 5mg/ml (par rapport à 5,814 jours pour le témoin). Avec une concentration de 10mg/ml, la durée de conservation a été prolongée à 7,965 jours (par rapport à 5,814 jours pour le témoin). La concentration la plus efficace était de 5mg/ml, ce qui confirme que l'huile essentielle de myrte commun peut prolonger efficacement la durée de conservation du lait cru.

Cependant, afin de déterminer avec précision la durée de conservation réelle du lait traité avec l'huile essentielle de myrte commun, des analyses supplémentaires sont nécessaires, en particulier une évaluation sensorielle du lait pendant toute la période de stockage. Cette analyse permettra de déterminer si la qualité sensorielle du lait est maintenue pendant la période prolongée de conservation, et si le lait est toujours acceptable pour la consommation humaine. Les résultats de ces analyses supplémentaires doivent être pris en compte pour déterminer la durée de conservation optimale du lait traité avec l'huile essentielle de myrte commun. Il convient également de noter que les États-Unis ont adopté des indicateurs sensoriels comme base principale pour les avertissements de sécurité alimentaire, les inspections de détérioration et d'altération. La qualité sensorielle du lait est un facteur important qui affecte l'acceptation des produits laitiers sur le marché et le comportement d'achat des consommateurs (**Conti-Silva, et de Souza-Borges, 2019**).

Les produits laitiers, y compris le lait, sont souvent sujets à la contamination microbienne et à la dégradation, ce qui incite les chercheurs à rechercher des agents de conservation efficaces pour prolonger leur durée de conservation tout en préservant leur qualité. L'utilisation d'additifs naturels est une nouvelle tendance pour atteindre cet objectif.

Dans notre étude, nous avons ajouté de l'huile essentielle de myrte commun à différentes concentrations dans du lait de vache cru, et nous avons observé une prolongation de sa durée de conservation, en particulier avec une concentration de 5 mg/ml. Nos résultats démontrent que l'ajout d'huile essentielle de myrte commun peut être crucial pour prolonger la durée de conservation (shelf-life) du lait cru, offrant une prolongation de 2,364 jours (soit 56,736 heures) à la concentration efficace de 5 mg/ml, confirmant l'efficacité de l'huile essentielle de myrte commun dans la prolongation de la durée de conservation du lait cru.

En comparant nos résultats avec ceux d'autres études, nous avons constaté que l'utilisation de Plantaricine FB-2, extraite de *Lactiplantibacillus plantarum* FB-2, a prolongé la durée de conservation du lait cru de 3 jours et du lait pasteurisé de 6 jours, étude menée par **Li et al., (2023)**. De plus, **Palmeri et al., (2019)** qui a montré que l'extrait de feuilles d'olivier (OLE)

était efficace pour inhiber la croissance des bactéries *B. cereus* et réduire l'activité  $\alpha$ -glu in vitro. Les résultats de l'essai expérimental in vivo ont montré que l'ajout de 5% d'OLE (v/v) au lait pasteurisé entier a augmenté sa durée de conservation de 60% sur la base des résultats microbiologiques et nutritionnels globaux. Tandis que, **El-Saadony *et al.*, (2021)** ont montré que la supplémentation du lait cru de bufflonne avec des peptides bioactifs a significativement prolongé sa durée de conservation tout en améliorant sa qualité. L'étude menée par **Mohamed El Dessouky *et al.*, (2020)** avait pour objectif de prolonger la durée de conservation du lait pasteurisé de bufflonne de 5 à 16 jours en utilisant des extraits de feuilles d'olivier, de figue et de myrte. Les résultats ont montré que l'utilisation de l'extrait de myrte à une concentration élevée (0,6%) était plus efficace que les autres extraits. De plus, l'utilisation combinée de l'extrait de figue et de l'extrait d'olivier (MLE) a augmenté l'activité antibactérienne contre plusieurs types de bactéries. Les échantillons de lait pasteurisé traités avec 0,6% de FLE, OLE et MLE ont maintenu leur stabilité jusqu'à 16 jours sans dépasser le niveau critique d'activité protéase et lipase.

Après une modeste consultation bibliographique, nous n'avons pu trouver de recherche préalable portant sur l'incorporation d'huiles essentielles de myrte commun dans du lait cru de vache en vue de prolonger sa durée de conservation tout en préservant ses propriétés microbiologiques et physicochimiques. Nos résultats montrent que l'huile essentielle de myrte commun peut efficacement prolonger la durée de conservation du lait cru, ouvrant la voie à de nouvelles solutions alternatives pour prolonger la durée de conservation des produits laitiers, sans avoir recours à des additifs chimiques potentiellement dangereux pour la santé humaine.

## ***Conclusion***

---

## Conclusion

---

### Conclusion et perspectives

#### Conclusion

Nous avons mené une étude sur la supplémentation de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. dans du lait cru de vache réfrigéré, dont les résultats ont été significatifs. Nous avons confirmé la facilité et l'efficacité de l'hydrodistillation pour obtenir l'huile essentielle de cette plante, avec un rendement intéressant de 0,469%. Nous avons également mis en évidence le pouvoir antibactérien important de l'huile essentielle de *M. communis* contre *E.coli* 25922, avec une zone d'inhibition de  $11,25 \pm 0,5$  mm.

Dans cette étude, l'ajout d'huile essentielle de myrte commun au lait cru a été étudié pour évaluer ses effets sur la croissance microbienne, l'acidité et le pH pendant le stockage. Les résultats ont montré que la supplémentation en huile de myrte dans le lait réfrigéré avait ralenti l'augmentation de l'acidité par rapport au témoin, et que l'ajout de cette huile pouvait avoir un effet sur l'évolution du pH dans le lait, suggérant un potentiel d'inhibition de la croissance des bactéries lactiques.

De plus, les résultats de notre étude ont clairement démontré que l'ajout d'huile essentielle de myrte commun peut jouer un rôle crucial dans la prolongation de la durée de conservation (shelf life) du lait cru. La concentration la plus efficace était de 5 mg/ml, ce qui a permis une prolongation de la durée de conservation de 2,364 jours (soit 56,736 heures), confirmant l'efficacité de l'huile essentielle de myrte commun dans la prolongation de la durée de conservation du lait cru.

Bien que cette étude soit préliminaire, il semblerait que l'huile essentielle de myrte commun puisse être une alternative intéressante pour augmenter la durée de conservation du lait sans recourir à un traitement thermique ou à l'ajout de substances chimiques. Les propriétés conservatrices de cette plante pourraient être exploitées dans le domaine de la bioconservation du lait. De plus, les résultats ont montré que la flore de Mila dans le Nord-est algérien pourrait constituer une source précieuse d'espèces végétales intéressantes pour la production de cette huile. Ainsi, l'huile essentielle de myrte commun pourrait être produite localement, avec une empreinte environnementale réduite, ce qui pourrait être bénéfique pour les communautés locales.

## **Conclusion**

---

En somme, notre étude ouvre la voie à de nouvelles perspectives pour l'utilisation de l'huile essentielle de cette plante dans l'industrie agroalimentaire, en offrant une alternative naturelle et potentiellement plus sûre aux conservateurs synthétiques.

### **Perspectives:**

Nous avons identifié plusieurs perspectives intéressantes qui pourraient être explorées pour évaluer l'efficacité de l'huile essentielle de myrte commun en tant que bioconservateur pour le lait. Parmi elles, nous avons noté :

- L'étude approfondie des effets de l'huile essentielle de myrte commun sur les isolats contaminants et altérants présents dans le lait, ainsi que la détermination des concentrations optimales pour inhiber la croissance microbienne et prolonger la durée de conservation du lait tout en maintenant sa qualité sensorielle et nutritionnelle, pourraient contribuer à une meilleure compréhension de son potentiel antimicrobien et de ses applications dans l'industrie laitière.
- La vérification de la toxicité de l'huile essentielle de myrte commun à l'aide de tests *in vitro* et *in vivo*.
- L'évaluation de l'impact de l'huile de myrte commun sur la qualité nutritionnelle du lait.
- La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de myrte commun serait intéressante pour identifier les composants actifs responsables de ses propriétés biologiques.
- la réalisation d'une analyse physico-chimique approfondie du lait, comprenant des paramètres tels que la densité, la matière sèche et cendres, la teneur en matière grasse, le dosage du lactose et la matière azotée totale, peut aider à évaluer les éventuels changements dans la composition du lait causés par l'ajout d'huile essentielle de myrte commun.
- L'étude de l'impact de l'huile de myrte commun sur les propriétés sensorielles du lait, telles que le goût et l'odeur, permettrait d'évaluer son acceptabilité auprès des consommateurs et ainsi d'identifier les éventuels changements de goût ou d'odeur qui pourraient affecter sa qualité sensorielle.
- L'étude des effets de l'huile de myrte commun sur la qualité microbiologique du lait dans différents contextes de production, tels que les grandes exploitations laitières ou les exploitations laitières artisanales, permettrait d'évaluer son applicabilité à grande échelle et



## Conclusion

---

de déterminer si elle peut être utilisée de manière efficace dans différents types de production laitière.

- La comparaison des effets de l'huile de myrte à ceux d'autres agents de conservation naturels ou synthétiques permettrait d'évaluer son potentiel en tant qu'alternative durable et écologique aux additifs alimentaires couramment utilisés, et ainsi de mieux comprendre sa pertinence en tant que bioconservateur pour le lait.
- L'utilisation de techniques de biologie moléculaire, telles que la PCR (réaction en chaîne par polymérase) ou la qPCR (PCR quantitative), pour détecter et quantifier les bactéries dans le lait avant et après la supplémentation en huile essentielle de myrte commun, permettrait d'évaluer l'efficacité de l'huile de myrte à inhiber la croissance microbienne dans le lait.
- L'évaluation des conséquences de l'incorporation de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. dans l'alimentation sur la composition de la microbiote intestinale.
- La prise en compte des aspects réglementaires et économiques de l'utilisation de conservateurs naturels dans l'industrie agroalimentaire est importante afin de considérer les réglementations en vigueur pour l'utilisation de bioconservateurs dans l'industrie alimentaire, ainsi que les aspects économiques liés à la production et à la commercialisation de produits laitiers traités à l'huile de myrte commun.

En explorant ces perspectives de recherche, il sera possible de mieux comprendre les avantages et les limites de l'utilisation de l'huile essentielle de myrte commun comme conservateur naturel pour le lait, tout en offrant des pistes pour des recherches futures dans ce domaine.

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

---

## References bibliographiques

---

### Références bibliographiques

**Aboutabl EA, Meselhy KM, Elkhreisy EM, Nassar MI et Fawzi R. (2011).** Composition and bioactivity of essential oils from leaves and fruits of *Myrtus communis* and *Eugenia supraxillaris* (Myrtaceae) grown in Egypt. *J Essential Oil Bear Plants* 14 (2): 192-200. DOI: 10.1080/0972060X.2011.10643921.

**Addouche, K. (2019).** *Contribution À L'étude Des Caractéristiques Physicochimiques, La Composition, L'activité Antibactérienne Et Le Pouvoir Antioxydant Des Huiles Essentielles Du « Myrtus Communis L.»*, Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana, P:47.

**AFNOR. (1985).** Contrôle de la qualité des produits laitiers-Analyses physiques et chimiques, 3ème édition.

**Aidi Wannas W., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jemia, M., Ouchikh O., Hamdaoui G., Kchouk M-E. et Marzouk B. (2010).** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*. 48(5): 1362–1370.

**Alais, C. (1984).** *Sciences du lait : principes et techniques laitiers*. 4ème édition.- Paris: Édition SEPAIC, P 814.

**Alais, C., Linden, G. et Mielo, L. (2008).** *Abrégé en biochimie alimentaire*. Paris, Dunod, P 260.

**Aleksic V. et Knezevic P. (2014).** Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4): 240-254.

**Alias, C. (1975).** *Science du lait principe des techniques laitiers*. 3ème édition. Paris, P 1-60.

**Amiot J., Fournier S., Lebeuf, Y., Paquin P., Simpson R. et Turgeon H. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. *Science et technologie du lait*, 1-74.

**Association Française de Normalisation. (1987).** Recueil de normes Françaises “Huiles essentielles”, AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006.

**Augustin JC. et Carlier V. (2000).** Mathematical modelling of the growth rate and lag time for *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiology*, 56: 29–51.

## References bibliographiques

---

- Baba-aissa, F. (1991).** *Les plantes médicinales en Algérie*. Co-édition Bouchène , Ad. Diwan, Alger. 113.
- Badr Satrani ., Abdellah Farah . et Mohammed Talbi. (2006).** Effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Myrtus communis* L. du Maroc, *Acta Botanica Gallica*,153:2, 235-24.
- Balbinott N., Rodrigues N. F., Guzman F. L., Turchetto-Zolet A.C. et Margis, R (2022).** Perspectives in Myrtaceae evolution from plastomes and nuclear phylogenies. *Genetics and Molecular Biology*, 45(1): e20210191.
- Baranyi J. et Pin C. (1999).** Estimating Bacterial Growth Parameters by Means of Detection Times. *Applied and environmental microbiology*, 65(2) : 732–736.
- Baranyi J. et Roberts T.A. (1995).** Mathematics of predictive microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 26(2): 199 - 218.
- Baranyi, J., et Roberts, T. A. (1995).** Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 26, 199e218.
- Baytop T. (1999).** Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present). *Publication of the istanbul University*, 312, 2-3.
- Ben mahdi M.H. et Ouslimani S. (2009).** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. *European Journal of Scientific Research* vol, 36(3): 357-362.
- Benderouiche B. (2014).** *La Kémaria: Un Produit Du Terroir À Valoriser* ,Mémoire d'ingénieur, Département des sciences Agronomiques, Université Kasdi Merbah -Ouergla, p 17.
- Beniston, N. T. (1984).** *Fleurs d'Algérie*. Entreprise Nationale du Livre, P 359.
- Berka-Zougali B., Ferhat MA., Hassani A., Chemat F. et Allaf K.S. (2012).** Comparative study of essential oils extracted from Algerian *Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation. *International journal of molecular sciences*, 13(4): 4673–4695.
- Beroza M. et Bowman MC. (1966).** Correlation of pesticide polarities with efficiency of milk extraction procedures, *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 49(4): 1007–1012.

## References bibliographiques

---

**Boelens M.H. et Jimenez R. (1991).** The Chemical Composition of Spanish Myrtle Leaf Oils. Part I. *Journal of Essential Oil Research* ,3(3): 173-177.

**Boudjada selma et Boufelgha Amira. (2015).** Études des huiles essentielles de *Myrtus communis* .L et *pistacia lentiscus* L. de la région de Chahna Jijel- et évaluation de leurs activités biologiques , Mémoire de Master, Département des sciences et de l'environnement et des sciences Agronomiques, Université-Jijel, P 61.

**Boulouaret, Wafa, et Rania Boufroua (2021).** *Etude chimique et biologique des huiles essentielles et des métabolites secondaire de deux plaantes médicinales: Myrtus communis L. et mentha pulegium l.* Diss. Université jijel, 2021.

**Bradesi P., Tomi F., Casanova J., Costa J. et Bernardini A.F. (1997).** Chemical Composition of Myrtle Leaf Essential Oil from Corsica (France). *Journal of Essential Oil Research* 9, 9(3): 283-288.

**Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., de Buyser ML., Collette C., Garin-Bastuji B. et Thorel MF. (1997).** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1): 452-471.

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

**CAGHANIER, B. (1998).** Moisissures des aliments peu hydratés collection Sciences et techniques agroalimentaires. *Lavoisier Tec et Doc*, P 39.

**Caputo L., Capozzolo F., Amato G., De Feo V., Fratianni F. et Vivenzio G. (2022).** Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic, and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC Complement Med Ther*, 22(1):1-16.

**Carré, P. (1953).** Précis de Technologie et de Chimie Industrielle, Tome Deuxième, Cinquième Edition, Librairie J. B. Baillière et Fils, Paris.

**Carson, C. F., et Riley, T. V. (1995).** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *The Journal of applied bacteriology*, 78(3), 264–269.

**Cevat A. et Musa Ö. (2007).** Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 79(2): 453-458.

## References bibliographiques

---

**Chandan, R. C., Kilara, A. et Shah, N.P. (2016).** *Dairy Processing and Quality Assurance*. Deuxieme édition .UK: John Wiley & Sons, Wiley Blackwell,P 9-10.

**Cherrat L., Espina L., Bakkali M., García-Gonzalo D., Pagán R. et Laglaoui A. (2014).** Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. *J. Sci. Food Agric*, 94(6): 1197–1204.

**Chryssavgi G., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T. et Michael K. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L. Évaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107(30): 1120–30.

**Clevenger J. F. (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association (1912)*, 17(4): 345-349.

**CNIEL, (2013).** Economie laitière dans le monde.

**Codex Alimentarius. (1999).** Codex standard for named vegetable oils. *Codex stan*, 210, 1-13.

**Conti-Silva, A. C., et de Souza-Borges, P. K. (2019).** Sensory characteristics, brand and probiotic claim on the overall liking of commercial probiotic fermented milks: Which one is more relevant?. *Food Research International*, 116, 184-189.

**Coulon J-B. et Hoden A. (1991).** Maîtrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA Prod. Animales*, 4 (5): 361-367.

**Cuq, J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Édition Sciences et Techniques du Languedoc. *Université de Montpellier*. pp, 20-25.

**D. Kalachanis. et GK. Psaras. (2005).** Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. *Biologia Plantarum*, 49, 105-110.

**Dahiya, P., et Purkayastha, S. (2012).** Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants Against Multi-drug Resistant Bacteria from Clinical Isolates. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 74(5), 443–450. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.108420>.

**De Laurentis N., Rosato A., Gallo L., Leone L. et Milillo M.A. (2005).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrtus communis*. *Rivista italiana EPPOS*, 39(giugno), 3-8.

## References bibliographiques

---

**Deforges J., Derens E., Rosset R. et Serrand M. (1999).** *Maîtrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés.* Édition ,Cemagref. Tec et Doc, Paris.P 108.

**Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. *Éditions Médicales Internationales, Lavoisier.* ISBN : 978- 2- 743060945- 8. 462 p.

**Delhalle L., Daube G., Adolphe Y., Crevecoeur S. et Clinquart A (2012).** Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments *.Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 16 (3) : 369-381.

**Diaz A.M. et Abeger A. (1986).** Study of the polyphenolic compounds present in alcoholic extracts of *Myrtus communis* L. seeds. *An Real Acad Farm*, 52, 541–546.

**Dieng M. (2001).** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarois*, Thèse de Docteur Vétérinaire, Faculté de médecine et de pharmacie -Dakarn,(10), 91.

**Djenane D., Yanguela J., Amrouche T., Boubrit S., Boussad N. et Roncales P. (2011).** Chemical Composition and Antimicrobial Effects of Essential Oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Science and Technology International*,17 (6): 505–515.

**Ebrahimabadi, E. H., Ghoreishi, S. M., Masoum, S., et Ebrahimabadi, A. H. (2016).** Combination of GC/FID/Mass spectrometry fingerprints and multivariate calibration techniques for recognition of antimicrobial constituents of *Myrtus communis* L. essential oil. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1008, 50–57.

**Eduardo L, Farias T, Silva G, Lopes F et Ferreira S. (2017).** Antibacterial potential of the alpha-pinene positive enantiomer against the strain *Proteus mirabilis*. Conference: MOL2NET 2017, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 3rd ed. DOI : 10.3390/mol2net-03-04935.

**Eigel WN., Butler JE., Ernstrom CA., Farrell HMJr., Harwalkar VR., Jennes R. et Withney RM. (1984).** Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. *Journal of dairy science*, 67(8): 1599-1631

## **References bibliographiques**

---

**El Dessouky Abdel-Aziz, M., Samir Darwish, M., Mohamed, A. H., El-Khateeb, A. Y et Hamed, S. E. (2020).** Potential activity of aqueous fig leaves extract, olive leaves extract and their mixture as natural preservatives to extend the shelf life of pasteurized buffalo milk. *Foods*, 9(5), 615.

**Eliuz Erdogan A, Ayas D et Goksen G. (2017).** In vitro phototoxicity and antimicrobial activity of volatile oil obtained from some aromatic plants. *J Essent Oil Bearing Plants* 20 (3): 758-768. DOI: 10.1080/0972060X.2017.1331141.

**ElMarnissi B., R Belkhou. et L Bennani. (2013).** Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). *Les technologies de laboratoire*, 8(33).

**El-Saadony, M. T., Khalil, O. S., Osman, A., Alshilawi, M. S., Taha, A. E., Aboelenin, S. M., et Saad, A. M. (2021).** Bioactive peptides supplemented raw buffalo milk: biological activity, shelf life and quality properties during cold preservation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4581-4591.

**Emberger, L. (1955).** Une classification biogéographique des climats. *Recueil Trav. Lab. Bot. Geol. Zool. Univ. Fac. Sci. Montpellier*, 7(3.43).

**Essalhi M. (2002).** *Relation entre les systèmes de production bovine et les caractéristiques du lait*. Mémoire d'ingénieurs, Institut Agronomique et vétérinaire Hasan II-Rabat, P 104.

**Essawi T. et Srour M. (2000).** Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3): 343-349.

**Fadil M, Farah A, Bouchaib I, Haloui T, Lebrazi S et Rachiq S. (2017).** Intrapopulation variability of *Myrtus communis* L. growing in Morocco: Chemometric investigation and antibacterial activity. *J Appl Res Med Aromatic Pl* 7: 35-40. DOI: 10.1016/j.jarmap.2017.04.006.

**FAO. (2015).** la production laitière et les produits laitiers, les animaux laitiers.

**FAO. (2007).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine [http://www.fao.org/docrep.T4280F.htm](http://www.fao.org/docrep/T4280F.htm). (norme).

**Federation Internationale de Laiterie (1991) :** Lait, numération des cellules somatiques du lait. Norme N° 148, 1-8.



## **References bibliographiques**

---

- Fine AM. (2000).** Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 5(2) :144–51.
- Fox, P. F. (2003).** Significance of indigenous enzymes in milk and dairy products. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 255-278.
- Franceschini P. (2016).** *Myrtus communis L. en Corse et en Méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisations thérapeutiques.* Thèse de Doctorat en Sciences pharmaceutiques. Université Victor Segalen Bordeaux 2, France, P 142.
- Fredot, E. (2005).** *Connaissance des aliments: Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique*, Tec et Doc, Lavoisier, P 397.
- Fredot, E. (2006).** *Connaissance des aliments: Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique.* Editions Tec & Doc. Paris, P 613.
- Fu, B., et Labuza, T. P. (1993).** Shelf-life prediction: theory and application. *FoodControl*, 4(3), 125-133.
- Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T. et Komaitis M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107(3): 1120– 1130.
- Gaucheron, F., Legraet Y. et Drange, G. (2004).** *Minéraux et produits laitiers Chapitre 1 : quelques définitions et principes de bases de la chimie des ions en solution.* Edition, Tec et Doc. Paris, P 960.
- Ghazi K., Guessas B., Niar A. et Louacini K.I. (2010).** Hygienic quality of cow milk, in various bovine breeds of Tiaret Area (Algeria). *Asian Journal of animal and veterinary advances*, 5(8): 592-596.
- Gibson, A. M., Bratchell, N., et Roberts, T. A. (1988).** Predicting microbial growth: growth responses of Salmonella in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *International Journal of Food Micro-biology*, 6, 155e178.
- Goetz, P. et Ghedira, K. (2012).** *Myrtus communis L. (Myrtaceae): Myrte, in: Phytothérapie anti-infectieuse, Collection Phytothérapie Pratique.* Springer Paris, P 313–320.

## References bibliographiques

---

**Gortzi O., Lalas S., Chinou I. et Tsaknis J. (2008).** Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *European food research and technology*, 226, 583-590.

**Grêté P. (1965).** *Précis de botanique, Systématique des angiospermes*. Tome II ; 2<sup>ème</sup> édition révisée, Faculté de Pharmacie de Paris, Masson, P 429.

**Guezlane-Tebibel, N., Kahlouche, B. et Athmani Gemouri S. (2010).** *Microbiologie*. Travaux pratiques, office des publications universitaires, 3<sup>ème</sup> édition, corrigé 4973 : P 99.

**Guinot Thomas P., Ammoury M. et Laurent F. (1995).** Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *International Dairy Journal* N° 5, 211-223.

**Guiraud JP, Rosec JP (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR: P.241.

**Guiraud JP. (1998).** *Microbiologie alimentaire*. Édition Dunod. Paris, P 121.

**Guiraud JP. (2003).** *Microbiologie Alimentaire*. Édition Dunod. Paris. P 136-139.

**Guiraud, J. et Galzy, P. (1980).** *L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires*.Édition l'usine, P 119.

**Guy FI. (2006).** *Élaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central*. Thèse de doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse -France, P 17.

**Hajar El Hartiti., Amine El Mostaphi., Mariam Barrahi., Aouatif Ben Ali. et Nabila Chahboun. (2020).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrtus communis* leaves, *Karbala International Journal of Modern Science*, 6. P 255.

**Hameed, U., Muhammad, A. B., Jahngeer, A., et Haq, I. (2015).** Determination of Microbial load of Drinking Water from different areas of Lahore. *Biologia (Pakistan)*, 61(1), 151-156.

**Hay R.J. (2006).** Fungal infections. *Clinics in Dermatology*, 24(3): 201–212.

**Heim E.K., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10): 572-584.

## **References bibliographiques**

---

**Hendry, E. R., Worthington, T., Conway, B. R., et Lambert, P. A. (2009).** Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 64(6), 1219–1225. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp362>.

**Hintz, T., Matthews, K. K., et Di, R. (2015).** The Use of Plant Antimicrobial Compounds for Food Preservation. *BioMed Research International*, 1–12.

**Hoden, A., et Coulon, J.B. (1991).** Maîtrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques (1).

**Hogan J., Gonzel R.,oliviere S. et Pankey J. (1999).** Étude comparative de la qualité physico chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardâa.

**Huang, L. (2013).** Optimization of a new mathematical model for bacterial growth. *Food Control*, 32(1), 283-288.

**Huang, L. (2014).** IPMP 2013 - A comprehensive data analysis tool for predictive microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 171:100-107.

**Iserin, P. (2001).** Enceclopedia of medicinal plants , Copyright (1996). *Dorling Kindersiey Limited, Londres*, P 336.

**ISO/DIS 9235.2. (1997).** Aromatic and Natural Raw Materials-Vocabulary. Geneva. International Standard Organisation.

**J.O.R.A. N° 35. (1998).** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers. (norme).

**Jacquet J. (1969).** Les antibiotiques dans le lait et les produits laitiers. *Econ, méd, anim.pp:* 10,13-17.

**Jakob, E. et Hänni, J.P. (2004).** Fromageabilité du lait. *Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions NI7F.*

**Jaspal, M. H., Ijaz, M., ul Haq, H. A., Yar, M. K., Asghar, B., Manzoor, A., et Hussain, J. (2021).** Effect of oregano essential oil or lactic acid treatments combined with air and modified atmosphere packaging on the quality and storage properties of chicken breast meat. *LWT*, 146, 111459.

## References bibliographiques

---

**Jay JM. (2000).** Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans *Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD*. P 13.

**Jeanet R., Thomas C., Michel M., Pierre S. et Gerard B. (2007).** *Produit laitiers*. Édition : Tec et Doc. La Voisier : 17, P 456 .

**Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P . et Brule G. (2008).** *Les produits laitiers*. 2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier,Paris, 1-3-13-14-17 (185 pages).

**J-M LARDRY. et VALÉRIE HABERKORN. (2007)** L'aromathérapie et les huiles essentielles *Kinesithérapie, la Revue*, 7(61): 14-17.

**JORA, (1998).** (Journal officiel de la république algérienne). Arrêté interministériel du 27 mai 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce N°35.

**Joseph MI., Pichon PN. et Raynaud J. (1987).** Flavonoid heterosides of the leaves of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae). *Pharmazie*. 42,142.

**Kalemba D et Kunicka A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10): 813-829.

**Kanoun K. (2011).** *Contribution À L'étude Phytochimique Et Activité Antioxydante Des Extraits De Myrtus Communis L. (rayhane) De La Région De Tlemcen (honaine)*, Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen.

**Keiling J., Wilde C. (1985).** Lait et produits laitiers le lait de la mamelle à la laiterie. P 207-208.

**Khalil, N., Dabour, N., et Kheadr, E. (2021).** Food Bio-Preservation: An Overview with Particular Attention to *Lactobacillus plantarum*. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 18(1), 33-50.

**Kim, H., Hardy, J., Novak, G., et Ramet, J. P. et Weber W.(1982).** *Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rom, ISBN, FAO, 15, 50.*

**Kornacki JL. et Marth EH. (1982).** Foodborne Illness Caused by *Escherichia coli*. *A Review. J Food Protection*, 45(11):1051-1067.

## References bibliographiques

---

**Kouamé-Sina S., Bassa A., Dadié A., KmakitaK., Grace D., Dje M. et Bonfoh B. (2010).** Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Revue Africaine de Santé et de Productions animales*, 8(S): 35-42.

**Labioui H., Elmoualdi L., Benzakour A., El yachioui M., Berny E. et Ouhssine M. (2009).** Étude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148(2009): 7-16.

**Lamontagne Michel Claud P., Champagne J., Reitz A., Sylvain M., Nancy G., Marysel, Julie J ., Ismail F. (2002).** Microbiologie de lait. Science et technologie de lait École polytechnique de Montréal.

**Lapointe-Vignola, C. (2002).** Science et technologie du lait : transformation du lait. *Presses inter Polytechnique*, 600.

**Lee, N. K., Jung, B. S., Yu, H. H., Kim, J. S., et Paik, H. D. (2016).** The impact of antimicrobial effect of chestnut inner shell extracts against *Campylobacter jejuni* in chicken meat. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 746-750.

**Lemire, G. (2007).** *Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitier En régie biologique.* Édition l'envol lait biologique. Québec, P 9.

**Levesque, P. (2007).** *La traite des vaches laitières Étape par étape vers la qualité Guide pratique.* Edition Educagri. Québec, P 79.

**Leyral, G. et Vierling, É. (2007).** *Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires.* 4 eme édition Biosciences et techniques, P 87.

**Li, S. N., Tang, S. H., Ren, R., Gong, J. X., & Chen, Y. M. (2021).** Metabolomic profile of milk fermented with *Streptococcus thermophilus* cocultured with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, or both during storage. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8493-8505.

**Li, Y., Weng, P., Wu, Z., et Liu, Y. (2023).** Extending the Shelf Life of Raw Milk and Pasteurized Milk with Plantaricin FB-2. *Foods*, 12(3), 608.

**Lovett J. (1989).** *Listeria monocytogenes.* In Foodborne, bacterial pathogens (M.P. Doyle, Edit.). Marcel Dekker Inc., New York, pp: 288-310.

## References bibliographiques

---

- Lupi O., Tying S.K. et McGinnis MR. (2005).** Tropical dermatology: Fungal tropical diseases. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53(6): 931–951.
- Mahboubi M. et Ghazian Bidgoli F. (2010).** In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine*, 17(10): 771–774.
- Mahieu H., Jaouen JC., Luquet GM. et Mouillet L. (1977).** Étude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. *Le lait*, 57, P 565-568.
- MAHMOUDI. (2014).** *Les plantes médicinales dans le jardin prophétique*. Edition dar El ImamMalek, P 8-18.
- Martin J. C. (2000).** Technologie des laits de consommation. Édition: *Uni Lait, Candia Direction Développement Technologique*, P 135.
- Martin T., Villaescusa L., De Sotto M., Lucia A. et Diaz AM. (1990).** Determination of anthocyanin pigments in *Myrtus communis* berries. *Fitoterapia*, 61(1).
- Massantini, R., Moschetti, R., et Frangipane, M. T. (2021).** Evaluating progress of chestnut quality: A review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 245-254.
- Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris. milk proteins. *Critical reviews in food science and nutrition*, 28, 115-136.
- Mathieu, J. (1999).** *Initiation à la physicochimie du lait*. Édition. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, P 3-190.
- McAuley C.M., Gobius K.S., Britz M.L. et Craven H.M. (2012).** Résistance thermique des entérocoques thermoduriques isolés du lait. *Int. J. Food Microbiol*, 154 : 162-168.
- Mehani Mouna, (2015).** *Activité Antimicrobienne Des Huiles Essentielles D'eucalyptus Camendulensis Dans La Région De Ouargla*, Thèse de Doctorat en Biologie, Département des Sciences Biologiques, Université Kasdi Merbah - OUARGLA, P 34-35.
- Messaoud C., Béjaoui A. et Boussaid M. (2011).** Fruit color, chemical and genetic diversity and structure of *Myrtus communis* L. var. *italica* Mill. morph populations. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(4-6): 570-580.

## References bibliographiques

---

- Messaoud C., Zaouali Y., Ben Salah A., Khoudja M.L. et Boussaid M. (2005).** *Myrtus communis* in Tunisia: variability of the essential oil composition in natural populations. *Flavour Fragrance Journal*, 20(6): 577-582
- Meyer, C. et Denis, J. P. (1999).** *Elevage de la vache laitière en zone tropicale*. Editions Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux, P 314.
- Migliore J. (2011)** *.Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre myrtus en méditerranée et au sahara*. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Paul Cézanne Aix-Marseille, P 64- 69.
- Migliore J., Baumel A., Juin M. et Médail F. (2012).** From Mediterranean shores to central Saharan mountains: key phylogeographical insights from the genus *Myrtus*. *Journal of Biogeography*, 39(5): 942–956.
- Mimica-Dukić N., Bugarin D., Grbović S., Mitić-Ćulafić D., Vuković-Gaćić B., Orčić D., Jovin E. et Couladis M. (2010).** Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(4): 2759-2770.
- Mitchell M. (2005).** Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait de chèvre. *Artificial Intelligence*, 170, 1194-1212.
- Moghrani H. et Maachi R. (2008).** Valorization of *Myrtus communis* Essential Oil Obtained by Steam Driving Distillation. *Asian Journal of Scientific Research*, 1(5): 518– 524.
- MOHAMADI, Y., LOGRADA, T., Ramdani, M., FIGUEREDO, G., et CHALARD, P. (2021).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrtus communis* essential oils from Algeria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(2).
- Montoro P., Tuberoso C I., Piacente S., Perrone A., De Feo V., Cabras P. et Pizza C. (2006).** Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5): 1614-1619.
- Montoro P., Tuberoso C. I., Piacente S., Perrone, A., De Feo V., Cabras P. et Pizza C. (2006).** Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5): 1614–1619.

## References bibliographiques

---

**Morel I. (1962).** Enquêtes sur la présence d'antibiotiques dans le lait de trois zones de production, 1962, *Le Lait*, 42(419-420): 593-601.

**Mottar J. (1984).** Influence de la durée de conservation sous réfrigération du lait cru sur la conservabilité du lait UHT. *Le Lait*, 64(635-637): 29-45.

**Nicolas Venturini. (2012).** *Contribution chimique a la definition de la qualite : exemples des spiritueux de myrte (Myrtus communis L.) et de cedrat (Citrus medica L.) de corse.* Thèse de Doctorat en chimie organique et analytique. Université de Corse-Pascal Paoli, P 66.

**Oudot, C. (1999).** *Génie alimentaire, la transformation des aliments.* Édition Casteilla, Paris, p 31-62.

**Owlia P., Saderi H., Rasooli I. et Sefidkon F. (2009).** Antimicrobial characteristics of some herbal oils on *Pseudomonas aeruginosa* with special reference to their chemical compositions. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8, 107-114.

**Paccalin J. et Galantier M. (1986).** *Valeur nutritionnelle du lait et des produits laitiers.* Luquet FM, éd. Lait et produits laitiers. Vache-brebis-chèvre. 3e éd. Cachan, France: Tec & Doc Lavoisier, 93-122.

**Palmeri, R., Parafati, L., Trippa, D., Siracusa, L., Arena, E., Restuccia, C et Fallico, B. (2019).** Addition of Olive Leaf Extract (OLE) for Producing Fortified Fresh Pasteurized Milk with An Extended Shelf Life. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(8), 255.

**Pereira P.C., Cebola M.J. et Bernardo-Gil M.G. (2009).** Evolution of the Yields and Composition of Essential Oil from Portuguese Myrtle (*Myrtus communis* L.) through the Vegetative Cycle. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 14(8): 3094–3105.

**Perreau, J.M. (2014).** *Conduire son troupeau de vaches laitières.* 2ème Ed. Agri production France Agricole, France, P 405.

**Pirbalouti AG, Hamedi B, Mehravar L et Firouznejhad M. (2014).** Diversity in chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of wild populations of myrtle from natural habitats in southwestern Iran. *Indian J Trad Knowl* 13 (3): 484-489.

**Quézel, P. et Santa, S. (1962).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.* Ed : CNRS, Paris. France,P 636.



## References bibliographiques

---

- Raats D., Offek M., Minz D. et Halpern M. (2011).** Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food Microbiol*, 28(3): 465–471.
- Randrianarivelo R, Sarter S, Odoux E, Brat P, Lebrun M, Romestand B, Menut C, Andrianoelisoa HS, Raherimandimby M et Danthu P. (2009).** Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cinnamosma fragrans*. *Food Chem* 114: 680-684. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.10.007.
- Rasooli I, Moosavi ML, Rezaee MB et Jaimand K. (2002).** Susceptibility of Microorganisms to *Myrtus communis* L. essential oil and its chemical composition. *J Agric Sci Technol* 4 (3): 127-133. DOI: 10.1.1.1020.6099.
- Rasooli I., Moosavi M.L., Rezaee M.B. et Jaimand K., (2002).** Susceptibility of Microorganisms to *Myrtus communis* L. Essential Oil and its Chemical Composition. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4, 127–133.
- Rivas da Silva, A. C., Lopes, P. M., Barros de Azevedo, M. M., Costa, D. C., Alviano, C. S., et Alviano, D. S. (2012).** Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomers. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(6), 6305–6316.
- Romani A., Coinu R., Carta S., Pinelli P., Galardi C., Vincieri FF. et Franconi F. (2004).** Evaluation of antioxidant effect of different extracts of *Myrtus communis* L. *Free Radic Research*, 38(1): 97–103.
- Romani A., Pinelli P., Mulinacci N., Vincieri FF. et Tattini M. (1999).** Identification and quantification of polyphenols in leaves of *Myrtus communis*. *Chromatographia*, 49: 17–20. .
- Sadiki M, Balouiri M, Barkai H, Maataoui H, Ibsoud Koraichi S et Elabed S. (2014).** Synergistic antibacterial effect of *Myrtus communis* and *Thymus vulgaris* essential oils fractional inhibitory concentration index. *Intl J Pharm Pharmaceut Sci* 6 (6): 121-124.
- Saraiva C., Silva AC., García-Díez J., Cenci-Goga B., Grispoldi L., Silva AF. et Almeida J M. (2021).** Antimicrobial Activity of *Myrtus communis* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils against *Listeria monocytogenes* in Cheese. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(5): 1106.

## References bibliographiques

---

**Saraiva, C., Silva, A. C., García-Díez, J., Cenci-Goga, B., Grispoldi, L., Silva, A. F et Almeida, J. M. (2021).** Antimicrobial Activity of *Myrtus communis* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils against *Listeria monocytogenes* in Cheese. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(5), 1106.

**Satrani B., Farah A. et Talbi M. (2006).** Fractional distillation effect on the chemical composition and antimicrobial activity of Moroccan Myrtle (*Myrtus communis* L.). *Acta Bot Gallica*, 153(2): 235-242.

**Seelinger, H.P.R et Jones, D. (1986).** Listeria. In" Bergey's Manual of Systematic Bacteriology"(P HA Sneath, NS Mair, NE Sharpe, and JG Holt, eds.), P 1235-1245

**SENOUSSI CH. (2011).** *Les protéines sériques du lait camelin collecte dans trois régions du sud algérien : essai de séparation et caractérisation de la fraction proteose peptone*, Mémoire de magister, Université Mouloud Mammeri-Tizi ouzou-Algérie, P 3-20.

**Serrer, A., Boubendir, A., Bouchair, K., et Boutellaa, S. (2023).** Effect of Rosemary and Oregano Aqueous Extracts Supplementation on Microbial Growth during Refrigerated Storage of Milk. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 88(1), 67-73.

**SIBOUKEUR O. (2007).** *Étude du lait camelin collecte localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes a la coagulation*, thèse de doctorat, institut national agronomique El-Harrach-Algérie, P 22.

**Sikine M. (2013).** *Suivi la viscosité et la texture des produits laitiers*, Mémoire de Master en Sciences et Techniques, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah-Fès (Maroc), P 5-9.

**Smeti, S., Tibaoui, S., Bertolín, J. R., Yagoubi, Y., Mekki, I., Joy, M., et Atti, N. (2021).** Effects of myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oils as dietary antioxidant supplementation on carcass and meat quality of goat meat. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 105(3), 452-461.

**Srairi M.T. et Hamama A. (2006).** Qualité globale du lait cru de vache au Maroc concept, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture. Bulletin réalisé à l'institut agronomique et Vétérinaire Hassan II. Rabat, N°137.

## References bibliographiques

---

- Stewart, P. (1974).** Un nouveau climagramme pour l'Algérie et son application au barrage vert. *Bull Soc Hist Nat Afrique du Nord*, 65, 239-248.
- Stoll, W. et Posieux, R. (2003).** Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. *RAP Agri*, (15).
- Tajkarimi M.M., Ibrahim S.A. et Cliver D.O. (2010).** Antimicrobial herb and spice compound in food. *Food Control*, 21(9): 1199-1218.
- Thieulin G. et Vuillaume.R. (1967).** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des œufs, *revue générale des questions laitières* 48 avenue, 388:71-73.
- Tibaoui, S., Essid, I., Smeti, S et Atti, N. (2023).** Effect of myrtle leaves integration in sheep diet and its addition as powder on leg meat' oxidative stability, physicochemical, microbiological and sensory properties during storage. *Food science & nutrition*, 11(4), 1860–1871.
- Touaibia. (2015).** Antimicrobial activity of the essential oil of *Myrtus communis* L. berries growing wild in algeria. *journal of fundamental and applied sciences*, 7(2): 150-162
- Toudert-Taleb K., Hedjal-Chebheb M., Hami H., Debras J.F. et Kellouche A. (2014).** Composition of Essential Oils Extracted from Six Aromatic Plants of Kabylia Origin (Algeria) and Evaluation of Their Bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *African Entomology*, 22(2): 417–427.
- Tuberoso C I G., Rosa A., Bifulco E., Melis M P., Atzeri A., Pirisi F M . et Dessi M A. (2010).** Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food chemistry*, 123(4):1242-1251.
- Tuberoso C.I.G., Barra A., Angioni A., Sarritzu E. et Pirisi F.M. (2006).** Chemical Composition of Volatiles in Sardinian Myrtle *Myrtus communis* L. Alcoholic Extracts and Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,54(4): 1420-1426.
- Tzima, K., Makris, D., Nikiforidis, C. V., et Mourtzinos, I. (2015).** Potential use of rosemary, propolis and thyme as natural food preservatives. *J. Nutr. Health*, 1(6).
- Vanier, P. (2005).** Le lait au fil du temps. *Usages culinaires, Conservation, Ecologie et environnement*. P 65.

## References bibliographiques

---

- Varnam, A. et Sutherland, J. P. (2001).** *Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology* (Vol. 1). Springer Science & Business Media, P 35-37.
- Veisseyre, R. (1975).** Technologie du lait: Principes des techniques laitières 3ème éd. Paris, SEPAIC, P 714.
- Veullot, M. (2001).** Plantes: usages et statuts juridiques. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, (44), 119-132.
- Vierling, E. (1998).** Aliments et boissons filières et produits biosciences. Edition. Dion. Paris. P 278.
- Vierling, E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition DOIN éditeurs. Centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine. P 270.
- Vignola Carole L. (2002).** *Science et technologie du lait: transformation du lait*. Presses inter Polytechnique de Montréal(Canada). P 29-34-600.
- Vilain, A. C. (2010).** Qu'est-ce que le lait?. *Revue française d'allergologie*, 50(3): 124-127.
- Vithanage, N. R., Dissanayake, M., Bolge, G., Palombo, E. A., Yeager, T. R., et Datta, N. (2017).** Microbiological quality of raw milk attributable to prolonged refrigeration conditions. *Journal of Dairy Research*, 84(1), 92-101.
- Watier B. (1992).** Vitamines et technologie alimentaire In "Aspects nutritionnels des constituants des aliments. Influence des technologies". Edition. Tec et Doc . Lavoisier, Paris. pp : 197-216.
- Weber, F. (1985).** *Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports* (Vol. 47). Food & Agriculture Org.
- Weyerstahl P., Marschall H. et Rustaiyan A. (1994).** Constituents of the essential oil of *Myrtus communis* L. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 9(6): 333–337.
- Yadegarinia D., Gachkar L., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. et Rasooli I. (2006).** Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12): 1249-1255.

## **References bibliographiques**

---

**Zamuz, S., López-Pedrouso, M., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Domínguez, H., et Franco, D. (2018).** Application of hull, bur and leaf chestnut extracts on the shelf-life of beef patties stored under MAP: Evaluation of their impact on physicochemical properties, lipid oxidation, antioxidant, and antimicrobial potential. *Food Research International*, 112, 263-273.

**Zomorodian K., Moien M., Goeini Lori Z., Ghasemi Y., Rahimi Javad M., Bandegani A., Pakshir K., Bazargani A., Mirzamohammadi S. et Abassi N. (2013).** Chemical Composition and Antimicrobial activities of the essential oil from *Myrtus communis* leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1): 76-84.

## Résumé

L'objectif de cette étude était de déterminer l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. sur la croissance microbienne, le pH et l'acidité du lait cru de vache pendant le stockage réfrigéré à 4°C. L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation, de type Clevenger, avec un rendement de 0,469 % et son effet antibactérien a été confirmé contre *E.coli* ATCC 25922, avec une zone d'inhibition de  $11,25 \pm 0,5$  mm. Différentes concentrations d'huile essentielle de *M. communis* (0 ; 2,5 ; 5 et 10 mg mL<sup>-1</sup>) ont été ajoutées à des échantillons de lait et ont été stockées à 4°C pendant huit jours pour suivre l'évolution de la croissance de la flore totale aérobie mésophile, du pH et de l'acidité Dornic. Le dénombrement de la flore mésophile a été réalisé par des méthodes de culture sur gélose. Les résultats ont montré que la durée de conservation du lait cru a été prolongée de 8,178 jours avec une concentration de 5mg/ml (par rapport à 5,814 jours pour le témoin), soit une prolongation de 2,364 jours (ou 56,736 heures). L'ajout d'huile essentielle de *M. communis* a amélioré la stabilité globale du lait lors du stockage réfrigéré, prolongeant ainsi sa durée de conservation. Cette étude pourrait avoir des retombées positives pour l'industrie alimentaire et la santé publique en proposant une alternative naturelle pour prolonger la durée de conservation du lait et prévenir la détérioration microbienne pendant le stockage.

**Mots clés :** Huile essentielle, *Myrtus communis* L., lait cru, conservation, stockage réfrigéré à 4°C, croissance microbienne, flore totale aérobie mésophile, pH, acidité, antibactérien, durée de conservation, industrie alimentaire, santé publique.

## Abstract

The objective of this study was to determine the effect of supplementation with *Myrtus communis* L. essential oil on microbial growth, pH, and Dornic acidity of raw cow's milk during refrigerated storage at 4°C. The essential oil was extracted by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus, with a yield of 0.469%, and its antibacterial effect was confirmed against *E.coli* ATCC 25922, with an inhibition zone of  $11.25 \pm 0.5$  mm. Different concentrations of *M. communis* essential oil (0 ; 2.5 ; 5 and 10 mg/mL) were added to milk samples and stored at 4°C for eight days to monitor the evolution of total aerobic mesophilic flora growth, pH, and Dornic acidity. The mesophilic flora count was performed using culture methods on agar. The results showed that the shelf life of raw milk was extended by 8.178 days with a concentration of 5mg/mL (compared to 5.814 days for the control), representing an extension of 2.364 days (or 56,736 hours). The addition of *M. communis* essential oil improved the overall stability of milk during refrigerated storage, thus prolonging its shelf life. This study could have positive implications for the food industry and public health by offering a natural alternative to extend the shelf life of milk and prevent microbial deterioration during storage.

**Keywords:** Essential oil, *Myrtus communis* L., raw milk, conservation, refrigerated storage at 4°C, microbial growth, total aerobic mesophilic flora, pH, acidity, antibacterial, shelf life, food industry, public health.

## ملخص

كان الهدف من هذه الدراسة تحديد تأثير إضافة زيت الأساسي لنبات الأس العطري على نمو الميكروبات ودرجة الحموضة والحموضة لحليب البقر الخام أثناء التخزين البارد عند درجة حرارة 4 درجات مئوية. تم استخراج الزيت الأساسي بواسطة الإستخلاص بالبخار باستخدام جهاز من نوع Clevenger بمردود 0.469% ، وتم تأكيد تأثيره المضاد للبكتيريا ضد *E.coli* ATCC 25922 هي  $0.5 \pm 11.25$  مم. تم إضافة تراكيز مختلفة من زيت الأس العطري (0; 2.5 ; 5 و 10 ملغ/مل) إلى عينات الحليب وتخزينها عند درجة حرارة 4 درجات مئوية لمدة ثمانية أيام لمراقبة تطور نمو الكائنات الحية الهوائية العنقودية الكلية ودرجة الحموضة ودرجة pH. تم إجراء عد الكائنات الحية الهوائية العنقودية الكلية بواسطة طرق الزرع على أجار. أظهرت النتائج أن فترة صلاحية الحليب الخام تم تمديدتها بمقدار 8.178 يومًا مع تركيز 5 ملغ/مل (بالمقارنة مع 5.814 يومًا للمجموعة الضابطة)، مما يمثل تمديدًا بمقدار 2.364 يومًا (أو 56,736 ساعة). أدى إضافة زيت الأس العطري إلى تحسين الاستقرار العام للحليب أثناء التخزين البارد، مما يؤدي إلى تمديد فترة العمر الافتراضي للحليب. يمكن أن تكون هذه الدراسة لها آثار إيجابية على صناعة الأغذية والصحة العامة من خلال تقديم بديل طبيعي لتمديد فترة صلاحية الحليب والوقاية من التدهور الميكروبي أثناء التخزين.

**الكلمات الرئيسية:** زيت أساسي، ، حليب خام، الحفظ، التخزين البارد عند درجة حرارة 4 درجات مئوية، نمو الميكروبات، الكائنات الحية الهوائية العنقودية الكلية، درجة pH، الحموضة ، المضاد للبكتيريا، العمر الافتراضي للحليب، صناعة الأغذية، الصحة العامة.