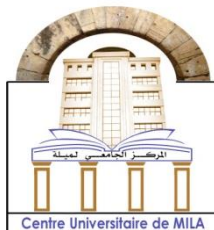


N° Ref :.....



## 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 des caractéristiques microbiologiques du lait bovin  
réfrigéré et supplémenté en huile essentielle de *Laurus nobilis* L.**

Présenté par :

- **KHELIFA Amir**
- **BENDJEDDOU Ali**

Devant le jury composé de :

Présidente : **AMARI Salima**

M.A.A. Centre Universitaire de Mila.

Examineur : **BOUBENDIR Abdelhafid**

Professeur. Centre Universitaire de Mila.

Promotrice : **BOUCHEKRIT Moufida**

M.C.A. Centre Universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2022/2023

## *Remerciements*

*Nous remercions avant tout, **ALLAH** tout puissant de nous avoir donné l'esprit, la volonté, le courage, le savoir et nous avoir gardé en bonne santé afin de mener à bien ce projet de fin d'étude.*

*Nous tenons à remercier plus particulièrement :*

***M<sup>me</sup>. Moufida BOUCHEKIT**, Maître de conférences « A » au Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, qui nous a encadré et témoignée de sa confiance et de son aide scientifique tout au long de notre projet de fin d'études.*

*Nous adressons aussi nos plus vifs remerciements à **M<sup>me</sup>. Salima AMARI**, Maître Assistant « A » au Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, le président du jury d'avoir bien voulu s'intéresser et d'accepter de juger ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier beaucoup **M. Abdelhafid BOUBENDIR**, Professeur au Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, nous sommes très honorés de sa présence dans ce jury.*

*Enfin nous remercions toutes les personnes qui nous ont aidés de près et de loin pour la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*A mes chers parents, « Tounsi » et « Fatima » pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*A mes chers frères, Zoheyr, Ahmed et Khireddine pour leur appui et leur encouragement,*

*A mes chères sœurs Nadia, Kaouter, Khadidja, Hadjer et Azhar pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*A mon binôme Ali pour son présence tout au long de mon parcours, son patience, son compréhension, son aide pour réaliser ce modeste travail.*

*A tous mes amis «Seif Eddine, Youssouf, Islam, Mohammed et Oussama» qui ont été là pour moi quand j'en avais besoin.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Amir*

## *Dédicace*

*A mes chers parents, « **Said** » et « **Rabïaa** » pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*A mon cher frère, **Abdennour** pour son appui et son encouragement,*

*A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*A mon binôme **Amir** pour son présence tout au long de mon parcours, son patience, son compréhension, son aide pour réaliser ce modeste travail.*

*A tous mes amis « **Seïf Eddine, Youssouf, Islam et Zaki** » qui ont été là pour moi quand j'en avais besoin.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Ali*

## *Table des matières*

Remerciements	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des abréviations .....	I
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux .....	V
Introduction .....	1

### *Partie Bibliographique*

#### *Chapitre I : Lait cru de vache*

1. Définition du lait.....	3
1.1. Définition de lait cru.....	3
2. Les Caractéristiques physiques du lait.....	4
2.1. pH .....	4
2.2. Acidité titrable .....	4
2.3. Densité.....	4
2.4. Viscosité .....	5
2.5. Point de congélation du lait .....	5
3. Composition chimique du lait de vache .....	6
3.1. Eau.....	7
3.2. Glucides.....	7
3.3. Protéines .....	8
3.4. Matières grasses .....	8
3.5. Matières azotées .....	9
3.6. Minéraux .....	9
3.7. Vitamines.....	10
3.8. Enzymes .....	11
4. Qualité organoleptique .....	13
4.1. Couleur .....	13
4.2. Odeur .....	13

---

4.3. Saveur.....	13
4.4. Viscosité .....	13
5. Microbiologie du lait .....	14
5.1. Flore indigène ou originelle .....	14
5.2. Flore de contamination du lait.....	15
5.3. Flore pathogène .....	15
5.4. Flore d'altération .....	16
6. Sources de contamination du lait.....	16
7. Méthodes de conservation .....	17
7.1. Techniques de conservation par le froid.....	18
7.1.1. Réfrigération.....	18
7.1.2. Congélation .....	18
7.1.3. Surgélation.....	19
7.2. Techniques de conservation par la chaleur.....	19
7.2.1. Pasteurisation .....	20
7.2.1.1. Pasteurisation basse.....	20
7.2.1.2. Pasteurisation haute.....	20
7.2.1.3. Flash pasteurisation .....	21
7.2.2. Appertisation .....	21
7.2.3. Technique UHT .....	21
7.2.4. Stérilisation.....	22
7.3. Techniques de conservation par séparation et élimination d'eau « déshydratation ».....	22
7.3.1. Séchage.....	22
7.3.2. Lyophilisation.....	22
8. Composants indésirables du lait .....	23
8.1. Antibiotiques .....	23
8.2. Pesticides .....	23
8.3. Polychlorodryphényles .....	24
8.4. Métaux.....	24

## *Chapitre II : Laurus nobilis L.*

1. Aperçu sur les plantes médicinales .....	25
1.1. Famille des lauracées.....	25
1.2. Plante du laurier noble.....	25
1.3. Historique .....	26
1.4. Origine.....	26
1.5. Etymologie du nom <i>Laurus nobilis</i> L.....	26
1.6. Position systématique du laurier noble.....	27
1.7. Description botanique.....	28
1.8. Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	30
2. Composition chimique de <i>Laurus nobilis</i> .....	31
3. Huile essentielle du laurier noble .....	32
4. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .....	32
5. Utilisation traditionnelle et vertus thérapeutiques des feuilles <i>Laurus nobilis</i> .....	36
6. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .....	37
7. Applications de <i>Laurus nobilis</i> dans le domaine alimentaire .....	43

### *Partie Expérimentale*

## *Chapitre III: Matériel et Méthodes*

1. Matériel utilisé.....	44
2. Matériel végétal .....	44
2.1. Provenance du matériel végétal.....	44
2.2. Préparation de matériel végétal .....	45
2.2.1. Séchage.....	45
2.2.2. Broyage .....	46
3. Extraction et conservation de l'huile essentielle du laurier noble .....	46
3.1. Principe d'extraction .....	46
3.2. Conservation de l'huile essentielle.....	47
3.3. Calcul du rendement.....	48
4. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de laurier noble .....	48
4.1. Milieux de culture .....	49

---

4.1.1. Préparation des milieux de culture .....	49
4.2. Préparation de l'eau physiologique .....	51
4.3. Préparation de l'inoculum .....	51
4.3.1. Préparation de la préculture.....	51
4.3.2. Préparation de la suspension bactérienne.....	52
4.4. Ensemencement des souches bactériennes.....	52
4.5. Aromatogramme .....	53
4.5.1. Préparation des dilutions de l'huile essentielle .....	53
4.5.2. Dépôt des disques sur la gélose Mueller-Hinton.....	54
4.5.3. Lecture d'aromatogramme .....	55
5. Échantillonnage du lait .....	55
5.1. Préparation des échantillons de lait cru de vache.....	56
5.2. Ajout de l'huile essentielle de laurier noble au lait .....	57
5.3. Préparation des dilutions décimales .....	57
6. Suivi de la cinétique de croissance microbienne .....	58
6.1. Culture bactérienne.....	58
6.2. Dénombrement .....	58
6.3. Détermination du nombre UFC/ml.....	60
7. Analyses physicochimiques .....	60
7.1. Mesure de l'acidité .....	60
7.2. Mesure du pH .....	61

### ***Chapitre IV : Résultats et discussion***

1. Résultats .....	63
1.1. Le rendement d'extraction.....	63
1.2. Activité antibactérienne .....	63
1.3. Suivi de la croissance microbienne .....	65
1.3.1. Analyse biomathématique .....	68
1.3.1.1. Détermination des paramètres cinétiques de la croissance microbienne .....	68
1.4. Analyses physicochimiques.....	72
1.4.1. Variation du pH .....	72



1.4.2. Variation de l'acidité .....	73
2. Discussion.....	74
Conclusion .....	78
Perspectives .....	79
Références Bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

*Liste des abréviations*

**A** : Acidité

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**A<sub>w</sub>** : Activité de l'eau

**Ca** : Calcium

**CEE** : Communauté économique européenne

**CMI** : Concentration minimal inhibitrice

**D°** : Degré Dornic

**DLC** : Date limite de consommation

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**D<sub>o</sub>** : Densité optique

**FAO** : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture

**FTAM** : Flore Totale aérobie Mésophile

**GMH** : Gélose Mueller-Hinton

**GN** : Gélose nutritive

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Acide phosphorique

**H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>** : Ion hydronium

**HCl** : Acide chlorhydrique

**HE** : Huile Essentielle

**HTST** : Pasteurisation à haute Température et courte durée

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

**K** : Potassium

**LAB** : Bactéries lactiques

**LTLT** : Pasteurisation basse Température et longue durée

**Mg** : Magnésium

**Ms** : siemens par mètre

**Na** : Sodium

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**NCCLS** : Comité national des normes de laboratoire clinique

**PMVS** : Poids de la matière végétale sèche

**PHE** : Poids de l'huile essentielle

**PCB** : Polychlorobiphényles

**Pg** : Picogram

**pH** : Potentiel hydrogène

**R** : Rendement en huile essentielle

**sp** : Espèce

**T** : Témoin

**UFC** : Unité formant colonie

**UHT** : Upérisation à Haute Température

**ZI** : Zone d'Inhibition

**$\mu_{\max}$**  : Taux de croissance maximale

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : Composition de la matière grasse du lait de vache .....	9
<b>Figure 02</b> : Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	28
<b>Figure 03</b> : Feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .....	29
<b>Figure 04</b> : Répartition géographique des Lauracées à travers le monde.....	31
<b>Figure 05</b> : Situation géographique de la région de récolte de feuilles de <i>Laurus nobilis</i> (sbikhia).....	44
<b>Figure 06</b> : Photographie originale de l'espèce <i>Laurus nobilis</i> .....	45
<b>Figure 07</b> : Feuilles séchées de <i>Laurus nobilis</i> , photographie originale .....	45
<b>Figure 08</b> : Fractions de feuilles de <i>Laurus nobilis</i> , photo originale .....	46
<b>Figure 09</b> : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger, photo originale .....	47
<b>Figure 10</b> : Séparation de l'huile essentielle de laurier noble et l'hydrolat, photo originale ..	47
<b>Figure 11</b> : Huile essentielle de laurier noble, photo originale.....	48
<b>Figure 12</b> : Souches bactériennes utilisées photo originale.....	49
<b>Figure 13</b> : Préparation de milieu de culture gélose nutritive. ....	50
<b>Figure 14</b> : Préparation de milieu de culture gélose Mueller Hinton. ....	51
<b>Figure 15</b> : Préparation de l'eau physiologique.....	51
<b>Figure 16</b> : réactivation des souches bactériennes.....	52
<b>Figure 17</b> : Préparation de la suspension bactérienne. ....	52
<b>Figure 18</b> : Ensemencement des souches bactériennes. ....	53
<b>Figure 19</b> : préparation de la gamme de concentration décroissante en huile essentielle de laurier noble.....	54
<b>Figure 20</b> : Application des disques et dépôt de l'HE de laurier noble sur la surface de gélose Mueller Hinton. ....	54
<b>Figure 21</b> : Région de prélèvement de lait cru de vache. ....	55
<b>Figure 22</b> : Fiche Technique et caractéristiques de la vache laitière d'étude. ....	56
<b>Figure 23</b> : Préparation des échantillons de lait.....	57
<b>Figure 24</b> : Supplémentation de lait en huile essentielle de laurier noble. ....	57
<b>Figure 25</b> : Culture en masse des échantillons de lait. ....	58

<b>Figure 26</b> : Étapes de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile.....	59
<b>Figure 27</b> : Titration de l'acidité des échantillons de lait.....	61
<b>Figure 28</b> : Mesure du pH du lait durant huit jours de réfrigération. ....	62
<b>Figure 29</b> : Aromatogramme de souches testées .....	65
<b>Figure 30</b> : Courbes de croissance microbienne du FTAM dans le lait réfrigéré (4°C) non supplémenté et supplémenté de différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> pendant 8 jours.....	66
<b>Figure 31</b> : Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> à 10mg/ml par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts). ....	66
<b>Figure 32</b> : Evolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> à 5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts). ....	67
<b>Figure 33</b> : Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> à 2,5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts). ....	67
<b>Figure 34</b> : Charge microbienne initiale.....	69
<b>Figure 35</b> : Taux de croissance maximale. ....	69
<b>Figure 36</b> : Durée de la Phase de latence.....	70
<b>Figure 37</b> : Charge microbienne maximale. ....	71
<b>Figure 38</b> : Relation de régression linéaire entre la croissance microbienne maximale et les concentrations de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> ajoutées au lait réfrigéré à 4 °C. ....	71
<b>Figure 39</b> : Suivi de l'évolution de pH des échantillons du lait au cours de 8 jours. ....	72
<b>Figure 40</b> : Suivi de l'acidité Dornic des échantillons du lait au cours de 8 jours. ....	73

*Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Les paramètres physico-chimique du lait de vache .....	5
<b>Tableau 02</b> : Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/litre). .....	10
<b>Tableau 03</b> : Composition vitaminique moyenne du lait cru.....	11
<b>Tableau 04</b> : Caractéristiques des principaux enzymes du lait.....	12
<b>Tableau 05</b> : Compositions nutritionnelles moyennes du lait de vache .....	6
<b>Tableau 06</b> : caractéristiques organoleptiques du lait.....	13
<b>Tableau 07</b> : Flore originelle du lait cru de vache .....	15
<b>Tableau 08</b> : Dénomination internationale de <i>Laurus nobilis</i> L.....	27
<b>Tableau 09</b> : Classification botanique du laurier noble .....	27
<b>Tableau 10</b> : Familles des composants chimiques de l'HE de <i>Laurus nobilis</i> .....	33
<b>Tableau 11</b> : Variation de la composition chimique de l'HE des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> dans différents pays. ....	34
<b>Tableau 12</b> : Activité antimicrobienne (concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Diamètres des zones d'inhibition (ZI) de l'HE de feuilles de laurier noble.....	39
<b>Tableau 13</b> : Rendement de l'huile essentielle des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> L.....	63
<b>Tableau 14</b> : Activité antibactérienne de l'huile essteielle des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> .....	63
<b>Tableau 15</b> : Les valeurs des paramètres de croissance microbienne de la flore totale aérobie mésophile de lait obtenus par le modèle Baranyi et Roberts.....	68

---

# *Introduction*

---

## **Introduction**

Malgré le progrès des méthodes de conservation des aliments, la nature des conservateurs reste l'un des vrais problèmes à prendre en compte pour la préservation de la santé des consommateurs. Pour faire face aux problèmes de contamination et d'oxydation des denrées alimentaires, le développement de la chimie a favorisé l'apparition et l'application de nouvelles substances chimiques telles que les benzoates, les sulfites, le chlorure de calcium, l'acide citrique, etc. Par la suite, plusieurs conservateurs de synthèse ont été interdits dans certains pays en raison de leurs effets toxicologiques néfastes à long terme. La tendance actuelle des consommateurs de chercher une alimentation plus saine est orientée vers l'utilisation des produits naturels ayant une activité antimicrobienne et antioxydante comme les huiles essentielles. Ces extraits de plantes aromatiques, dont le pouvoir antioxydant et antibactérien a été largement prouvé dans la littérature, sont riches en substances bioactives (**Christian et al., 2023**).

Le lait est un substrat très riche en éléments nutritifs, fournissant ainsi à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment complet. En effet, les protéides, les glucides, les lipides, les sels minéraux et les vitamines sont présents à des concentrations tout à fait satisfaisantes pour la croissance de l'homme (**Bourgois et al., 1996**). Il a une durée de vie courte car il représente un excellent milieu de la croissance microbienne, que ce soit les bactéries de la flore naturelle ou celles pathogènes qui peuvent altérer le produit et causer des maladies chez les consommateurs. L'industrie laitière s'intéresse beaucoup à ce sujet par ce qu'elles limitent la durée de conservation et la qualité organoleptique des produits laitiers par la modification de leur goût, de leur couleur et de leur texture (**Decimo et al., 2014**).

Les herbes ont été utilisées non seulement comme arôme alimentaire, mais aussi pour leurs propriétés médicinales. Les constituants antimicrobiens et antioxydants présents dans les herbes leur permettent d'être utilisés comme conservateurs efficaces. L'incorporation d'herbes dans les produits laitiers peut entraîner une amélioration de la durée de vie du produit ainsi que l'état de santé humaine (**Oraon et al., 2017**). En effet, laurier noble, *Laurus nobilis* L., est une plante médicinale et aromatique, appartenant à la famille des Lauracées, revêtant une grande importance dans la médecine traditionnelle et est utilisée aussi dans l'industrie alimentaire et cosmétique. Depuis longtemps, il est utilisé phytothérapie pour ses nombreuses propriétés pharmacologiques entre autres : l'effet antibactérien, antioxydant, anticancéreux, insecticide et antifongique (**Bendjersia et al., 2016**).

Au cours des dernières décennies, une attention particulière a été accordée à l'importance



des produits naturels pour se protéger contre l'altération des aliments, et notamment l'utilisation des huiles essentielles qui constituent une source importante des agents naturels pour la conservation des aliments en raison de leurs propriétés antimicrobiennes (**Wu et al., 2022; Ju et al., 2022; Zheng et al., 2023**).

Dans ce cadre, cette étude expérimentale vise à évaluer et à suivre l'effet de l'ajout de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* L. sur la qualité et la dynamique microbienne du lait de vache et de déterminer la possibilité d'utiliser cette huile en tant que conservateur naturel du lait de vache réfrigéré.

Le manuscrit est scindé en deux grandes parties, une première partie réservée à la synthèse bibliographique et une seconde partie consacrée à l'étude expérimentale. La synthèse bibliographique comporte deux chapitres, le premier chapitre rapporte des informations sur le lait cru de vache, alors que le deuxième chapitre comprend des généralités sur la plante *Laurus nobilis* L. La partie expérimentale est aussi subdivisée en deux chapitres, dont le premier chapitre décrit d'une manière objective le matériel utilisé et la méthodologie expérimentale adoptée, tandis que le deuxième chapitre est consacré à la présentation des principaux résultats obtenus et leur discussion. Le document est terminé par une conclusion et quelques perspectives.

---

*Partie Bibliographique*

---

---

*Chapitre I*  
*Lait cru de vache*

---

## **1. Définition du lait**

La première fois que le lait a été officiellement défini remonte à 1908 lors du Congrès international de la Répression des Fraudes à Paris. À cette occasion, le terme "lait" a été précisément défini comme étant : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ». Selon le décret du 25 mars 1924, le terme « lait » sans précision de l'espèce animale est réservé au lait de vache. Si le lait provient d'une femelle laitière autre que la vache, il doit être désigné par la dénomination « lait » suivie de l'indication de l'espèce dont il provient, par exemple « lait de chèvre » ou « lait de brebis ». Le règlement européen 1234/2007 annexe XII donne également une définition du lait et établit les conditions d'utilisation de cette dénomination. En outre, la décision de la commission du 28 octobre 1988 (88/566/CEE) établit une liste des dénominations qui ne sont pas compatibles avec le règlement : tous les liquides blancs ne peuvent donc pas être appelés « lait ». Toutefois, certains liquides blancs, tels que le lait d'amande et le lait de coco, sont acceptés en raison de leur utilisation traditionnelle. Pour les liquides blancs ne pouvant pas être appelés lait, il est possible d'utiliser les termes « boisson » ou « jus ». Les boissons végétales ont une composition nutritionnelle différente de celle des laits animaux (**Noblet, 2012**).

Le lait de vache présente une apparence opaque de couleur blanche mate qui peut être légèrement jaunâtre en fonction de la quantité de matière grasse et de bêta-carotène qu'il contient. Bien que son odeur ne soit pas très prononcée, elle reste caractéristique. Le goût de ce lait varie selon les espèces animales, mais est généralement doux et agréable en bouche (**Goursaud, 1985**).

Il est possible que le lait serve de moyen de propagation de micro-organismes pathogènes à l'homme, représentant ainsi un danger pour la santé humaine (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

### **1.1. Définition de lait cru**

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement, à l'exception de la réfrigération immédiate après la traite à la ferme. Il est conditionné sur place et livré aux points de vente chaque jour. Les producteurs qui souhaitent commercialiser du lait cru doivent répondre à certaines conditions établies par l'arrêté du 3 août 1984, notamment en termes de patente sanitaire et médicale. De plus, ils doivent être immatriculés officiellement et le lait doit être conditionné sur le lieu de production. Ce lait est vendu en bouteilles à bouchons jaunes ou en

sachets barrés de jaune, uniquement en rayon réfrigéré et sa DLC (Date limite de consommation) est de 72 heures. Sa teneur en matière grasse n'est pas affichée sur l'emballage et peut varier entre 3,6 et 4,5%. Le lait cru est légèrement plus onctueux et aromatique que le lait pasteurisé, mais il est recommandé de le faire bouillir quelques minutes avant de le consommer pour éliminer les bactéries potentiellement présentes (**Noblet, 2012**).

## **2. Les Caractéristiques physiques du lait**

Le lait est un liquide complexe composé principalement d'eau à hauteur de 90%, et qui contient également une solution vraie contenant des sucres, des protéines solubles, des minéraux et des vitamines hydrosolubles. Il comprend également une solution colloïdale contenant des protéines, en particulier les caséines, ainsi qu'une émulsion de matières grasses dans l'eau (**Leymarios, 2010**).

### **2.1. pH**

Le pH du lait peut varier selon l'espèce animale et les conditions environnementales. Pour le lait de vache, le pH se situe généralement entre 6,5 et 6,8. (**Vignola, 2002**). D'après **Abotayube, (2011)**, le colostrum a un pH plus acide que le lait normal, tandis que le lait en fin de lactation ou provenant de vaches malades a un pH plus élevé. Et d'après **Crognunec et al., (2008)**, La diminution du pH du lait est causée par une augmentation de la concentration des ions dans le lait, qui est due à une augmentation de la proportion de caséines.

### **2.2. Acidité titrable**

Selon **Abotayeb (2011)**, l'acidité du lait est déterminée en considérant l'équilibre entre les constituants basiques tels que le sodium, le potassium, le magnésium, le calcium et l'hydrogène, et les constituants acides tels que les phosphates, les citrates, les chlorures, les carbonates, les hydroxyles et les protéines.

L'acidité est un paramètre essentiel pour l'industrie laitière

L'acidité indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais à une acidité de titrations de 16 à 18 °doronic (D°) conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**).

### **2.3. Densité**

La densité du lait est définie comme étant le rapport entre sa masse volumique et celle de l'eau, et pour les laits de grand mélange, elle est d'environ 1,032 à une température de 20°C.

Cette valeur de densité est proche de celle de l'eau, ce qui signifie que le lait a un poids et un volume similaires.

La densité du lait peut varier en fonction de différents facteurs, tels que la teneur en matières grasses ou la concentration des éléments dissous et en suspension. Par exemple, un lait écrémé aura une densité plus élevée qu'un lait entier. De plus, la densité peut également diminuer en cas de dilution, telle que le mouillage (Fredot, 2005).

#### 2.4. Viscosité

La qualité du lait dépend en grande partie de sa viscosité, qui est une propriété complexe influencée notamment par les particules colloïdales émulsifiées et dissoutes. La proportion de graisse et de caséine dans le lait est le facteur le plus déterminant dans la modulation de sa viscosité (Rheotest, 2010).

#### 2.5. Point de congélation du lait

Le point de solidification du lait de vache est un indicateur fiable pour vérifier si le lait a été mouillé ou non. Sa valeur normale se situe entre  $-0,54^{\circ}\text{C}$  et  $-0,59^{\circ}\text{C}$ . Cette valeur varie en fonction de la concentration des solutés présents dans le lait, et son abaissement est directement lié à une augmentation de la concentration en solutés (Abotayeb, 2011).

**Tableau 01** : Les paramètres physico-chimique du lait de vache (Debouz et al., 2014).

Paramètres	Valeur
pH à 20°C	6.6-6.8
Acidité (degré Dornic)	15-18
Densité	1.028-1.032
Matière grasse g/l	24-55
Protéine g/l	35
Lactose g/l	50
Sels minéraux g/l	7.2
Extrait sec dégraissé g/l	132
Point de congélation (C°)	- 0,55
Conductivité électrique Ms	à 25°C

### 3. Composition chimique du lait de vache

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon **Pougheon et Goursaud (2001)** sont :

- L'eau, très majoritaire.
- Les glucides principalement représentés par le lactose.
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras.
- Les sels minéraux.
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles.

**Tableau 02** : Compositions nutritionnelles moyennes du lait de vache (**Alais et al., 1984**).

Substances	Quantité en g/l	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) Eau liée (3,7%)
Glucide : lactose	49	Solution
Lipides	35	En solution de globules gras (3-5 $\mu$ )
Matière grasse proprement dite	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Partie insaturable (stérol, carotène, tocophérols)	0,5	
Protide	34	Suspension micellaire
Caséine	27	Phosphocaséinates de calcium
Protéines solubles (albumine, globuline)	5,5	(0,08 à 0,12 $\mu$ )
Substances azotées non protéiques	1,5	Solution colloïdale
		Solution vraie
Sel	9	Solution ou état colloïdale (sel K, Ca, Na, Mg...)
Acide citrique	2	
Acide phosphorique (H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2,6	
Acide chlorhydrique (HCl)	1,7	
Constituants divers :		
Vitamines, enzymes, gaz dissous,	Trace	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

### 3.1. Eau

L'eau est le composant principal du lait et sa polarité est due à la présence de doublets d'électrons libres et d'un dipôle. Cela lui permet de former une solution vraie avec les glucides, les minéraux, ainsi qu'une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles de sérum (Amiot *et al.*, 2002).

Le lait est principalement composé d'eau, dans laquelle les autres constituants sont dispersés (Mathieu, 1998).

L'eau présente dans le lait peut être classée en deux catégories : l'eau extra-micellaire qui représente environ 90% de l'eau totale et qui contient l'ensemble des constituants solubles du lait, et l'eau intra-micellaire qui représente environ 10% de l'eau totale et qui est liée aux caséines tout en jouant le rôle de solvant. (Mahaut *et al.*, 2003).

### 3.2. Glucides

Le lactose est le principal glucide présent dans le lait et représente environ 45 à 50 g/l. Il est synthétisé par la glande mammaire à partir du glucose provenant du sang et est considéré comme le seul glucide libre dans le lait (FAO, 1998).

Le lactose est un élément clé du lait, avec une quantité importante de 45 à 50 g/l. Il est un élément fermentescible et peut être hydrolysé par des acides forts, ainsi que par la lactase. Le lactose est donc important sur le plan nutritionnel (Courtet Leymarios, 2010). D'après Jeantet *et al.* (2008), Le goût sucré et la saveur douce et agréable du lait frais sont dus en grande partie à la concentration élevée de lactose, qui a un goût sucré naturel et qui contribue à la douceur du lait.

Outre le lactose, il y a d'autres types de glucides présents en faibles quantités dans le lait, tels que le glucose et le galactose, qui résultent de l'hydrolyse du lactose. Il est également possible que certains glucides se lient aux protéines (Amiot *et al.*, 2002).

Les glucides sont le deuxième constituant le plus important du lait après l'eau, représentant 38% de la matière sèche du lait (Perreau, 2014).

Le lactose est le principal glucide présent dans le lait avec une concentration de 47 à 52 g/l. De plus, il est considéré comme le composant le plus stable du lait (Roca-Fernandez, 2014).

Le lactose participe à la fermentation du lait et est principalement éliminé dans le lactosérum. Bien que le lait puisse contenir d'autres glucides tels que le glucose et le galactose, ces derniers sont présents en quantités beaucoup plus faibles (Amiot *et al.*, 2002).



D'après (Walstra, 1978), Les glucides présents dans le lait se divisent en deux catégories :

- ✓ Des glucides libres (les oligoholosides).
- ✓ Des glucides combinés en glycoprotéines. Selon leurs polarités électriques, on peut distinguer :
  - Les glucides neutres : lactose, glucose, galactose.
  - Les glucides azotés : glucosamine N-acétylée et galactosamine N-acétylée.
  - Les glucides acides liés aux glucides neutres ou azotés : acide sialique (Sandra, 2001).

Le lactose est le glucide le plus abondant dans le lait (Renhe et al, 2019). Les bactéries lactiques (LAB) utilisent le lactose comme substrat de fermentation, ce qui est essentiel pour produire du yaourt ou du fromage (Guetouache et al, 2014) ;( Hayaloglu, 2016).

### 3.3. Protéines

Selon Courtet Leymarios (2010) en moyenne, le lait de vache contient environ 34 à 35 g/l de protéines, ce qui représente près de 95 % de la matière azotée totale. Les 5 % restants peuvent être constitués d'acides aminés libres ou d'azote non protéique, tels que l'urée, la créatinine et l'acide urique.

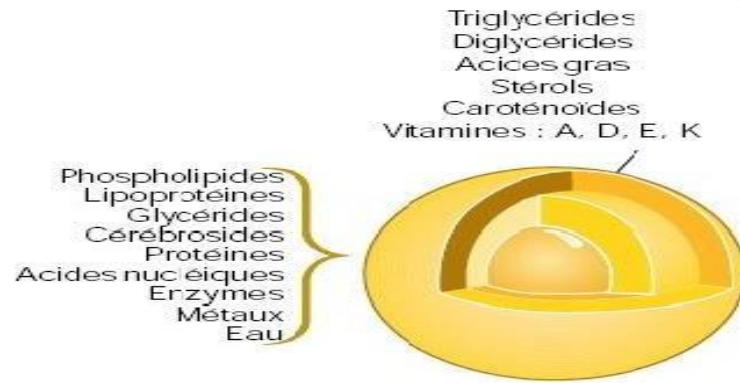
Brunner, (1981) constate que les protéines présentes dans le lait de vache se composent de 75 à 85 % de caséine et de 15 à 22 % de protéines du lactosérum, notamment la sérum-albumine, la lactalbumine, la lactoglobuline, les immunoglobulines, etc. (Tableau 02).

D'après Rulquin, (1997) Environ 93 à 95 % des protéines contenues dans le lait sont produites à partir des acides aminés libérés dans le sang.

### 3.4. Matières grasses

Le lait contient des matières grasses qui se présentent sous la forme d'une émulsion de globules gras. En moyenne, le lait de vache contient environ 40 g/kg de matières grasses. (Ferlay et al., 2013).

La (Figure 01) Un globule gras du lait se compose d'une membrane qui contient des phospholipides, des lipoprotéines, des cérebrosides, des protéines, des acides nucléiques, des enzymes, des oligoéléments tels que les métaux, ainsi que de l'eau. (Bylund, 1995).



**Figure 01** : Composition de la matière grasse du lait de vache (Bylund, 1995).

Les produits laitiers contiennent principalement des lipides sous forme d'acides gras, de triacylglycérols et de phospholipides, parmi lesquels se trouvent le cholestérol, la phosphatidylcholine, la sphingomyéline, les glycolipides, les gangliosides, les glycoprotéines membranaires et les protéines constituant la membrane du globule gras du lait. Les proportions d'acides gras saturés et insaturés varient en fonction de l'espèce animale. (Jeantet et al, 2018)

### 3.5. Matières azotées

Selon Ramet (1985), deux catégories de matières azotées sont présentes dans le lait : la matière azotée protéique, qui constitue la fraction majoritaire à 95% de l'azote total du lait, et la matière azotée non protéique, qui représente 5%. Les protéines se divisent en deux phases en fonction du pH : une phase micellaire, qui est insoluble à un pH de 4,6, composée principalement de caséines qui représentent 80% des protéines totales, et une phase protéique, qui est soluble à un pH de 4,6, composée de protéines sériques qui représentent 20% des protéines totales (Jeantet et al. 2007).

### 3.6. Minéraux

Les minéraux, également appelés matière saline, constituent environ 8 à 9 g/L de matière minérale dans le lait. Cette matière minérale est composée de cations tels que le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium, ainsi que d'anions tels que le phosphate, le citrate et le chlorure (FAO, 1998).

Le lait est une source de calcium de qualité supérieure par rapport à toutes les autres sources alimentaires. Cela s'explique par la présence d'autres composants qui favorisent son assimilation, tels que des protéines, des graisses et une faible quantité d'acide lactique. Ainsi, le calcium présent dans le lait est mieux absorbé par l'organisme (Konte, 1999).

**Tableau 03** : Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/litre). (FAO, 1998).

Constituants	Teneurs moyennes (g/l)
Potassium (K <sub>2</sub> O)	1 ,50
Sodium (Na <sub>2</sub> O)	0,50
Calcium (CaO)	1 .25
Magnésium (Mgo)	0,12
Phosphore (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0,95
Chlore (NaCl)	1 ,00
Soufre	0,35
Acide citrique	1,80

### 3.7. Vitamines

Selon **Konte (1999)** et **Leymarios (2010)** on peut diviser les vitamines présentes dans le lait en deux catégories principales : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles.

Selon **Vignola (2002)**, Les vitamines sont des composés biologiquement essentiels à la survie. Ces molécules complexes, de taille plus petite que les protéines, présentent une structure très diverse et sont étroitement liées aux enzymes. Elles agissent en tant que coenzymes en se liant à une apoenzyme protéique, participant ainsi aux réactions enzymatiques et aux échanges à l'échelle des membranes cellulaires (**Tableau 4**).

On peut diviser les vitamines en deux catégories principales :

Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) se trouvent dans la phase aqueuse du lait :

Les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E et K) sont associées à la matière grasse du lait, certaines se trouvent au centre du globule gras tandis que d'autres se situent à sa périphérie. (**Debry, 2001**).

**Tableau 04** : Composition vitaminique moyenne du lait cru (Amiot et al., 2002).

Vitamines	Teneur moyenne
<b>Vitamines liposolubles</b>	
Vitamine A (+carotènes)	40pg/100ml
Vitamine D	2,4pg/100ml
Vitamine E	100pg/100ml
Vitamine K	5pg/100ml
<b>Vitamines hydrosolubles</b>	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45pg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175 pg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50pg/100ml
Vitamine B12(cyanocobalamine)	0,45 pg/100ml
Niacine et niacinamide	90pg/100ml
Acide pantothénique	350 pg/1 00ml
Acide folique	5,5 pg/1 00ml
Vitamine H (biotine)	3 ,5pg/1 00ml

### 3.8. Enzymes

On a recensé environ 60 enzymes principales dans le lait, dont 20 font partie de sa composition naturelle (**Tableau 5**). Une grande proportion de ces enzymes se trouve dans la membrane des globules gras, mais le lait contient également de nombreuses cellules telles que des leucocytes et des bactéries qui produisent des enzymes. Distinguer les éléments naturels des éléments extérieurs n'est donc pas une tâche aisée (**Vignola, 2002**).

D'après **Got, (1997) et Linden, (1987)** ces enzymes en fonction de leurs propriétés peuvent avoir un rôle crucial :

- La lyse des composants naturels du lait par certaines enzymes (telles que la lipase et la protéase) peut avoir des conséquences significatives sur les propriétés technologiques et organoleptiques du lait
- Certaines enzymes présentes dans le lait, telles que la lactoperoxydase et le lysozyme, jouent un rôle antibactérien en fournissant une protection au lait.
- Les enzymes présentes dans le lait peuvent servir d'indicateurs pour évaluer la qualité hygiénique, le traitement thermique ou même l'espèce animale dont provient le lait. Par exemple, certaines enzymes sont produites par les bactéries et les leucocytes, tandis que d'autres, telles que la phosphatase alcaline, la peroxydase et l'acétyl estérase, sont sensibles à la chaleur. Le test de la xanthine-oxydase peut être utilisé pour détecter la présence de lait de vache dans du lait de chèvre.

**Tableau 05 :** Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Vignola, 2002).

Groupes d'enzymes	Classes d'enzymes	pH	Température (C°)	Substrat
<b>Hydrolases</b>	<b>Estérases</b>			
	Lipases	8.5	37	Triglycérides
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatase acide	4.0-5.2	37	Esters phosphoriques
	<b>Protéases</b>			
	Lysozyme	7.5	37	Parois cellulaire microbienne
	Plasmine	8	37	Caséines
<b>Déshydrogénases ou oxydases</b>	Sulfhydrile oxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8.3	37	Bases puriques
<b>Oxygénases</b>	Lactoperoxydase	6.8	20	Composés réducteurs + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Catalase	7	20	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

## 4. Qualité organoleptique

### 4.1. Couleur

Le lait présente une apparence blanche mate, résultant de sa teneur élevée en matières grasses et en B-carotène, qui lui confère une teinte légèrement jaune. En outre, la diffusion de la lumière par les micelles des colloïdes qui le composent contribue à son aspect opaque (**Laure et Cazet, 2007**).

### 4.2. Odeur

La composition en matière grasse du lait détermine son odeur, laquelle peut être modulée par plusieurs facteurs tels que les conditions de traite, le régime alimentaire de l'animal ainsi que les méthodes de conservation du lait (**Ramdani, 2008**).

### 4.3. Saveur

Le goût du lait est doux et légèrement sucré en raison de sa teneur élevée en lactose, qui a un pouvoir sucrant inférieur à celui du saccharose (**Laurent, 1992**). La saveur est bonne et ne présente aucun goût désagréable ni de rancissement (**Cauty et Perreau, 2009**).

### 4.4. Viscosité

La viscosité du lait varie en fonction de l'espèce animale. On observe un lait plus visqueux chez les monogastriques tels que la jument, l'ânesse, les carnivores et la femme, tandis que les herbivores ont un lait moins visqueux. Par exemple, le lait de brebis est généralement plus visqueux que celui de la vache. (**Guigma, 2013**).

**Tableau 06** : caractéristiques organoleptiques du lait (**Veisseyre, 1975**).

<b>Couleur</b>	Blanc-jaunâtre à blanc-mât (à cause de la réflexion de la lumière sur les micelles et les caséines). Bleutée ou franchement jaunâtre (lait riche en lactoflavine).
<b>Odeur</b>	Peu accentuée, fonction de l'espèce et l'alimentation.
<b>Saveur</b>	Légèrement sucrée (le lactose à un faible pouvoir sucrant).
<b>Flaveur</b>	Le lait frais de bonne qualité possède une flaveur subtile.
<b>Viscosité</b>	Deux fois plus visqueux que l'eau: plus visqueux chez les monogastriques que chez les polygastriques. plus visqueux au début de lactation (colostrum).

## 5. Microbiologie du lait

Les produits laitiers sont soumis à une fermentation qui entraîne une acidification et la production de bactériocines. Cela contribue à assurer la sécurité alimentaire en empêchant la croissance de bactéries pathogènes dans les produits laitiers. (Taybi et al., 2014)

Les micro-organismes naturellement présents dans le lait sont exploités pour la transformation et la conservation de celui-ci. (Laithier, 2011).

Selon Mami (2013), on peut distinguer deux catégories de microorganismes présents dans le lait : la microflore indigène, naturellement présente, et la microflore de contamination. Cette dernière est subdivisée en deux sous-catégories : la microflore d'altération, qui altère la qualité du lait sans présenter de danger pour la santé, et la microflore pathogène, qui peut être nocive pour la santé.

### 5.1. Flore indigène ou originelle

La microflore naturelle du lait est un élément crucial pour ses caractéristiques sensorielles. (Foutou et al., 2011).

Le lait possède une flore naturelle qui le protège, notamment grâce à des ferments lactiques tels que *Micrococcus sp*, *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*. Ces micro-organismes ont en commun la capacité de fermenter le lactose en acide lactique (Brisabois et al., 1997).

Une traite aseptique d'un animal sain permet normalement d'obtenir du lait exempt de micro-organismes. Après la traite, le nombre de germes est très bas, généralement inférieur à  $10^3$  germes/ml (Cuq, 2007).

On peut définir la flore originelle des produits laitiers comme étant l'ensemble des microorganismes présents dans le lait juste après la traite. Les genres de microorganismes prédominants dans cette flore sont principalement des mésophiles. (Vignola, 2002). Les genres prédominants de la flore originelle des produits laitiers sont principalement des bactéries mésophiles, notamment des microcoques, des streptocoques lactiques et des lactobacilles. (Tableau 07).

Ces microorganismes, présents dans le lait, plus ou moins abondants, mais dont la quantité varie en fonction de l'alimentation (Guiraud, 2003), ne semblent pas avoir d'effet significatif sur la qualité ou la production du lait. (Varnam et Sutherland, 2001).

Tableau 07 : Flore originelle du lait cru de vache (Vignola, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus sp.</i>	10-30
<i>Streptococcus sp.</i> Ou <i>Lactococcus sp.</i>	< 10
Gram négatif	< 10

### 5.2. Flore de contamination du lait

La flore de contamination désigne l'ensemble des micro-organismes qui contaminent le lait depuis la collecte jusqu'à sa consommation (Vignola, 2002). La flore de contamination est directement influencée par les conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées les manipulations du lait, notamment l'état de propreté des mamelles de l'animal, l'environnement dans lequel se déroule la traite (étable, local de traite), le trayon, le matériel de collecte du lait (seaux à traire, machine à traire), ainsi que le matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (FAO, 1995). La flore de contamination peut se diviser en deux types : une flore d'altération et une flore pathogène (Vignola, 2002).

Selon Kabir (2014). Cette flore peut être constituée de micro-organismes altérants, qui altèrent la qualité sensorielle des produits ou réduisent leur durée de conservation, ou de micro-organismes pathogènes qui peuvent causer des maladies chez les consommateurs.

### 5.3. Flore pathogène

La présence de flore pathogène dans le lait et les produits laitiers présente un risque pour la santé des consommateurs car elle peut provoquer une libération de toxines (Vignola, 2002).

La contamination par des germes pathogènes peut être de deux types : endogène, lorsqu'elle résulte de la traite d'un animal malade, ou exogène, lorsqu'elle est causée par un contact direct avec des surfaces infectées ou par des apports environnementaux (Brisabois et al., 1997). Les produits laitiers peuvent être associés à différents types de micro-organismes pathogènes, notamment : *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, ainsi que d'autres encore. (Lamontagne et al., 2002).



#### 5.4. Flore d'altération

La flore de contamination est capable de dégrader les constituants du lait cru, tels que les lipides et les protéines, et peut également entraîner des défauts sensoriels tels que des altérations de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture, ainsi qu'une réduction de la durée de conservation du produit (**Beuvier et Feutry, 2005**).

Les groupes microbiens les plus couramment associés à l'altération des produits laitiers sont les *Pseudomonas*, les *entérobactéries* et les *Clostridium spp* (**Valérie et al., 2002**).

Les genres les plus fréquemment associés à la flore d'altération sont *pseudomonas sp*, *proteus sp*, ainsi que les *coliformes*, notamment *escherichia* et *enterobacter*, *bacillus sp* et *clostridium*. Par ailleurs, certaines levures et moisissures peuvent altérer la qualité sensorielle des produits laitiers en affectant leur goût, leur arôme et leur texture, ce qui peut également réduire leur durée de conservation (**Lamontagne et al., 2002**).

#### 6. Sources de contamination du lait

Lorsqu'il est extrait de la mamelle, le lait présente une faible contamination s'il provient d'un animal en bonne santé et est prélevé dans des conditions d'hygiène adéquates (**Faye et Loiseau, 2002**). Le lait acquiert une population microbienne indésirable lors des étapes de collecte et de transport vers les sites de consommation ou de transformation.

La présence de contaminations potentielles dans le lait et leur gravité peuvent avoir diverses origines (**Piton et Richard, 1982 ; Bonfoh et al., 2006**). que nous pouvons mentionner, il y a :

- L'eau, qu'elle soit destinée à l'abreuvement ou au nettoyage, peut représenter une source significative de contamination du lait (**Goyon et Badinand, 2003 ; Bonfoh et al., 2006**) ;
- Les mamelles sales incorrectement lavées (**Chatelin et Richard, 1981**) ;
- Si le matériel de traite n'est pas correctement nettoyé et/ou présente des défauts, cela peut entraîner une contamination du lait lors de son prélèvement (**Chatelin et Richard, 1981**) ;
- La peau des mamelles (**Piton et Richard, 1982**) ;
- La conservation des premiers jets de la traite (**Bacic et al., 1968 ; Michel et al., 2001**) ;

- La litière et l'air sont deux éléments environnementaux qui contribuent à la contamination du lait pendant la période de traite. Lorsque le lait est extrait manuellement d'animaux se reposant sur une litière riche en foin, il peut être relativement chargé en bactéries hétérolactiques (**Bouton et al., 2005**). Pour réduire la charge microbienne du lait, **Tormo et al. (2006)** recommandent le renouvellement régulier de la litière et l'utilisation de produits pour réduire la charge microbienne du lait qui contrôle les paramètres tels que le pH et l'humidité. L'air peut également jouer un rôle en tant que vecteur des flores présentes dans la litière (**Tormo et al., 2006**). Plus la durée totale de la traite est longue, plus le lait est exposé à l'air, et plus il est susceptible d'être contaminé par les germes présents dans l'environnement (**Faye et Loiseau, 2002**). **Zweifel et al., (2005)** ont constatés que le nombre d'animaux traités simultanément est directement proportionnel à la quantité totale de flore présente dans le lait.

Ainsi, on peut identifier plusieurs sources potentielles de contamination. (**Velázquez-Ordóñez et al., 2019**) :

- Produit chimique issu de l'agriculteur.
- Résidus de pesticides.
- Résidus de médicaments vétérinaires.
- Gestion de troupeau de vache.
- Pis contaminé par les matières fécales, le lisier, le sol, la boue.

## **7. Méthodes de conservation**

De nos jours, aux États-Unis, on a recours à des techniques supplémentaires lors de la fabrication de laits et de crèmes pasteurisés afin de prolonger leur durée de conservation lorsqu'ils sont stockés dans un environnement réfrigéré. Cette méthode permet d'augmenter la durée de conservation jusqu'à 60 jours selon l'approche utilisée.

La pratique en question répond aux exigences des consommateurs qui recherchent des produits offrant une durée de conservation plus longue, mieux adaptée à leurs besoins, tout en préservant leur goût et leur aspect habituel. Cette pratique est rendue possible grâce à l'évolution des méthodes de commerce, de production et de distribution qui permettent de réduire certains coûts tout en offrant des produits de haute qualité (**Vignola, 2002**).

## 7.1. Techniques de conservation par le froid

### 7.1.1. Réfrigération

La technique de réfrigération, qui implique une température entre 2 et 5°C, a pour effet d'arrêter tout développement bactérien, à l'exception de celui des bactéries psychrophiles telles que *Listeria spp* et *Yersinia spp*, dont la croissance est significativement ralentie (**Werner et al., 2010**).

### 7.1.2. Congélation

La congélation est une méthode de conservation des aliments qui implique le maintien d'une température à l'intérieur de la denrée de -18°C. Ce processus entraîne la formation de cristaux de glace à partir de l'eau contenue dans les aliments, ce qui réduit considérablement la quantité d'eau disponible et diminue ainsi l'activité de l'eau ( $A_w$ ). Cela a pour effet de ralentir, voire d'arrêter, l'activité microbienne et enzymatique (**Darinmoub, 2009**).

D'après **Darinmoub (2009)** La congélation est une méthode de conservation qui permet une durée de conservation plus longue des aliments que la réfrigération.

- **Action du froid**

Le lait réfrigéré à une température basse présente certaines différences par rapport au lait frais, telles que :

- Accroissement de la stabilité du lait par ralentissement des réactions biochimiques
- ralentissement du développement microbien (flore de contamination) et inhibition de la flore pathogène ;
- modification de la nature des espèces microbiennes qui se développent
- (sélection des psychotrophes et psychrophiles aux dépens de la flore mésophiles) ce qui peut entraîner l'apparition d'altérations particulières aux basses températures. L'action bactéricide du froid est discrète ou nulle.

D'après **Mahjoub et Boudabous (1993)**, les bactéries Gram-négatives sont généralement plus sensibles à la congélation que les bactéries Gram-positives, bien que certaines de ces dernières, telles que *Staphylococcus aureus*, soient pratiquement insensibles. Selon les auteurs, la congélation a un effet bactéricide ou létal, bien que cela ne soit jamais complet et varie en fonction des types de germes et des conditions dans lesquelles elle est réalisée :

- Total pour les parasites.
- variable pour les Gram-, plus sensibles que les Gram+.
- les virus sont conservés par la congélation.

### **7.1.3. Surgélation**

La surgélation et la conservation à une température de -18°C ou inférieure arrêtent tous les processus de dégradation, à l'exception de l'autoxydation de la matière grasse (**Werner et al., 2010**).

## **7.2. Techniques de conservation par la chaleur**

La technique de stabilisation des aliments par la chaleur est couramment utilisée dans l'industrie alimentaire pour atteindre plusieurs objectifs :

- Elle vise à détruire partiellement ou totalement les flores d'altération (*Micro-coccus*, *Bacillus*, flore psychrotrophe, flore lactique, etc) et les flores pathogènes ou toxigènes (*Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium perfringens* et *Clostridium botulinum*) pour améliorer la qualité hygiénique des produits.
- Au cours du stockage de certains produits, elle a la capacité d'inactiver certaines enzymes telles que la plasmine, la lipoxygénase et la polyphénoloxydase.

En général, la réflexion sur le traitement thermique peut être considérée comme un concept tridimensionnel.

- Réduction des fonctions biologiques recherchées ;
- Impact sur les caractéristiques sensorielles et nutritionnelles des produits ;
- Optimisation des coûts du traitement.

Deux principales méthodes de traitement sont généralement distinguées : la pasteurisation et la stérilisation (**Jeantet et al, 2006**).

Les méthodes mentionnées ont un but commun, qui est de détruire les germes pathogènes présents dans le lait. Cependant, elles varient en termes de durée de conservation du lait, qui dépend de la destruction plus ou moins complète des autres micro-organismes. Bien que l'ébullition soit utile et incontestable, elle est limitée aux applications domestiques (**FAO, 2010**).

### **7.2.1. Pasteurisation**

La pasteurisation est un procédé thermique modéré mais efficace, qui permet d'éliminer les micro-organismes pathogènes ainsi qu'un grand nombre de micro-organismes d'altération. Ce traitement joue un double rôle : il garantit la sécurité sanitaire du produit tout en prolongeant sa durée de conservation. Cette technique est couramment utilisée dans la production de divers aliments tels que le lait pasteurisé.

La pasteurisation permet d'éliminer tous les micro-organismes pathogènes présents dans le lait, ainsi qu'une grande partie de la flore saprophytes. Cette méthode de traitement thermique a un impact minime sur les propriétés physico-chimiques, les qualités sensorielles et les valeurs nutritionnelles du lait (**Fanica, 2008**).

La manière dont les lignes de production de lait pasteurisé sont conçues varie considérablement selon les pays et les laiteries en raison des différences de législation et de réglementation locales. Par exemple, la standardisation de la matière grasse peut être effectuée avant, pendant ou après la pasteurisation, et l'homogénéisation peut être totale ou partielle. Malgré ces différences, le traitement du lait pasteurisé est très rapide (quelques secondes seulement), ce qui permet de préserver les qualités nutritionnelles et organoleptiques du lait (**Guiraud, 2003**).

Les barèmes de pasteurisation sont établis en fonction de la combinaison de la température et du temps, de sorte que l'effet des modifications apportées augmente en fonction de la durée et de la température du traitement thermique. Toutefois, cela dépend également de la sensibilité individuelle à la chaleur de chaque composant du lait (**Vignola, 2002**).

Selon **Jeantet et al. (2008)**, il existe trois catégories de traitements :

#### **7.2.1.1. Pasteurisation basse (62-65°C /30min)**

Il s'agit d'une méthode de traitement thermique discontinu qui implique le chauffage du lait à 63°C dans des cuves ouvertes, suivi d'un maintien à cette température pendant 30 minutes. Cette technique est également connue sous le nom de "procédé Holder" ou "méthode LTLT" (Pasteurisation à basse Température et longue durée) (**Gosta, 1995**).

#### **7.2.1.2. Pasteurisation haute (71-72°C /15-40s)**

La méthode HTST (Pasteurisation à haute Température et courte durée), également connue sous le nom de pasteurisation haute, est réservée aux laits crus de bonne qualité hygiénique. En ce qui concerne les propriétés organoleptiques et nutritionnelles, elle a peu

d'effet. Cependant, sur le plan biochimique, elle détruit la phosphatase alcaline mais laisse la peroxydase active. Les laits pasteurisés selon cette méthode ont une DLC (date limite de consommation) de 7 jours après le conditionnement, qu'il s'agisse de bouteilles en verre ou en carton, de polyéthylène ou d'aluminium.

### **7.2.1.3. Flash pasteurisation (85-90°C /1-2s)**

Le lait est soumis à un traitement thermique appelé "Flash pasteurisation", au cours duquel il est chauffé à une température comprise entre 85°C et 95°C pendant une durée de 1 à 2 secondes. Cette opération peut être effectuée directement en faisant entrer le lait en contact avec la vapeur. Cette technique est souvent préférée pour des raisons d'efficacité énergétique. Ou indirectement en utilisant des échangeurs de chaleur tubulaires ou à plaques pour transférer la chaleur entre les liquides chauffants et le lait. Cette technique est couramment utilisée pour les laits crus de mauvaise qualité, et permet de détruire les enzymes phosphatase et peroxydase.

### **7.2.2. Appertisation**

L'appertisation est une méthode de préservation des aliments qui implique de chauffer des aliments périssables dans des récipients hermétiques tels que des boîtes métalliques ou des bocaux, à une température élevée de +100°C pendant un certain temps en fonction du type de produit. Cette technique permet d'éliminer les germes, les spores et les enzymes présents dans les aliments, assurant ainsi une longue conservation à l'abri de l'air et de la lumière. En somme, l'appertisation a pour but de prolonger la durée de conservation des aliments (**Meghfour, 2014**).

### **7.2.3. Technique UHT**

Le procédé UHT (Upérisation à Haute Température) assure que les produits sont soumis à des traitements thermiques de 135-150°C durant quelques instants, grâce à diverses technologies. En ce qui concerne le lait, la réglementation britannique impose certaines exigences :

- Le lait doit être produit par un processus de transformation continue.
- Pour garantir la sécurité alimentaire, le lait doit être soumis à des températures d'au moins 135°C pendant au moins 1 seconde, ce qui permet de détruire tous les micro-organismes d'altération et les spores.
- Les altérations chimiques, physiques et sensorielles du lait doivent être minimales.

Le lait UHT doit être emballé de manière aseptique dans des récipients opaques juste après avoir été soumis au traitement thermique, conformément aux exigences. Après avoir été

incubé pendant plusieurs jours à 55°C dans un récipient fermé, le lait doit avoir une apparence, un goût et une odeur normaux et ne montrer aucun signe de détérioration (**Early, 1998**).

#### **7.2.4. Stérilisation**

Les laits ont été soumis à un processus de stérilisation thermique visant à éliminer tous les micro-organismes. Les normes sont établies en fonction de la réaction décimale de *clostridium botulinum*, qui est de 12. Comparés aux laits pasteurisés, ces laits ont une qualité organoleptique et nutritionnelle inférieure. De plus, leur durée de conservation est limitée car le produit subit une évolution physico-chimique plus ou moins lente qui peut altérer sa stabilité (**Jeantet et al, 2008**).

### **7.3. Techniques de conservation par séparation et élimination d'eau « déshydratation »**

#### **7.3.1. Séchage**

La déshydratation des produits alimentaires contribue à maintenir leur stabilité en réduisant leur activité de l'eau ( $A_w$ ) et permet de diminuer les frais de transport et de stockage. Il existe plusieurs méthodes pour la réaliser, notamment :

- Le séchage peut être effectué par évaporation à la température de l'ébullition sous pression atmosphérique ou sous vide partiel, comme sur des cylindres chauffants en contact direct.
- Le séchage peut également être obtenu par entraînement, grâce à la combinaison d'un transfert de chaleur de l'air chaud vers le produit et d'un transfert d'eau du produit vers l'air chaud et sec, par exemple lors du séchage par pulvérisation.

#### **7.3.2. Lyophilisation**

La lyophilisation consiste à déshydrater des solutions, suspensions, tissus animaux ou végétaux, etc. en les solidifiant par congélation, puis en sublimant la glace. Ce procédé se déroule à basse température, à pression réduite, et sans phase liquide intermédiaire, ce qui permet de limiter considérablement les risques d'altération et de dénaturation des produits, contrairement à d'autres méthodes de dessiccation.

La lyophilisation est largement utilisée pour la stabilisation et la conservation de produits biologiques, entre autres (**Broussard et al., 2016**).

## 8. Composants indésirables du lait

La mamelle est un organe excréteur qui peut sécréter des substances étrangères dans le lait. Ces substances peuvent être présentes sous leur forme originale ou sous forme de métabolites dérivés de l'ingestion ou de l'inhalation par l'animal. Les sources potentielles de ces substances étrangères incluent les aliments tels que les engrais et les produits phytosanitaires, l'environnement tel que les pesticides, ainsi que les traitements administrés à l'animal tels que les produits pharmaceutiques, les antibiotiques et les hormones (**Mahieu et al, 1977**).

Voici une liste des différents éléments indésirables qui pourraient être présents dans le lait :

### 8.1. Antibiotiques

Les résidus d'antibiotiques peuvent être présents dans le lait, en particulier lorsque ces substances sont utilisées localement pour traiter les infections de la glande mammaire (**Jacquet, 1969**). La présence d'antibiotiques dans le lait est un inconvénient majeur tant sur le plan technologique pour la transformation du lait que pour la santé des consommateurs. Pour les consommateurs, cela peut entraîner des réactions allergiques et accroître le risque de développer des cancers (**Mitchell, 2005**).

Le traitement des infections de la glande mammaire est la principale source de contamination du lait par des résidus d'antibiotiques (**Boultif, 2015**).

L'utilisation inappropriée d'antibiotiques par les éleveurs ainsi que l'absence de respect des délais d'attente après le traitement peuvent entraîner la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait (**Mensah et al, 2014**).

L'utilisation d'antibiotiques peut conduire à l'émergence d'une flore endogène antibiorésistante chez des individus sensibles (**Morel, 1962 ; Lemaitre, 1963**).

Selon **Hilan et Chemali (1988)**, la présence d'antibiotiques dans le lait peut être préjudiciable pour le consommateur, car ils peuvent inhiber la croissance de bactéries bénéfiques pour la transformation du lait, telles que *Lactobacillus thermophilus* et *Streptococcus*. Selon **Boultif (2015)**, même le lait d'une seule vache traitée aux antibiotiques peut rendre impossible la transformation du lait.

### 8.2. Pesticides

Les résidus de pesticides sont des substances liposolubles et polychlorées qui ont tendance à s'accumuler dans les graisses de réserve de l'organisme. Lorsque ces graisses sont



brûlées, les substances toxiques qui y sont stockées sont libérées dans le corps, pouvant entraîner des symptômes d'intoxication (**Beroza et Bowman, 1996**).

### **8.3. Polychlorodryphényles**

Certains produits chimiques tels que les phtalates, les esters d'acide sébacique et certains polychlorobiphényles (PCB) sont considérés comme toxiques pour l'homme. Ces substances sont particulièrement préoccupantes car elles sont stables dans l'organisme et ont tendance à s'accumuler dans les tissus adipeux (**Murata, Zabik et Zabik, 1977 ; Luquet et al, 1979**). Les conséquences à long terme de ces contaminations sur la santé sont souvent difficiles à évaluer (**Vanier, 2005**).

### **8.4. Métaux**

Plusieurs métaux, tels que le sélénium, l'arsenic, le plomb, le mercure et le cadmium, ont le potentiel de contaminer le lait à des niveaux préoccupants pour la santé (**Vanier, 2005**).

---

*Chapitre II*  
*Laurus nobilis L.*

---

## **1. Aperçu sur les plantes médicinales**

Selon la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des substances végétales qui contiennent au moins une partie dotée de propriétés médicinales (**Chabrier, 2010 ; Sofowora, 2010**). Cela implique qu'elles sont promues en raison de leurs capacités à prévenir ou guérir les maladies chez les êtres humains ou les animaux. (**Iserin, 2001 ; Chabrier, 2010**).

Ces substances végétales sont largement employées dans la médecine traditionnelle en tant que remèdes, et elles renferment une vaste gamme de composés chimiques variés (métabolites primaires ou secondaires) (**Sanago, 2006 ; Gazengel et Orecchioni, 2013**). Ainsi, leur importance se manifeste dans la recherche pharmaceutique et le développement de médicaments, que ce soit en tant qu'agents thérapeutiques directs, en tant que matière première pour la synthèse de médicaments, ou en tant que modèles pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Sanogo, 2006 ; Newman et Cragg, 2007 ; Kahlouche, 2014 ; Belkhodja, 2016**).

### **1.1. Famille des lauracées**

Le Laurier (*Laurus nobilis* L.) fait partie de la famille botanique des Lauracées, qui est une famille importante connue pour ses plantes souvent aromatiques. Les espèces de cette famille se distinguent généralement par leur odeur aromatique. Il existe environ 32 genres et entre 2000 et 2500 espèces différentes de Lauracées (**Spichiger et al., 2002 ; Barla et al., 2007 ; Arkoub et al., 2018**).

### **1.2. Plante du laurier noble**

Le laurier noble, également connu sous le nom de laurier-sauce ou laurier d'Apollon, est une plante appartenant à la famille des lauracées, largement cultivée dans différentes parties du monde, telles que la région méditerranéenne, l'Asie et l'Australie. On peut le cultiver à partir de graines ou par bouturage. Cet arbre peut atteindre une hauteur allant jusqu'à 10 mètres et présente de petites fleurs, des fruits noirs et des feuilles lancéolées. Les feuilles ont une face supérieure d'un vert foncé brillant et une face inférieure d'un vert plus clair et mat. (**Tomar et al., 2020**). Lorsqu'on les froisse, les feuilles dégagent une odeur spécifique (**Taarabt et al., 2017**).

### 1.3. Historique

Au cours des temps anciens, une plante appelée "Daphné" a été identifiée par Goodyear en 1655 sous le nom de *Laurus nobilis*. C'est une espèce à feuillage persistant, qui pousse lentement et est originaire de la région méditerranéenne. Elle est largement cultivée en Europe, en Asie, en Afrique du Nord et aux États-Unis en tant que plante ornementale ( **Sedef Nehir et al., 2014** ; **Alejo-Armijo et al., 2017**). Dans plusieurs pays tels que la Turquie, l'Algérie, le Maroc, le Portugal, l'Espagne, l'Italie, la France et le Mexique, la plante est cultivée à des fins commerciales en raison de ses feuilles aromatiques. En Algérie, elle est également cultivée. Les principaux producteurs mondiaux de cette plante sont la Turquie, qui représente les deux tiers du commerce mondial, ainsi que l'Albanie, le Maroc, la Grèce et l'Italie (**Geerts et al., 2002**).

### 1.4. Origine

*Laurus nobilis* L. est membre de la famille des Lauracées, qui compte 32 genres et environ 2000 à 2500 espèces (**Barla et al., 2007**). Son nom latin, *Laurus nobilis* L., provient du terme celtique signifiant "toujours vert", faisant référence à la persistance de son feuillage (**Pariente, 2001**). Depuis les époques antiques grecques et romaines, les larges feuilles du Lauré nobilis L sont utilisées et reconnues comme assaisonnement et plante médicinale (**Ould Yerou et al., 2015**). Il est remarquable de constater que cette plante, qui a longtemps été utilisée comme condiment dans l'alimentation et en médecine traditionnelle, possède en réalité des propriétés qui pourraient ouvrir la voie à de nouvelles applications (**OuldYerou et al., 2015**).

### 1.5. Étymologie du nom *Laurus nobilis* L.

Du point de vue de l'étymologie, le terme latin "*laurus*", signifiant "toujours vert", fait référence à la nature persistante du feuillage de la plante, tandis que "*nobilis*", également en latin, signifie "fameux" ou "illustre" (**Pariente, 2001**). Actuellement, son nom est également associé au succès grâce au baccalauréat, qui tire ses origines du latin "*Bacca Lauri*", signifiant littéralement "baies de laurier" (**Zhiri et al., 2005**).

**Le tableau 08** présente les différentes dénominations vernaculaires utilisées à travers le monde pour désigner la plante *Laurus nobilis* L.

Tableau 08 : Dénomination internationale de *Laurus nobilis* L.

Nomination (Pays)	Dénomination vernaculaire
Nom commun Français	Laurier d'Apollon, laurier commun, laurier noble, laurier sauce, laurier franc, laurier à jambon ( <b>Ali-Delille, 2013</b> ).
Nom vernaculaire arabe et targui	Rend (رند), erend, habb'ra'r (le fruit), tasselt, warkat sidna moussa (ورقة سيدنا موسى), El ghar (الغار) ( <b>Beloued, 2001 ; Anton et Lobstein, 2005</b> ).
Nom celtique	Blaur signifie toujours vert ( <b>Beloued, 2001</b> ).
Nom allemand	Lorbeer, lorbeerbaum, gewürzlorbeer ( <b>Iserin, 2001</b> ).
Nom anglais	Bay, sweet bay, bay laurel, true laurel, Noble laurel, Roman laurel ( <b>Iserin, 2001 ; Anton et Lobstein, 2005</b> ).

### 1.6. Position systématique du laurier noble

D'après **Quezel & Santa, (1962)** la classification botanique de *Laurus nobilis* L. est la suivante (**Tableau 09**).

Tableau 09 : Classification botanique du laurier noble (**Quezel et Santa, 1963**).

Règne	Végétale
Sous règne	Plante vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L.

### 1.7. Description botanique

Le Laurier noble est une plante aromatique qui se présente sous la forme d'un arbuste ou d'un arbre. Il peut atteindre une hauteur de 2 à 10 mètres et a une croissance lente. Son tronc est droit et ramifié dès la base, avec une forme conique au sommet qui devient plus arrondie avec le temps. L'écorce de l'arbre est de couleur noire à gris foncé et lisse. Les branches du Laurier noble poussent en oblique et sont caractérisées par de jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre. Les bourgeons de la plante sont étroits, de couleur verte rougeâtre et mesurent de 0,2 à 0,4 cm de longueur (Ouibrahim et al., 2015).



**Figure 02** : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L. (Beloued, 2005).

#### ➤ Feuilles

Lorsqu'on froisse les feuilles, on peut également remarquer une odeur aromatique caractéristique, qui est due à la présence de grandes cellules sécrétrices situées dans le tissu palissadique des feuilles. Les feuilles du Laurier noble sont persistantes et ont une texture coriace. Elles sont simples, alternes et mesurent entre 5 et 12 cm de longueur, avec un pétiole de 2 à 5 cm. Les feuilles sont lancéolées, légèrement ondulées et présentent des incisions sur les bords. Elles ont une couleur vert foncé et sont brillantes sur la face supérieure, tandis que la face inférieure est de couleur vert clair avec des nervures latérales pennées de couleur rougeâtre (Figure 03) (Quezel et santa, 1963).



**Figure 03** : Feuilles de *Laurus nobilis* (Damiani et al., 2014).

#### ➤ Fleurs

Les fleurs du Laurier noble sont de couleur vert blanchâtre et sont regroupées en petits bouquets en forme d'ombelles axillaires ou de courts panicules, situés à l'aisselle des feuilles. Elles sont entourées par un involucre composé de bractées caduques formant 4 dents. Les fleurs mâles sont généralement dotées de 8 à 12 étamines, dont la plupart sont stériles. Elles possèdent une glande nectarifère au centre, dépourvue de pédicelle. Les anthères de ces fleurs s'ouvrent par deux pores, chacun muni d'un clapet droit. Les fleurs femelles portent quant à elles 4 staminodes (Beloued, 2005).

#### ➤ Fruits

Le Laurier noble produit une baie ovoïde, soutenue par un tube périnthaire peu dilaté, mesurant environ 2 cm de longueur et 1 cm de largeur. La baie a une couleur noire brillante et renferme une seule graine libre à l'intérieur (Beloued, 2005).

Le mésocarpe charnu du Laurier noble contient de l'huile ainsi que des cellules renfermant de l'huile essentielle. Les cotylédons, qui sont des structures épaisses présentes dans la graine, sont également riches en lipides. Au départ, le mésocarpe est de couleur verte, puis il évolue pour devenir d'un bleu-noir à maturité (Myose et Paris, 1976).

#### ➤ Tiges

Les tiges des rameaux du Laurier noble sont droites et de couleur grise dans leur partie basse, tandis qu'elles sont vertes dans leur partie haute (Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004). Lorsqu'il est en phase de croissance initiale, le tronc du Laurier noble présente une écorce de couleur verte olive à noire, qui évolue vers une teinte grise au fil des années. La formation d'une

écorce véritable nécessite plusieurs années (Geerts et al., 2002 ; Beloued ,2005; Botineau et Pelt, 2015).

➤ **Bourgeons**

Les bourgeons du Laurier noble sont coniques, étroits, mesurant entre 2 et 4 mm de long. Ils ont une couleur verte avec une légère teinte rouge. Les branches de l'arbre poussent vers le haut et sont densément recouvertes de feuilles. Les jeunes pousses sont fines, lisses, de couleur vert avec une légère teinte rougeâtre (Stursa, 2001).

➤ **Branches**

Les branches du Laurier noble poussent en oblique et sont caractérisées par de jeunes pousses fines, lisses et de couleur brun rougeâtre. Les bourgeons de ces branches sont étroits, de couleur verte avec des nuances de rouge, et mesurent entre 0,2 et 0,4 cm de longueur (Quezel et Santa, 1963).

### **1.8. Répartition géographique de *Laurus nobilis* L.**

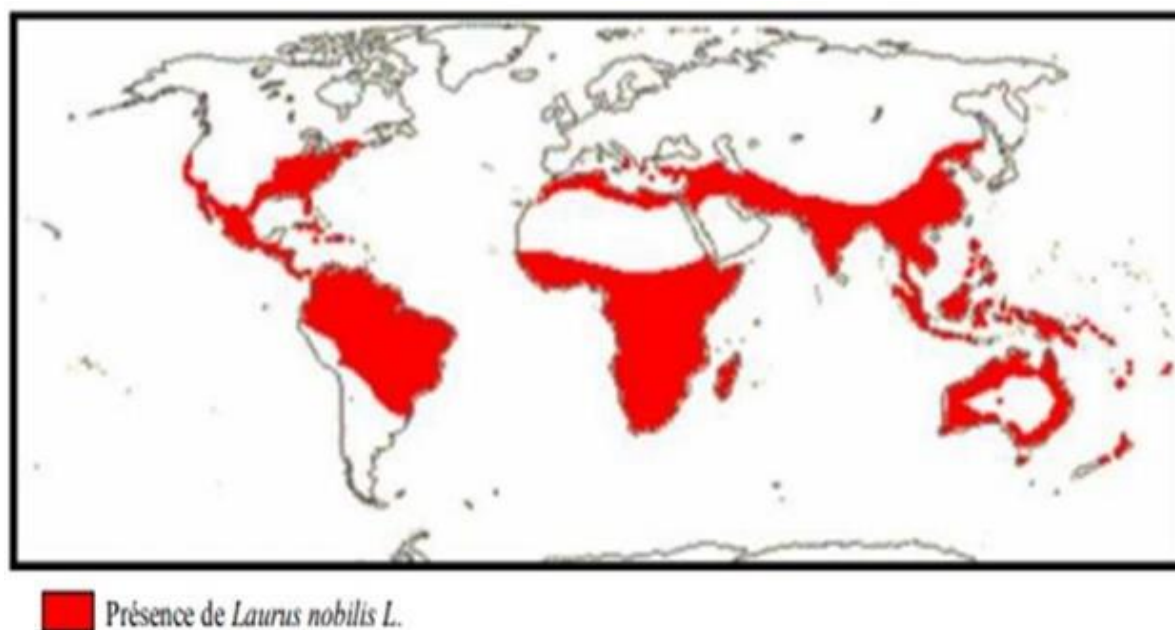
• **Dans le monde**

Le Laurier noble est l'unique représentant de la famille des lauracées dans la région méditerranéenne, notamment en Turquie, en Grèce, en Espagne, en Italie et en France. Il pousse dans des endroits humides et ombragés, et on le trouve également dans les jardins où il est cultivé comme plante aromatique. Actuellement, cette plante est largement cultivée à des fins ornementales dans le sud et l'ouest de l'Europe, en Amérique centrale et aux États-Unis. Elle fait l'objet d'une production commerciale dans de nombreux pays, tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les régions méridionales des États-Unis (Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Barla et al., 2007). Le Laurier noble se trouve principalement dans les régions humides et se développe le long des cours d'eau. Il peut s'adapter à différents types de sols (Messaoudi, 2008).

En Algérie, le Laurier noble est largement répandu en Algérie, en particulier dans les forêts et les ravins humides. Il est commun dans la région du Tell algérois et constantinois. La période de floraison de cette plante se situe généralement entre les mois de mars et avril (Beloued, 2001).

Dans la région du Tel, on trouve à l'état sauvage l'arbuste de laurier, qui est cultivé localement sous le nom de « rend » (Bendjarsia et al., 2016 ; Maatallah et al., 2016).





**Figure 04 :** Répartition géographique des Lauracées à travers le monde (Steven, 2001).

## 2. Composition chimique de *Laurus nobilis*

Différents solvants ont été utilisés pour extraire les composés chimiques de cette plante, et l'analyse des extraits a révélé que cette espèce contient une variété de constituants. La composition des constituants varie considérablement en termes de qualité et de quantité en fonction de l'origine de la plante et de la période de récolte (Fiorini *et al.*, 1998 ; Simić *et al.*, 2003 ; Fang *et al.*, 2005). Les feuilles de la plante contiennent divers composants, notamment du tanin, un principe amer, du mucilage, des matières résineuses et pectiques, ainsi qu'une essence aromatique incolore ou jaune pâle. Cette essence présente une saveur chaude et est composée d'un mélange comprenant environ 45% de cinéol, de méthylchavicol, de pinène, d'eugénol, de linacol, ainsi que d'éthers des acides acétique isobutyrique et valérianique. Les baies de la plante renferment quant à elles environ 17 à 25% d'huile de laurier, 23% d'amidon, 2% de sucre, 0,85% de principes amers, ainsi qu'une résine, du mucilage, de la bassorine et environ 1 à 3% d'essence (Beloued, 2009). Les baies de la plante renferment environ 25% d'huile grasse et peuvent contenir jusqu'à 3% d'huile volatile composée de cinéol, de géranol et de linalol. Les feuilles, quant à elles, sont riches en huile volatile, comprenant environ 45% de cinéol, ainsi qu'un principe amer et du tanin (Peris et Blázquez, 2015). Les feuilles et les baies contiennent également des flavonoïdes apolaires, des lactones, des sesquiterpènes et de la vitamine E (Kivçak *et al.*, 2002). Les flavonoïdes, les acides phénoliques et les alcaloïdes sont présents dans les feuilles de Laurier, comme le rapportent (Simić *et al.*, 2003).

Les feuilles de *Laurus nobilis* renferment également des flavonoïdes polaires, tels que des dérivés glycosylés de la quercétine, du kaempférol et de la catéchine, ainsi que des flavonoïdes apolaires, notamment quatre dérivés acylés de kaempférol (Fiorini, et al., 1998; Kivçak et Mert, 2002). De plus, elles contiennent des alcaloïdes isoquinoléiques tels que la réticuline et des aporphinoïdes (Brunton, 2009).

Des études menées par Gómez-Coronado et al. (2004) ont mis en évidence la présence abondante d' $\alpha$ -tocophérol dans les feuilles de *Laurus nobilis*. Par conséquent, 100 g de feuilles fraîches de Laurier noble contiennent environ 132,2 mg de vitamine E.

### 3. Huile essentielle du laurier noble

Une essence végétale, également connue sous le nom d'huile essentielle, est un composé produit par les plantes en tant que métabolite secondaire pour des besoins non nutritionnels. Elle se présente sous forme d'une huile aromatique, légère et liquide à température ambiante, avec une densité inférieure à celle de l'eau et une solubilité élevée dans les solvants organiques. En général, elle possède une couleur distincte (jaunâtre dans le cas du laurier) et une grande volatilité, ce qui lui permet de se diffuser facilement dans l'air et de dégager une agréable odeur. Une essence végétale peut contenir de 20 à 60 composés aromatiques responsables de sa saveur (Chahal et al., 2017).

Depuis la nuit des temps, l'extraction des huiles à partir de plantes est pratiquée. Au XVI<sup>e</sup> siècle, l'alchimiste suisse Von Hohenheim a décrit le processus de distillation, ouvrant ainsi la voie à la commercialisation des huiles essentielles. Au cours du XX<sup>e</sup> siècle, plus de 100 pays sont devenus producteurs d'huiles essentielles (El-Tarabily et al., 2021).

Différentes études ont clairement indiqué que la méthode d'extraction, telle que l'hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur, a un impact significatif sur la qualité et la quantité des huiles essentielles. Le choix de la technique d'extraction repose donc sur plusieurs paramètres importants, tels que la réduction du temps d'extraction, la minimisation de la consommation d'énergie et la préservation des composants de l'huile afin d'éviter toute dégradation (Taban et al., 2018).

### 4. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis*

La composition chimique d'une huile essentielle est influencée par divers facteurs liés à la plante elle-même, ses caractéristiques génétiques, la durée de séchage et à son environnement. De plus, chaque étape, de la récolte de la matière végétale, au stockage de l'huile essentielle,

peut entraîner des variations dans la concentration des composés ou même l'émergence de nouvelles molécules (Deschepper, 2017 ; Belasli et al., 2020).

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a révélé les principaux composants de l'huile essentielle du laurier noble, notamment le 1,8-cinéole, le camphène, le linalol, le méthyl eugénol, le sabinène, l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -pinène et le terpinène-4-ol (Belasli et al., 2020).

Des études antérieures ont identifié jusqu'à 270 composés dans les huiles essentielles extraites des feuilles de Laurier, dont les principaux sont les suivants : le 1,8-cinéole (22-56%), le linalol (0,9-26,9%), l'acétate d' $\alpha$ -terpinyle (4,5-18,2%), l' $\alpha$ -pinène (2,2-15,9%), le  $\beta$ -pinène (1,9-15,3%), le sabinène (4,5-12,7%), l' $\alpha$ -terpinéol (0,9-12,0%) et le terpinéol-4 (0,9-4,1%) (Stefanova et al., 2020).

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* est constituée de cinquante-six composés représentant 100% de la totalité des constituants détectés et appartenant à six familles (Bouzidi, 2021) :

**Tableau 10** : Familles des composants chimiques de l'HE de *Laurus nobilis* (Bouzidi, 2021).

Familles des composés	Concentrations (%)
Alcools secondaires	1,94
Phenylpropanoïdes	2,64
Sesquiterpènes hydrocarbonés	3,45
Sesquiterpènes oxygénés	5,15
Monoterpènes hydrocarbonés	17,09
Monoterpènes oxygénés	65,62
Divers	4,11

La composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. a fait l'objet de plusieurs travaux à plusieurs régions dans le monde. Les résultats obtenus dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. sont présentés dans le **tableau 11**.

**Tableau 11** : Variation de la composition chimique de l'HE des feuilles de *Laurus nobilis* dans différents pays.

Composées majoritaires	Organe	Pays	Références
1,8-Cinéole (25,62%), Linalol (11,83%), $\alpha$ -Terpinyl acétate (10,18%), Méthyl eugénol (11,07%)	Feuilles	Algérie	(Bouzidi, 2021)
1,8-Cinéole (41,1%), Sabinène (6,96%), $\alpha$ -Pinène (5,25%), humulène époxide II (5.73 %), $\alpha$ -Terpinyl acétate (5.72 %)	Feuilles	Turquie	(Tomar et al., 2020)
1,8-Cinéole (30.1%), $\alpha$ -Terpinyl acétate (21.6%), Méthyl eugénol (16.9%)	Feuilles	Algérie	(Nabila et al., 2020)
1,8-Cinéole (41%), $\alpha$ -Terpinyl acétate (14,4%), Sabinène (8,8%), Méthyl eugénol (6%)	Feuilles	Bulgarie	(Fidan et al., 2019)
1,8-Cinéole (18,0%), Terpinène-4-ol (13,1%), Sabinène (7,8%), $\alpha$ -Pinène (4,5%)	Feuilles	Turquie	(Elkiran et al., 2018)
1,8-Cinéole (46.8%), Sabinène (7,8%), $\alpha$ -Pinène (6.1%), $\gamma$ -Terpinène (4.4%)	Feuilles	Tunisie	(Dhifi et al., 2018)
1,8-Cinéole (46,16%), $\alpha$ -Terpinyl acétate (10,62%), $\alpha$ -Pinène (6,27%), Terpinène-4-ol (5,07%)	Feuilles	Turquie	(Kivrak et al., 2017)
1,8-Cinéole (31,9%), Sabinène (12,2%), Linalol (10,2%)	Feuilles	Italie	(Caputo et al., 2017)
1,8-Cinéole (33,69%), Linalol (15,66%), Sabinène (7,02%), $\alpha$ -Terpinyl acétate (14,81%)	Feuilles	Brésil	(Fernandez-Andrade et al., 2016)
1,8-Cinéole (45,36%), Bornylene (17,25), Linalol (10,2%), Sabinène (7,48%)	Feuilles	Algeria	(Goudjil et al., 2015)

1,8-Cinéole (60,50%), Sabinène (6,63%), $\alpha$ -Pinène (3,72%), Terpinène-4-ol (3,29%)	Feuilles	Liban	<b>(Said et Hussein, 2014)</b>
1,8-Cinéole (24,55%), Linalol (17,67%), Méthyl eugénol (6%), Isovaléraldéhyde (9,65%)	Feuilles	Tunisie	<b>(Jemâa et al., 2012)</b>
1,8-Cinéole (38,86%), Isovaléraldéhyde (10,47%), Linalol (9,45%), $\alpha$ -Terpinéol (5,83%)	Feuilles	Maroc	
1,8-Cinéole (34,62%), Linalol (12,57%), Camphène (8,91%), Isovaléraldéhyde (8,82%)	Feuilles	Algérie	
1,8-Cinéole (25,7%), Sabinène (8,7%), $\alpha$ -Pinène (5,25%), $\alpha$ -Terpinène (3,48%)	Feuilles	Iran	<b>(Maghtader et Salari, 2012)</b>

## 5. Utilisation traditionnelle et vertus thérapeutiques des feuilles *Laurus nobilis*

Le laurier noble, est une plante qui revêt une grande importance dans l'industrie, et elle est utilisée dans divers domaines tels que l'alimentation, la médecine et l'industrie cosmétiques. Depuis longtemps, le laurier est utilisé dans la médecine traditionnelle pour ses nombreuses propriétés pharmacologiques, parmi lesquelles on peut citer son effet antibactérien, antioxydant, anticancéreux, insecticide et antifongique (**Bendjersia et al., 2016**).

Les feuilles de *Laurus nobilis* L., largement réputées, elles sont parmi les épices les plus célèbres dans le monde entier. Elles sont couramment utilisées comme condiment dans la cuisine, ajoutées aux potages, ragoûts, sauces, etc., et servent également d'aromatisant dans l'industrie alimentaire. En plus de son utilisation culinaire, cette plante possède une valeur significative en médecine traditionnelle et suscite un intérêt croissant dans la recherche scientifique récente (**Simić et al., 2003**). Le laurier est principalement employé par voie orale pour soulager les symptômes des troubles liés à la partie supérieure du système digestif, tels que les ballonnements épigastriques, la lenteur de la digestion, les éructations et la flatulence (**Iserin, 2001**).

Dans la médecine traditionnelle turque, l'extrait aqueux du laurier est utilisé pour ses propriétés antihémorroïdales, antirhumatismales, diurétiques, ainsi que comme antidote en cas de morsures de serpent et pour traiter les maux d'estomac (**Kivçak et Mert, 2002**).

Les feuilles de cette plante ont été également utilisées dans la médecine traditionnelle iranienne pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (**AqiliKhorasani, 1992**).

Le laurier noble possède des propriétés thérapeutiques reconnues dans la médecine traditionnelle et la pharmacologie, notamment des propriétés anti-inflammatoires et antiseptiques grâce aux composants qu'elle renferme (**Bouchaale et al., 2015**).

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* est utilisée dans les bains antirhumatismaux ainsi qu'en frictions pour les foulures, abcès, ulcères, gale, pelade, pédiculose, psoriasis et mycoses. Il est utilisé aussi contre la chute des cheveux (**Iserin et al., 2001 ; Bardeau, 1976**). En outre, l'huile essentielle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants (**Demir et al., 2004 ; Beloued, 2005**).

Les feuilles de laurier sont récoltées puis séchées à l'abri de la lumière pour être utilisées principalement en cuisine française, où elles sont souvent réduites en poudre pour les soupes

ou comme condiment. L'écorce du laurier peut être utilisée dans la préparation de tisanes médicinales. Les arbres de laurier sont également prisés par les fleuristes pour la confection de haies en raison de leur feuillage magnifique (Chahal et al., 2017). Le laurier est également utilisé comme un bio-pesticide d'origine végétale pour protéger les cultures (Haouel-Hamdi et al., 2020), et il revêt une importance considérable dans le traitement de diverses maladies telles que l'épilepsie, la névralgie, le parkinsonisme, l'aménorrhée, l'hystérie, la sclérose, les spasmes, les rhumatismes articulaires, la lèpre, la cystite, la syphilis, les plaies, les brûlures, les saignements, les inflammations, les soins contre le cancer, la réduction de l'anxiété, les insomnies, etc (El-Tarabily et al., 2021).

L'huile essentielle de laurier noble a été utilisée en médecine populaire pour traiter les rhumatismes et les dermatites. Cependant, l'attention doit être donnée au dosage car il peut provoquer des allergies (Kilic et al. 2004).

Les huiles essentielles ou la fumigation des feuilles de laurier sont également utilisées comme insectifuges et insecticides contre les insectes domestiques et les ravageurs des cultures (Baydoun et al. 2017).

#### **6. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis***

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle semble être influencée par la structure chimique des molécules aromatiques, leurs proportions ainsi que par leurs actions combinées à plusieurs niveaux de la structure bactérienne. Certaines études ont montré que l'huile essentielle intégrale donne une activité antibactérienne plus importante que le mélange des composants majoritaires. Cela laisse penser que les molécules minoritaires sont également impliquées dans ce processus biologique et qu'un effet synergique ou additif peut avoir lieu entre les différents composants d'une huile (Bouhdid et al., 2012).

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) ou ceux susceptibles d'être actifs. Mais, il est probable que cette activité dépende aussi de composés minoritaires qui agissent d'une manière synergique (Burt, 2004 ; Lahlou, 2004).

Diverses études ont été réalisées afin d'explorer les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* (Tableau 05). Les chercheurs se sont penchés sur l'efficacité de l'huile extraite des feuilles de laurier noble contre différentes souches bactériennes. Les résultats obtenus ont démontré une variation de l'activité antibactérienne, qui dépend de la composition

chimique de l'huile (la structure chimique des molécules aromatiques, leurs proportions et leurs actions combinées à plusieurs niveaux de la structure bactérienne), les méthodes d'extractions utilisées et les conditions environnementale et climatique de la région de récolte de la plante.

Selon **Sivropoulou et al. (1997)**, le composé majoritaire de l'HE de laurier, le 1,8-cinéole ou eucalyptol, est à l'origine de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Selon **Bennadja et al. (2013)**, les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. présentent des effets antibactériens contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratia sp*.

Une étude faite par **Simiç et al. (2004)** montre que *Laurus nobilis* L. possède une activité antifongique contre *Aspergillus sp* et *Penicillium sp*.

D'après **Miliani, (2018)** L'activité antimicrobienne a montré que l'huile essentielle possède un spectre antimicrobien considérable contre toutes les souches pathogènes testées (*Bacillus subtilis* ATCC 9372, *Escherichia coli* ATCC 4157, *Entérocooccus faecium* ATCC 6569, *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Entérocooccus faecalis* ATCC 29212, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Proteus mirabilis* ATCC 49452, *Listera monocytogenes* ATCC 15313, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 a l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui reste insensible.

L'efficacité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. est due à la présence de certains composés agissant probablement en synergie (**Derwich et al., 2009**).

Il a été rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* semblent vraisemblablement être due au linolol,  $\alpha$  terpinéol, eugénol, caryophyllène, nérolidol,  $\alpha$ -humulène et viridiflorol (**Santoyo et al., 2006**).



**Tableau 12 :** Activité antimicrobienne (concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Diamètres des zones d'inhibition (ZI) de l'HE de feuilles de laurier noble.

Souches bactérienne	Origine	CMI (mg/ml)	ZI (mm)	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Turquie	12.50	-	<b>(Özogul et al., 2022)</b>
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212		25	-	
<i>Salmonella paratyphi</i> A NCTC 13		3.13	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603		12.50	-	
<i>Photobacterium damsela</i>		12.50	14.50±0.5	
<i>Enterococcus faecalis</i>		>25	6.19±0.55	
<i>Proteus mirabilis</i>		>25	15.50±0.71	
<i>Vibrio vulnificus</i>		≥25	18.50±0.4	
<i>Serratia liquefaciens</i>		25	16.75±0.65	
<i>Pseudomonas luteola</i>		1.56	12.25±0.50	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Oman	-	14±0.09	<b>(Al-Abri et al., 2020)</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		-	12±0.55	
<i>Escherichia coli</i>		-	6±0.2	

<i>Micrococcus luteus</i>	maroc	22.2	10.0±0.33	<b>(Nafis et al., 2020)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> CCMM B3		5.5	10.0±0.31	
<i>Bacillus.subtilis</i> ATCC 9524		1.39	14.0±0.20	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		>22.5	9.00±0.45	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10240		22.5	9.00±0.54	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Cliniquement isolé)		>22.5	9.00±0.60	
<i>Streptococcus faecalis</i>	Turquie	0.25	11.2	<b>(Nabila et al., 2020)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.25	13.6	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0.75	7.4	
<i>Escherichia coli</i>		0.5	9	
<i>Escherichia coli</i> O : 157 H : 7	maroc	0.75±0.03 mg/l	27.1±1.15	<b>(Tomar et al., 2020)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.75±0.02 mg/l	23.1±1.57	
<i>Salmonella pullorum</i>		0.37±0.04 mg/l	25.2±1.48	
<i>Enterococcus faecalis</i>		0.75±0.05 mg/l	28.0±1.33	
<i>Listeria monocytogenes</i>		0.37±0.03 mg/l	14.2±1.24	
<i>Shigella dysenteria</i>		0.75±0.06 mg/l	16.2±1.33	

<i>Bacillus cereus</i>		0.75±0.06 mg/l	17.2±1.16	
<i>Escherichia coli</i>	Turquie	0.5	13.73±0.25	<b>(Goudjil et al., 2015)</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		0.11	21.93±0.4	
<i>Salmonella enterica</i>		0.2	20.47±0.68	
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.25	14.50 ± 0.5	
<i>Proteus sp.</i>		0.33	12.13±0.06	
<i>Staphylococcus Sp</i>		0.66	13.03±0.25	
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 976		Portugal	4 µl/ml	
<i>Listeria monocytogenes</i> EGD-e	0.5 µl/ml		32.5 ± 2.5	
<i>Listeria monocytogenes</i> CECT 4031	1 µl/ml		14.0 ± 0.7	
<i>Enterococcus faecium</i> CECT 4932	14 µl/ml		24.0 ± 1.0	
<i>Bacillus subtilis</i> CECT 4071	4 µl/ml		33.3 ± 2.2	
<i>Escherichia coli</i> O157 :H7	4 µl/ml		15.3 ± 1.8	
<i>Escherichia coli</i> CECT 471	14 µl/ml		23.7 ± 0.4	
<i>Yersinia enterocolitica</i> CECT 4315	8 µl/ml		19.2 ± 1.1	
<i>Salmonella</i> Senftenberg CECT 4563	4 µl/ml		19.2 ± 1.1	

<i>Brochothrix thermosphacta</i> CECT 847	Portugal	2,3	-	<b>(Ramos et al., 2012)</b>
<i>Listeria innocua</i> CECT 910		2,3	-	
<i>Listeria monocytogenes</i> CECT 5873		1,1	-	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		1,1	-	
<i>Pseudomonas putida</i> CECT 7005		0.5	-	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC14028		9	-	

## **7. Applications de *Laurus nobilis* dans le domaine alimentaire**

Les feuilles de laurier noble dégagent une odeur aromatique caractéristique lorsqu'elles sont froissées, elles sont condimentaires, très utilisées par l'industrie agroalimentaire surtout par les conserveries des poissons. Aussi, la plante peut être utilisée traditionnellement en phytothérapie (**Dias et al., 2014**). En outre, les feuilles du laurier noble possèdent une activité antioxydante (**Dias et al., 2014**), et des propriétés spécifiques capables de conserver les aliments (**Brahmi et al., 2015**), les olives (**Elharas et al., 2013**), les saucisses (**Da Silveira et al., 2014**), les poissons (**Snuossi et al., 2016**) car elles contiennent des activités antibactériennes (**Nadeem et al., 2018**), et d'améliorer en général la sécurité des produits (**Houicher et al., 2016**).

---

## *Partie Expérimentale*

---

---

*Chapitre III*  
*Matériel et Méthodes*

---

L'objectif de cette étude est d'augmenter la durée de vie du lait réfrigéré par supplémentation de molécules bioactives d'origine végétale. A cet effet, l'huile essentielle de l'espèce *Laurus nobilis* à plusieurs concentrations est ajoutée au lait cru de vache, dans le but de réduire sa charge bactérienne au cours de sa conservation. La croissance bactérienne est observée durant huit jours en comparant le lait témoin (sans ajout de l'HE) avec celui après addition de l'HE. L'expérience permettra d'investiguer l'effet inhibiteur de cette huile sur la croissance bactérienne du lait cru, et donc déterminer son potentiel comme un bioconservateur de lait cru de vache.

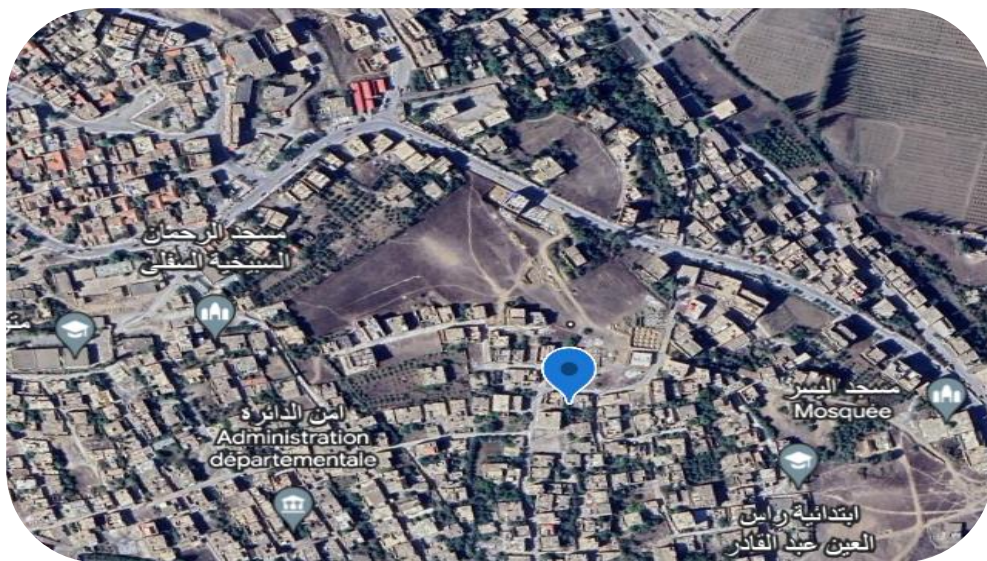
## 1. Matériel utilisé

Le matériel, produits et réactifs utilisés dans l'expérimentation sont présentés dans l'annexe 01 et 02.

## 2. Matériel végétal

### 2.1. Provenance du matériel végétal

Les feuilles de *Laurus nobilis* (**Figure 06**) utilisées ont été collectées dans la région d'Ain Baida Harriche (Sibkhia) Wilaya de Mila (Nord Est Algérien), située à une altitude de 524,66194 mètres et dans une zone semi-aride, aux coordonnées géographiques de 36,3964716° de latitude nord et 5,8962554° de longitude ouest (**Figure 05**). Le matériel végétal est récolté durant le mois de décembre 2023. La cueillette a été réalisée en utilisant l'ensemble des parties aériennes de la plante.



**Figure 05** : Situation géographique de la région de récolte de feuilles de *Laurus nobilis* (sbikhia).





**Figure 06** : Photographie originale de l'espèce *Laurus nobilis*, (16/12/2022).

## 2.2. Préparation de matériel végétal

### 2.2.1. Séchage

Les feuilles du Laurier noble sont nettoyées de la poussière et séchées pendant 20 jours à l'air libre, à l'ombre sur du papier propre, et à une température ambiante, en évitant l'exposition à l'humidité, sans utilisation de traitement thermique pour minimiser la perte de leurs composants actifs (**Figure 07**). Elles sont ensuite conservées dans des sacs en papier propres jusqu'à leur utilisation ultérieure.



**Figure 07** : Feuilles séchées de *Laurus nobilis*, photographie originale (15/01/2023).

### 2.2.2. Broyage

À l'aide d'un broyeur électrique, les feuilles de laurier noble séchées sont réduites en fractions (**Figure 08**), puis stockées dans un bocal en verre propre et sec, hermétiquement fermé et conservées à une température ambiante (à l'abri de la lumière et humidité).



**Figure 08** : Fractions de feuilles de *Laurus nobilis*, photo originale (21/01 /2023).

## 3. Extraction et conservation de l'huile essentielle du laurier noble

L'extraction de l'HE est effectuée au niveau du laboratoire de la valorisation des ressources biologiques naturelles de l'Université Ferhat Abbas, Sétif 1 par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (**Clevenger, 1928**). Il s'agit de la plus simple méthode et de ce fait, la plus anciennement utilisée.

### 3.1. Principe d'extraction

Pour extraire l'huile essentielle des feuilles de laurier noble, une méthode d'extraction par hydrodistillation à l'aide d'un appareil du type Clevenger est utilisée (**Figure 9**). Dans cette méthode, 643.5 g de la matière végétale broyée est mis dans un ballon en verre de 5 litres dans lequel 3 litres de l'eau distillée sont ajoutés. Le ballon est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon pendant quatre heures telle qu'elle a été décrite par **Sangun et al. (2007)**, ce qui permet de libérer les molécules volatiles des cellules végétales. Les molécules sont entraînées par la vapeur d'eau vers un réfrigérant, où elles se condensent en gouttelettes d'huile essentielle et puis sont récupérées dans un tube qui sert de réservoir de récupération de l'huile (**Figure 10**). L'HE se sépare de l'hydrolat par une simple différence de densité.



**Figure 09** : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger, photo originale (06/02/2023).



**Figure 10** : Séparation de l'huile essentielle de laurier noble et l'hydrolat, photo originale (06/02/2023).

### **3.2. Conservation de l'huile essentielle**

Après extraction, l'huile essentielle de laurier noble est récupérée dans des flacons en verre ambrés hermétiquement fermés pour éviter la perte des molécules volatiles ainsi que les actions d'oxydation (**Figure 11**). L'ensemble est conservé dans un réfrigérateur à 4°C. Cette méthode de conservation évite l'altération la qualité phytochimique de l'huile.



**Figure 11** : Huile essentielle de laurier noble, photo originale (06/02/2023).

### 3.3. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière végétale sèche utilisée (AFNOR, 1987). Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R \% = \text{PHE} / \text{PMVS} \times 100$$

Dont :

**R** : Rendement en huile essentielle en %.

**PMVS** : Poids de la matière végétale sèche en g.

**PHE** : Poids de l'huile essentielle en g.

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

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a été évaluée par la méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé (Bauer et al., 1966).

#### ➤ Choix des souches

Les souches ont été aimablement fournies par le laboratoire de recherche de la microbiologie appliquée de l'Université Ferhat Abbas, Sétif 1 (Figure 12). On a essayé d'élargir la gamme de bactéries testées entre Gram (+) et Gram (-) :

#### ✓ Bactérie à GRAM-

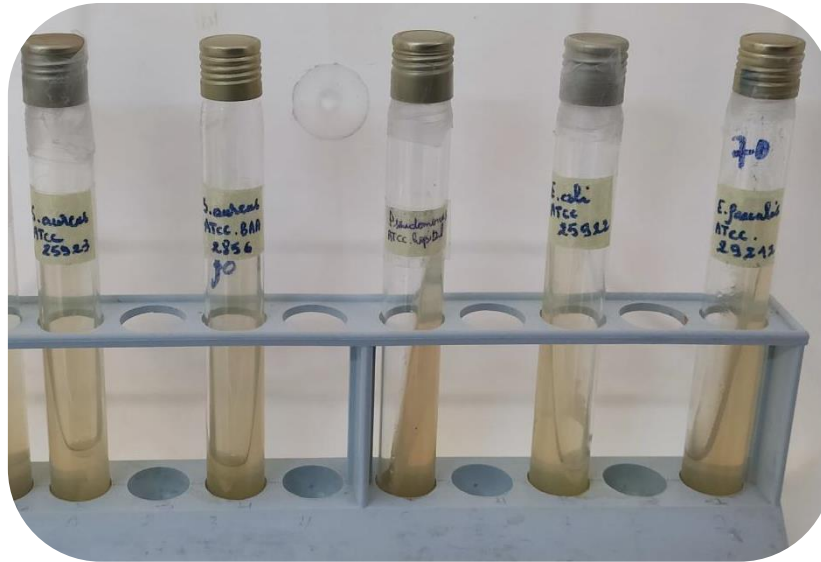
**Enterobacteriaceae** : *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Pseudomonadaceae** : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

## ✓ Bactérie à GRAM+

**Enterococcaceae** : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

**Micrococaceae** : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* BAA-2856.



**Figure 12** : Souches bactériennes utilisées photo originale 07/03/2023.

## ➤ Conservation des souches bactériennes

Les souches bactériennes sont conservées à 4°C dans des tubes de gélose nutritive stérile et inclinée (10ml) pendant toute la durée de l'étude, et utilisées comme cultures mères.

**4.1. Milieux de culture**

Selon la méthode employée, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants :

- Gélose Nutritive.
- Gélose Mueller Hinton.

**4.1.1. Préparation des milieux de culture**➤ **Gélose Nutritive**

Avec une composition relativement simple, la gélose nutritive apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une large gamme de micro-organismes. Elle est utilisée pour réactiver les bactéries utilisées dans le test antibactérien et pour le dénombrement des bactéries du lait.

Pour préparer la gélose nutritive, on dissout 28 grammes de la poudre dans 1 litre d'eau distillée. Le mélange est chauffé à ébullition dans un erlenmeyer de 1 litre placé sur une plaque chauffante agitatrice, assurant une dissolution complète du milieu. Une fois dissoute, la gélose préparée est versée dans des flacons en verre, puis stérilisée par autoclave pendant 15 minutes à une température de 121 °C. Après la stérilisation, les flacons sont laissés à refroidir et conservés jusqu'à leur utilisation ultérieure (**Figure 13**).



**Figure 13** : Préparation de milieu de culture gélose nutritive.

#### ➤ **Gélose Mueller Hinton**

La gélose Mueller Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antibactérien par la méthode de diffusion par disque sur milieu gélosé.

Pour préparer le milieu de gélose Mueller Hinton, 38 grammes de poudre de gélose sont dissous dans 1 litre d'eau distillée. Le mélange est chauffé à ébullition dans un erlenmeyer de 1 litre sur une plaque chauffante agitatrice jusqu'à dissolution complète du milieu. Une fois le milieu préparé, il est versé dans des flacons en verre et stérilisé par autoclave pendant 15 minutes à une température de 121 °C. Après stérilisation, les flacons sont laissés à refroidir et conservés jusqu'à leur utilisation ultérieure (**Figure 14**).

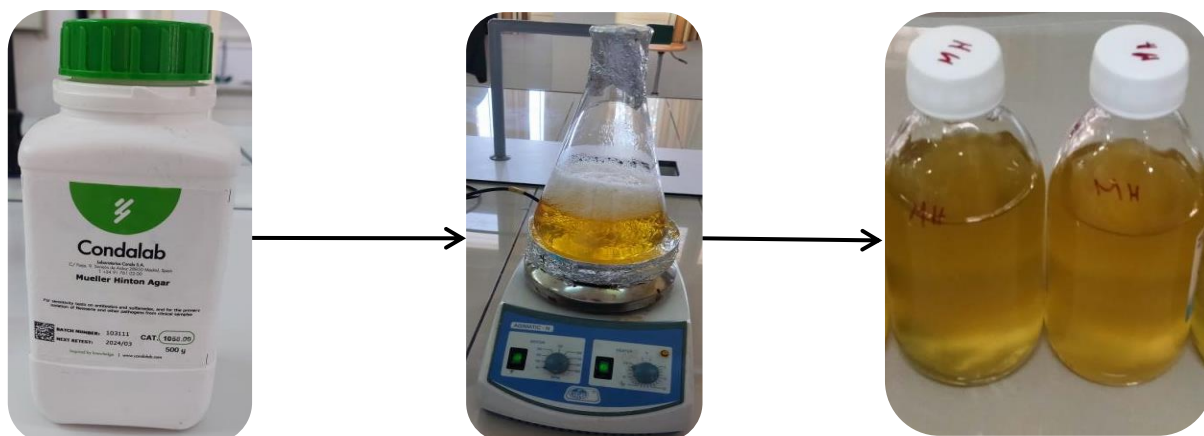


Figure 14 : Préparation de milieu de culture gélose Mueller Hinton.

## 4.2. Préparation de l'eau physiologique

Un sérum physiologique est une solution composée d'eau stérile et de chlorure de sodium. Pour préparer l'eau physiologique, on dissout dans 1 litre d'eau distillée 9 grammes de NaCl, puis on verse 9ml de l'eau physiologique dans des tubes à vis (**Figure 15**). Les tubes à vis ont ensuite subi une stérilisation par autoclave pendant 15 minutes à 121°C, et après sont conservés jusqu'à l'utilisation.

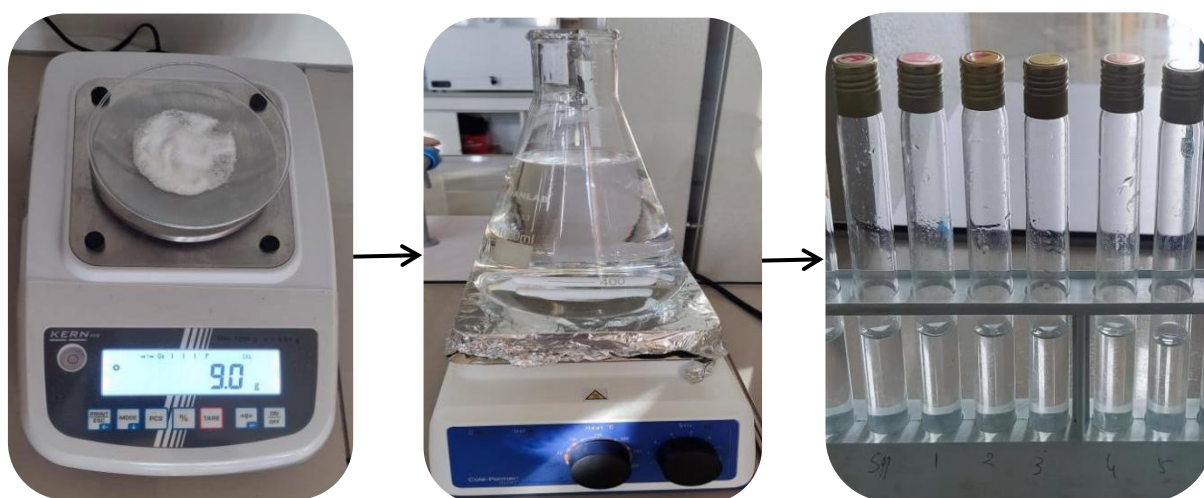


Figure 15 : Préparation de l'eau physiologique.

## 4.3. Préparation de l'inoculum

### 4.3.1. Préparation de la préculture

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. Les cultures bactériennes ont été réactivées par sous-culture sur gélose nutritive solidifiée dans des boîtes de Pétri et incubées pendant 18 à 24 h à 37°C (**Figure 16**).



Figure 16 : réactivation des souches bactériennes.

#### 4.3.2. Préparation de la suspension bactérienne

Après 24 heures d'incubation, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sur GN sont prises par pipette Pasteur et déchargées dans un tube à vis contenant 9 ml de l'eau physiologique stérile (**Figure 17**). Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide de vortex, la densité optique est lue par spectrophotomètre à 625nm dont la valeur doit être entre 0.08 et 0.1 et qui correspond 0,5 McFarland ( $10^8$  UFC.ml<sup>-1</sup>).

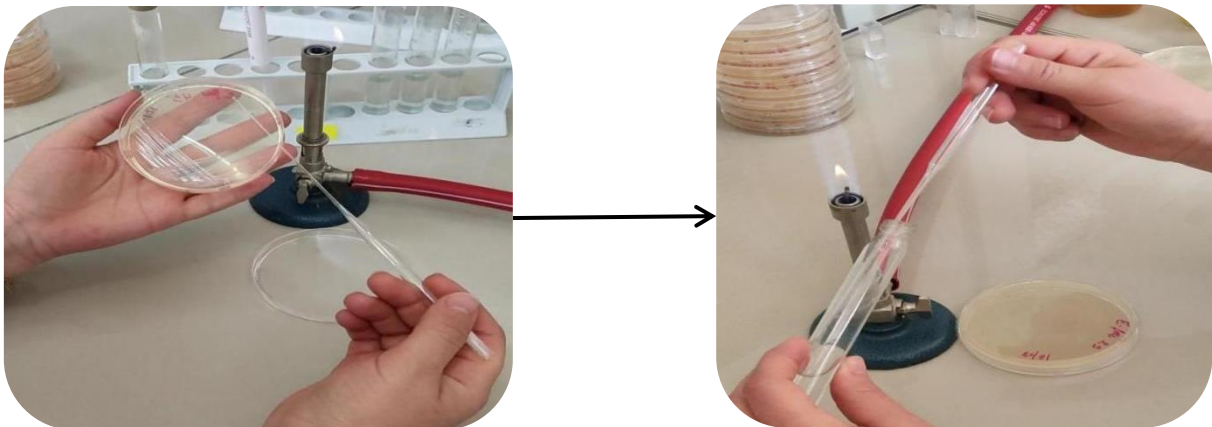


Figure 17 : Préparation de la suspension bactérienne.

#### 4.4. Ensemencement des souches bactériennes

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture GMH en surfusion est coulé aseptiquement en raison de 15 à 20ml par boîte, et après solidification, les boîtes sont ensemencées par écouvillonnage à partir des inocula standardisés à  $10^8$  UFC.ml<sup>-1</sup>. Au fait, un écouvillon stérile est introduit dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, et puis des stries parallèles et serrées que possible sont réalisés à la surface de la gélose dans le but d'avoir un tapis bactérien (**Figure 18**). L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte à environ



60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même après chaque application pour avoir une distribution égale de l'inoculum.



**Figure 18 :** Ensemencement des souches bactériennes.

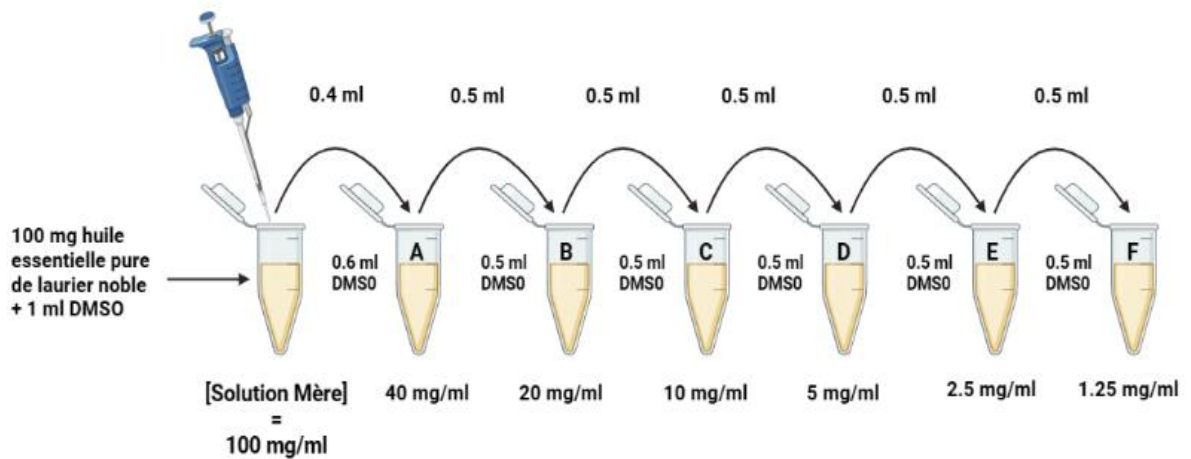
#### 4.5. Aromatogramme

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées a été évaluée par la technique de diffusion sur gélose (**Bauer et al., 1966**), appelé aussi aromatogramme ou méthode de Vincent.

le principe de l'aromatogramme est inspiré de l'antibiogramme, il consiste à tester la réaction des souches bactériennes vis-à-vis l'huile diffusée sur la gélosé MH coulée dans une boîte à Pétri. L'apparition d'un halo d'inhibition autour du disque ainsi que son diamètre reflète l'effet de l'HE, ces observations déterminent la sensibilité ou la résistance des bactéries testées.

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

L'huile essentielle de laurier noble est dissoute dans le DMSO puisque d'un côté, il permet une très bonne dispersion des HE et d'un autre côté, il n'a aucun effet sur les bactéries (**NCCLS, 2005**). Une série de concentrations décroissantes est préparée allant de 40 mg/ml à 1,25 mg/ml, sachant que la solution mère de l'HE diluée est préparée auparavant avec une concentration de 100mg/ml. Les différentes concentrations sont distribuées dans des eppendorf stériles codés A= 40 mg/ml, B= 20 mg/ml, C= 10 mg/ml, D= 5 mg/ml, E= 2,5 mg/ml et F= 1,25 mg/ml (**Figure 19**).



**Figure 19** : préparation de la gamme de concentration décroissante en huile essentielle de laurier noble.

#### 4.5.2. Dépôt des disques sur la gélose Mueller-Hinton

A la surface de chaque boîte de Pétri pré-codée avec le nom de la souche bactérienne ensemercer et les dilutions de l'huile à appliquer sur les disques, cinq disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre sont déposés en utilisant une pince stérile. 10  $\mu$ l de chaque dilution de l'HE de *Laurus nobilis* est ensuite déposé sur un disque de papier filtre (une dilution pour chaque disque) en suivant l'ordre des concentrations, A, B, C, D, E et F (**Figure 20**).

Deux témoins sont réalisés dans ce test, un témoin négatif réalisé en mettant 10  $\mu$ l de DMSO sur un disque de papier filtre, et un témoin positif correspond à un disque d'antibiotique qui est la Gentamicine. Les deux disques sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose d'une autre boîte de Pétri pour chaque souche bactérienne testée. Les boîtes sont laissées 30 minutes à température ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.



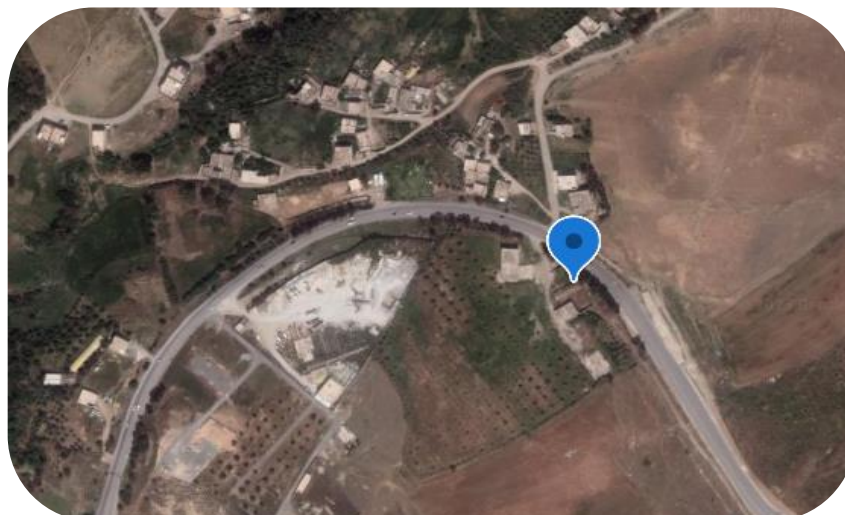
**Figure 20** : Application des disques et dépôt de l'HE de laurier noble sur la surface de gélose Mueller Hinton.

### 4.5.3. Lecture d'aromatogramme

Après incubation pendant 24h dans une étuve à 37°C, la lecture a été faite. L'effet de l'huile essentielle sur les souches bactérienne étudiées est estimé par l'apparition d'un halo clair autour de chaque disque. Le diamètre de la zonz d'inhibition de la croissance est mesuré par le pied à coulisse et exprimé en mm (y compris le diamètre du disque de 6 mm).

## 5. Échantillonnage du lait

Des échantillons de lait cru ont été prélevés dans une ferme laitière située dans la commune de Mila (36°28'14.6"N 6°16'52.8"E), à une altitude de 311,4276869 mètres et des coordonnées géographiques de 36,4710837 de latitude et de 6,278061 de longitude (**Figure 21**). Au total, 4 litres de lait cru de vache ont été prélevés sur une vache saine de la race "Montbéliarde" Pie rouge.



**Figure 21** : Région de prélèvement de lait cru de vache.

La vache d'étude était suivie régulièrement par un vétérinaire avec vaccination à jour, elle a été nourrie au foin et pâturage avec une production journalière de 13 L deux traite par jour. Les Caractéristiques de la vache laitière sont représentées dans la (**Figure 22**).

Au moment de l'échantillonnage, les extrémités des trayons ont été nettoyées, les premiers jets ont été éliminés puis quatre litres de lait ont été prélevés à partir des quatre mamelles dans deux bocaux en verre stérile. Puis les échantillons ont été transportés au laboratoire dans une glacière.

RACE	Montbéliarde
ROBE	Pie rouge
AGE	2 ans
ETAT DE SANTÉ	Saine
LA TRAITE	Deux fois par jour
QUNTITÉ DE LAIT PAR JOUR	13 litres

**Figure 22** : Fiche Technique et caractéristiques de la vache laitière d'étude.

Les travaux expérimentaux sur le lait cru sont lancés le 26 mars 2023 afin d'étudier la cinétique de la croissance bactérienne de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) présente dans le lait après l'addition de l'HE de laurier noble. En effet, l'HE est ajoutée à différentes concentrations :  $C_1=10\text{mg/ml}$ ,  $C_2=5\text{mg/ml}$  et  $C_3=2,5\text{mg/ml}$  à partir du premier jour (Jour 0). Des prélèvements sont effectués à un intervalle régulier (0, 2, 4, 6, 8 jours) des échantillons conservés à  $4^\circ\text{C}$  pour suivre le développement bactérien pendant cette période.

### 5.1. Préparation des échantillons de lait cru de vache

Après avoir bien agiter le bocal du lait cru, on prend 8 flacons en verre stériles (180ml) et on verse 100 ml de lait dans chacun d'eux par pipette graduée stérile, quatre flacons sont utilisés pour l'analyse microbienne et quatre flacons sont réservés aux analyses physico-chimiques. Parmi les 4 flacons préparés, trois sont réservés à la supplémentation de l'HE et un flacon est utilisé comme témoin sans addition de l'HE (**Figure 23**).

Le passage de col de chaque flacon à travers la flamme bleue d'un bec benzène avant et après le versement de lait a permis une bonne stérilisation pendant l'expérience et donc éviter toutes sortes de contamination.



**Figure 23** : Préparation des échantillons de lait.

### 5.2. Ajout de l'huile essentielle de laurier noble au lait

La procédure de l'addition de l'HE au lait est faite initialement au jour 0 pour chaque analyse (microbiologique et physicochimique) en ajoutant une masse de 1 g, 0,5g et 0,25g aux trois flacons remplis avec 100 ml de lait et prés codés (une masse pour chaque flacon), pour obtenir trois échantillons du lait de concentrations: C1 = 10 mg/ml, C2 = 5 mg/ml et C3= 2,5 mg/ml, respectivement (**Figure 24**). L'ensemble des échantillons (8 flacons) sont ensuite conservés au réfrigérateur à une température de 4°C pendant 8 jours.



**Figure 24** : Supplémentation de lait en huile essentielle de laurier noble.

### 5.3. Préparation des dilutions décimales

Dans des conditions aseptiques, 1 ml de lait de chaque échantillon est soigneusement ajouté dans un tube à vis contenant 9ml de l'eau physiologique à l'aide d'une micropipette, puis

le mélange est homogénéisé à l'aide d'un vortex, c'est la dilution  $10^{-1}$ . Au moyen d'une autre paille de la micropipette stérile, 1ml de la dilution  $10^{-1}$  est prélevé aseptiquement et transporté dans un second tube contenant 9 ml du diluant. Le contenu est agité soigneusement et on obtient donc la dilution  $10^{-2}$ . La méthode est faite jusqu'à la dilution  $10^{-5}$  (**Figure 26**).

## 6. Suivi de la cinétique de croissance microbienne

### 6.1. Culture bactérienne

L'évolution de la croissance microbienne a été contrôlée à un intervalles réguliers: 0, 2, 4, 6, 8 jours. Les quatre échantillons du lait sont dilués ( $10^{-1}$ - $10^{-5}$ ), 0.1 ml de chaque dilution est déposé dans une boîte de Pétri et puis, 15 à 20 ml de la GN est versée en effectuant des mouvements circulaires en forme de huit suivant la méthode de culture dans la masse (**Figure 25**). Les boîtes sont incubées à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 48 h. L'ensemble des expériences sont réalisés en deux répétitions par échantillon de lait.



**Figure 25** : Culture en masse des échantillons de lait.

### 6.2. Dénombrement

Après 48 heures d'incubation les colonies ont été comptées à l'aide d'un compteur de colonies. Les boîtes présentant un nombre de colonies compris entre 15 et 300 ont été prises en compte pour le dénombrement.

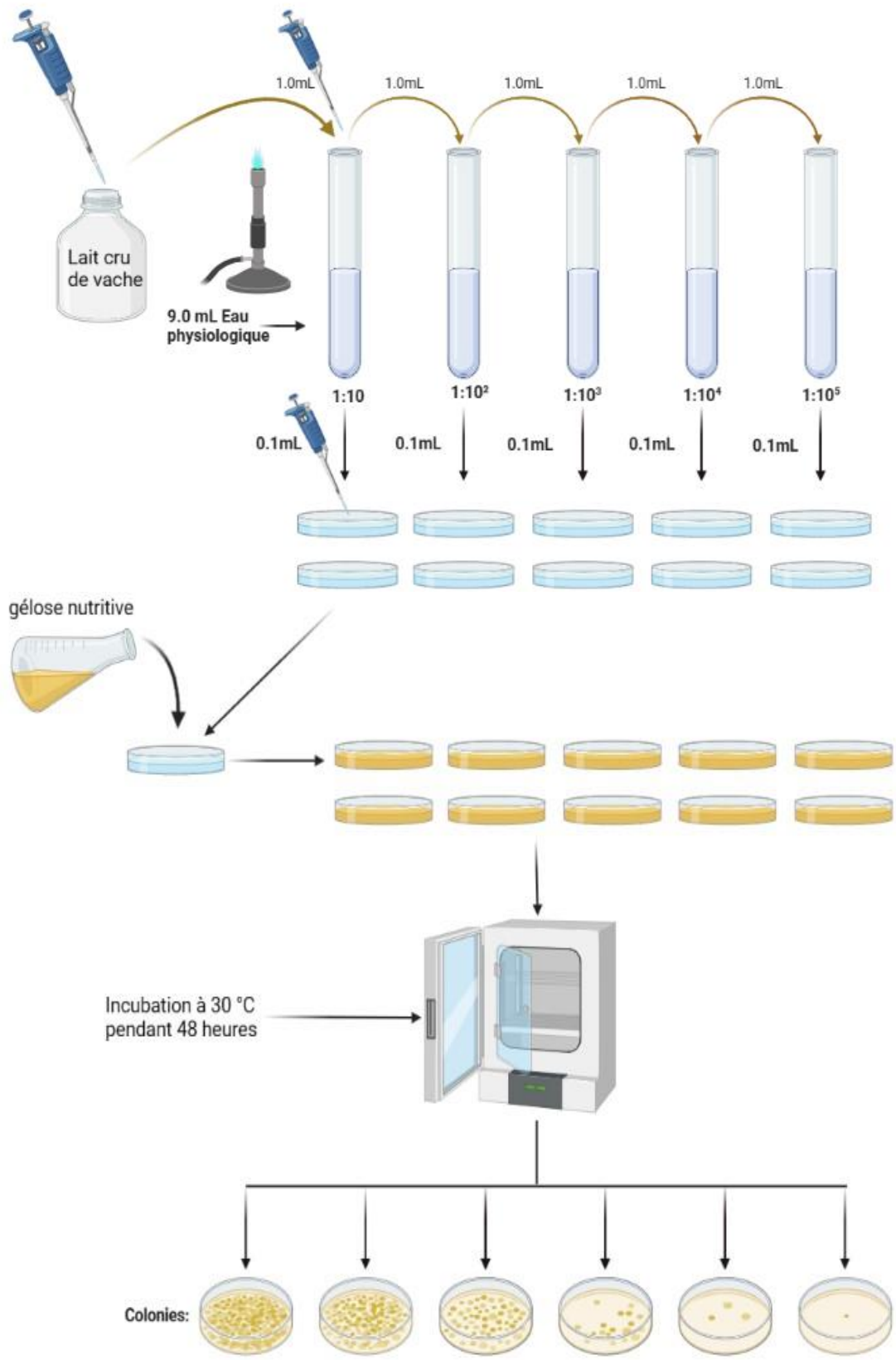


Figure 26 : Étapes de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile.

### 6.3. 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 :**

$$C_n = \frac{\text{nombre d'UFC comptées}}{\text{Volume d'inoculum déposé}} * \text{Facteur de dilution}$$

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

$$C_n = \frac{\text{la somme de nombre d'UFC comptées}}{1.1 * \text{Volume d'inoculum déposé}} * \text{Facteur de dilution le moins fort}$$

Pour l'analyse biomathématique, deux modèles de prédiction de la croissance bactérienne ont été utilisés : le modèle de Baranyi et Roberts (**Baranyi et Roberts, 1995**) disponible dans Combase (<http://www.combase.cc>) et le modèle Gompertz modifié (**Gibson et al., 1988**) disponible dans le programme IPMP (2013) (Integrated Predictive Modeling Program).

Pour générer les courbes, nous avons utilisé le logiciel GraphPad Prism 9.5.1. Les données de prédiction provenant de Combase ont été exportées et importées dans ce logiciel pour leur analyse et leur représentation graphique. Cette approche nous a permis d'obtenir des courbes de croissance bactérienne en fonction du temps, en utilisant les paramètres déduits de modèle choisis.

## 7. Analyses physicochimiques

### 7.1. Mesure de l'acidité

L'acidité du lait est un paramètre très important car elle détermine sa qualité sensorielle, et donc il doit être contrôlé. La mesure de ce paramètre s'effectue par dosage (titration) en utilisant une base (NaOH: N/9) en présence de phénol phtaléine qui est un indicateur coloré préparé à une concentration de 1% dans l'éthanol 95%. Cette méthode permet de quantifier la teneur totale d'acide lactique présent dans le lait (**Vignola, 2002**).

Les laits normaux ont une acidité de 14 à 18 °D (**Guiraud, 2003**).

Au fait, 10 ml d'un échantillon du lait sont prélevés à l'aide d'une pipette graduée et sont versés dans un bécher, deux gouttes de la solution phénolphtaléine sont ensuite mises dans le bécher et bien mélangés avec le lait présent, la colonne de l'acidimètre est remplie avec la soude (N/9). L'échantillon du lait à doser est positionné sous l'acidimètre. La soude est versée goutte



à goutte, le bécher est agité constamment jusqu'à l'apparition d'une couleur rose très pâle persistante environ 10 secondes, et le volume de la base versé est noté (**Figure 27**). Cette méthode est faite pour les quatre échantillons du lait pour mesurer l'acidité du lait supplémenté de l'HE à différentes concentrations et sans supplémentation.

Les résultats (l'acidité) sont exprimé en en degré Dornic ( $^{\circ}D$ ) et sont calculés par la formule suivante :

$$A (^{\circ}D) = (\text{le volume de la soude ajouté en ml}) * 10$$



**Figure 27** : Titrage de l'acidité des échantillons de lait.

## 7.2. Mesure du pH

Le pH correspond au logarithme de la concentration molaire de l'ion hydronium ( $H_3O^+$ ), il sert à renseigner sur l'état de fraîcheur du lait, un pH plus élevé que le pH normal est un mauvais signe indiquant une prolifération bactérienne.

Le suivi du pH de nos échantillons est fait à un intervalle de deux jours (48h) pendant la période d'étude. Au fait, un volume de 10 ml d'un échantillon du lait est versé dans un bécher dans lequel est ensuite introduit l'électrode du pH mètre après calibrage. Les valeurs affichées sur l'afficheur du pH mètre sont enregistrées (**Figure 28**). Cette méthode est faite pour les quatre échantillons pour qu'on puisse comparer entre le lait traité par l'HE de laurier et le témoin.



**Figure 28** : Mesure du pH du lait durant huit jours de réfrigération.

---

*Chapitre IV*  
*Résultats et discussion*

---

## 1. Résultats

### 1.1. Le rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* L. obtenu par la méthode d'hydrodistillation de type Clevenger est présenté dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 13** : Rendement de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* L.

Méthode d'extraction	Masse de la matière végétale en (g)	Masse de l'huile essentielle en (g)	Rendement en (%)
Hydrodistillation de type celevenger	643,5	4,0061	<b>0,62 %</b>

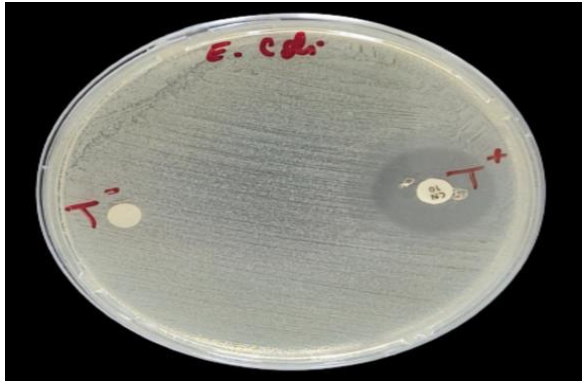
### 1.2. Activité antibactérienne

En ce qui concerne l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de laurier noble, les résultats sont résumés dans le **tableau 14**. Les valeurs indiquées sont les résultats de deux mesures. L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque. Le diamètre de la zone d'inhibition varie d'une bactérie à une autre. Comme rapporté dans la littérature, nous avons considéré que l'huile a une propriété bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm (Mann *et al.*, 2000).

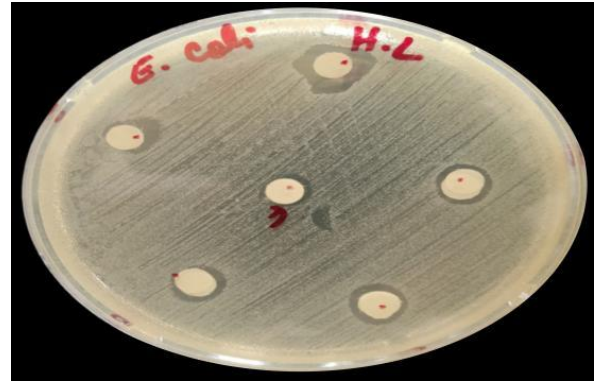
**Tableau 14** : Activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis*.

Souches bactériennes	Zones d'inhibition en mm			CMI (mg/ml)
	HE	T <sup>+</sup>	T <sup>-</sup>	
<b>Gram négative</b>				
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	8,7± 0,55	20,5±0,7	-	2,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	21,51±0,5	-	-
<b>Gram positive</b>				
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	8,5±0,79	17,04±0,44	-	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	21,98±0,17	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> BAA-2856	-	-	-	-

Les deux souches bactériennes *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* ont enregistré des CMI de 2,5mg/ml et 10mg/ml avec des zones d'inhibition de 8,7± 0,55 mm et 8,5±0,79 mm respectivement. Tandis que les autres souches paraissent résistantes à l'huile essentielle de laurier noble.



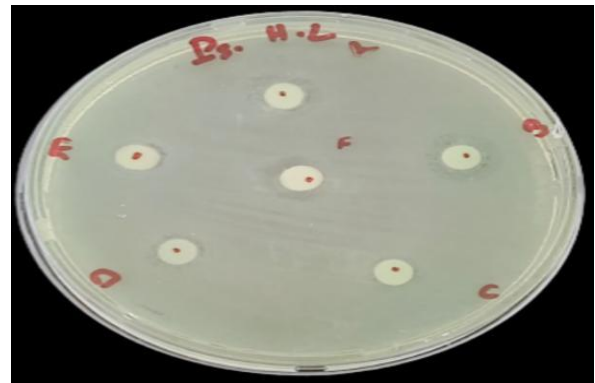
*Escherichia coli* ATCC 25922 en présence de témoin positif et négatif.



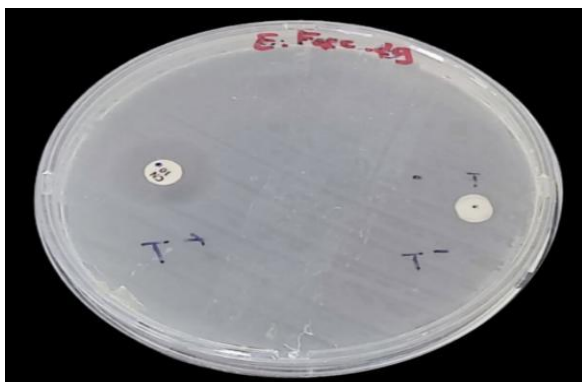
*Escherichia coli* ATCC 2592 en présence de différentes concentrations de l'HE de *Laurus nobilis*.



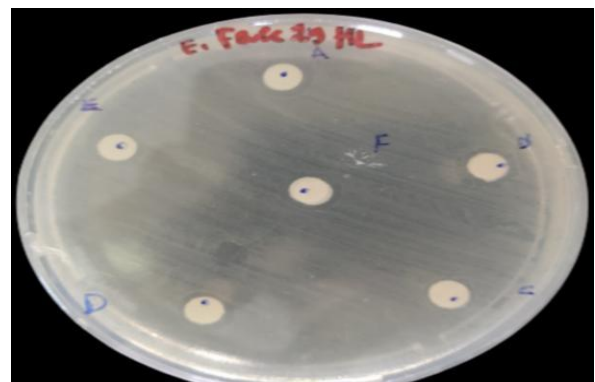
*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en présence de témoin positif et négatif.



*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en présence de différentes concentrations de l'HE de *Laurus nobilis*



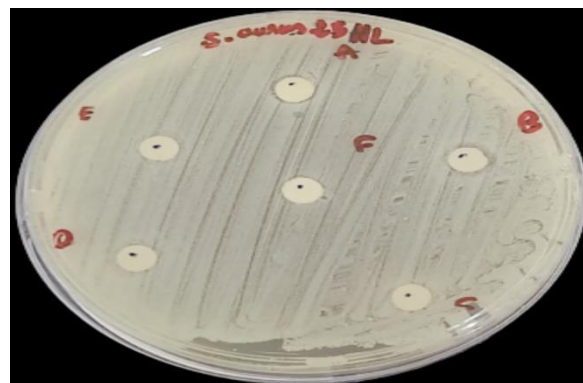
*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en présence de témoin positif et négatif.



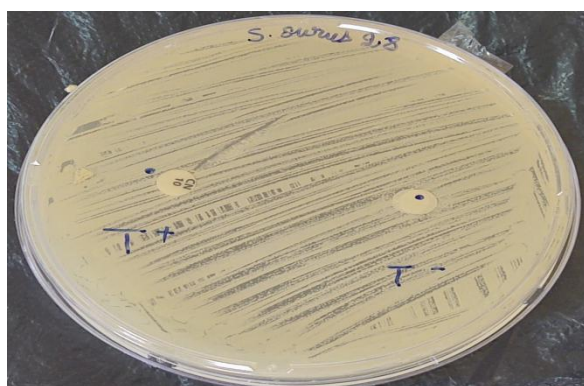
*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en présence de différentes concentrations de l'HE de *Laurus nobilis*



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en présence de témoin positif et négatif.



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en présence de différentes concentrations de l'HE de *Laurus nobilis*



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en présence de témoin positif et négatif.



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en présence de différentes concentrations de l'HE de *Laurus nobilis*

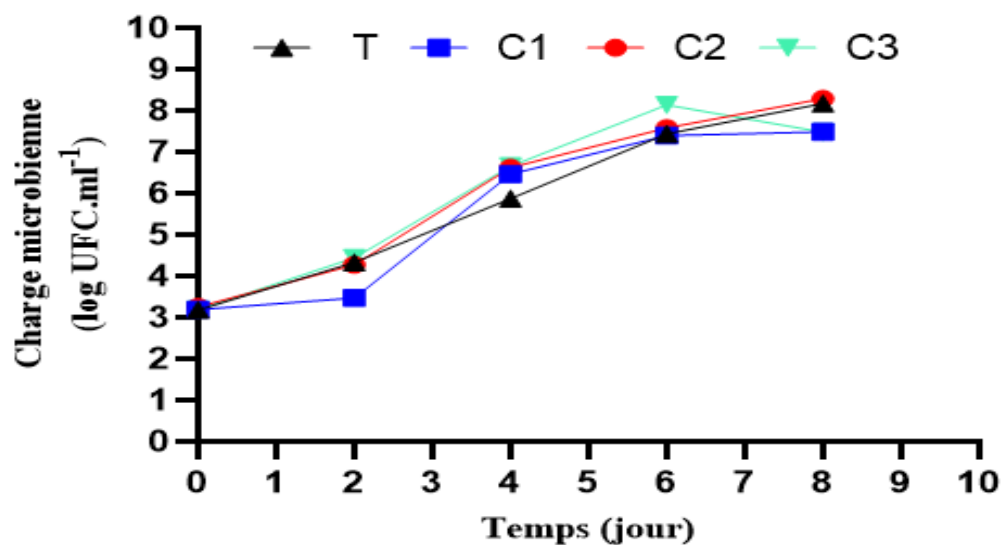
**Figure 29** : Antibiogramme et Aromatogramme des souches testées

### 1.3. Suivi de la croissance microbienne

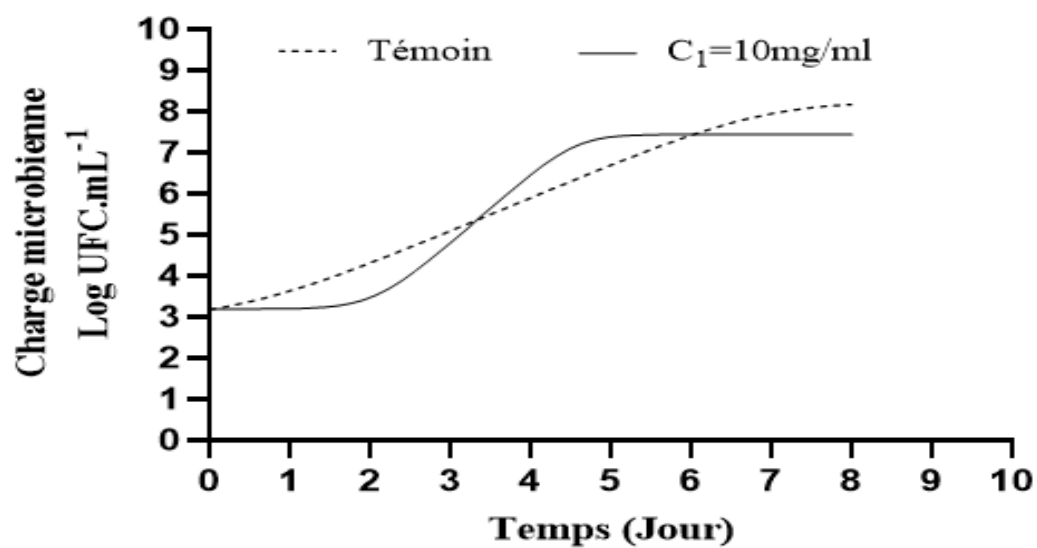
Les résultats de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sont présentés dans l'annexe 03.

L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de différentes concentrations de l'huile essentielle de laurier noble au cours de huit jours, sont présentées dans la **figure 30**.

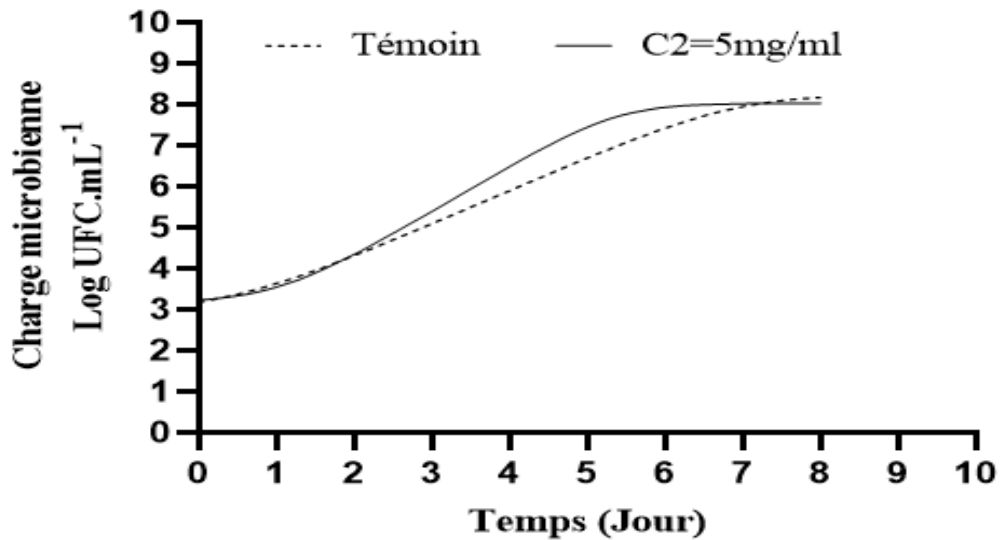
La modélisation par le modèle Baranyi et Roberts des résultats de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile dans les différents échantillons du lait réfrigéré supplémenté en huile essentielle de laurier noble a abouti aux résultats présentés dans les **figures 31, 32 et 33**. Ainsi, les résultats obtenus par le modèle Gompertz modifié sont présentés dans les **annexes 04, 05, 06 et 07**.



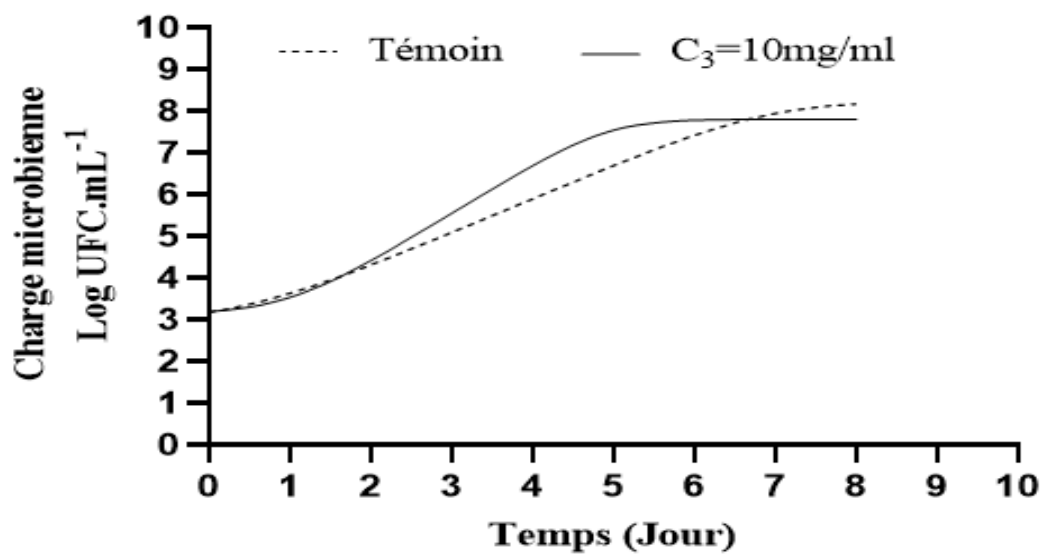
**Figure 30 :** Courbes de croissance microbienne du FTAM dans le lait réfrigéré (4°C) non supplémenté et supplémenté de différentes concentrations de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* pendant 8 jours.



**Figure 31 :** Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à 10mg/ml par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts).



**Figure 32 :** Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à 5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts).



**Figure 33 :** Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à 2,5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts).



### 1.3.1. Analyse biomathématique

#### 1.3.1.1. Détermination des paramètres cinétiques de la croissance microbienne

Les valeurs prédites des paramètres de croissance microbienne, la charge microbienne initiale ( $X_{\text{initiale}}$ ), le taux de croissance maximal ( $\mu_{\text{max}}$ ), la longueur de la phase de latence ( $\lambda$ ) et la charge cellulaire maximale atteinte ( $X_{\text{max}}$ ), ont été obtenues à l'aide du modèle de Baranyi et Roberts (**Baranyi et Roberts, 1995**) et du modèle Gompertz modifié (**Gibson et al., 1988**).

Les résultats obtenus par les des deux modèles sont très proches, donc on a choisi le modèle Raranyi et Roberts pour l'analyse de nos résultats. Au fait, les résultats des paramètres obtenus par ce modèle sont présentés dans le **tableau 15**, alors que ceux obtenus par le modèle Gompertz modifié sont présentés dans l'**annexe 08**.

**Tableau 15** : Les valeurs des paramètres de croissance microbienne de la flore totale aérobie mésophile de lait obtenus par le modèle Baranyi et Roberts.

Concentration	$X_{\text{Initiale}}$	$X_{\text{max}}$	$\mu_{\text{max}}$	( $\lambda$ )
Témoin	$3.178 \pm 0.0325$	$8.253 \pm 0.043$	$0.815 \pm 0.0148$	$0.661 \pm 0.0787$
C1=10mg/ml	$3.19 \pm 0.0626$	$7.441 \pm 0.0444$	$1.71 \pm 0.0878$	$2.0627 \pm 0.114$
C2=5mg/ml	$3.231 \pm 0.464$	$8.0281 \pm 0.385$	$1.115 \pm 0.353$	$1.066 \pm 0.889$
C3=2,5mg/ml	$3.199 \pm 0.486$	$7.808 \pm 0.36$	$1.187 \pm 0.387$	$1.0195 \pm 0.873$

$X_{\text{initiale}}$  : Charge microbienne initiale (log UFC. ml<sup>-1</sup>), ( $\lambda$ ) : Durée de la phase de latence (jour),  $\mu_{\text{max}}$  : Taux de croissance maximale ( $\Delta$ log UFC. ml<sup>-1</sup>. jour<sup>-1</sup>),  $X_{\text{max}}$  : Charge microbienne maximale (log UFC. ml<sup>-1</sup>)

#### ➤ Charge microbienne initiale

Nos résultats d'étude indiquent que la charge microbienne initiale des bactéries aérobies mésophiles dans le lait réfrigéré supplémenté et dans l'échantillon témoin comprise entre 3.178 et 3.231 log UFC/ml (**Figure 34**).

#### ➤ Taux de croissance

D'après les données fournies, il semble que la supplémentation en huile essentielle de laurier noble ait un effet positif sur le taux de croissance maximale ( $\mu_{\text{max}}$ ) des micro-organismes étudiés. Les résultats montrent que la concentration 10 mg/ml a un taux de croissance maximal le plus élevé, suivi celle de 2,5 mg/ml, tandis que la concentration de 5 mg/mL a un taux de croissance maximal inférieur (**Figure 35**).

Ces résultats suggèrent que la supplémentation en huile essentielle de laurier noble peut favoriser la croissance des micro-organismes. Toutefois, il est important de noter que ces résultats sont basés sur une étude limitée et que des analyses plus approfondies seraient nécessaires pour confirmer ces observations.

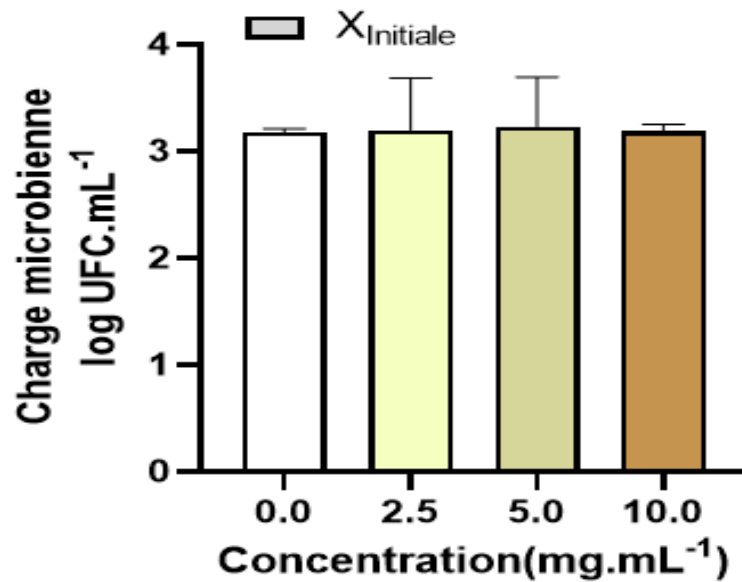


Figure 34 : Charge microbienne initiale.

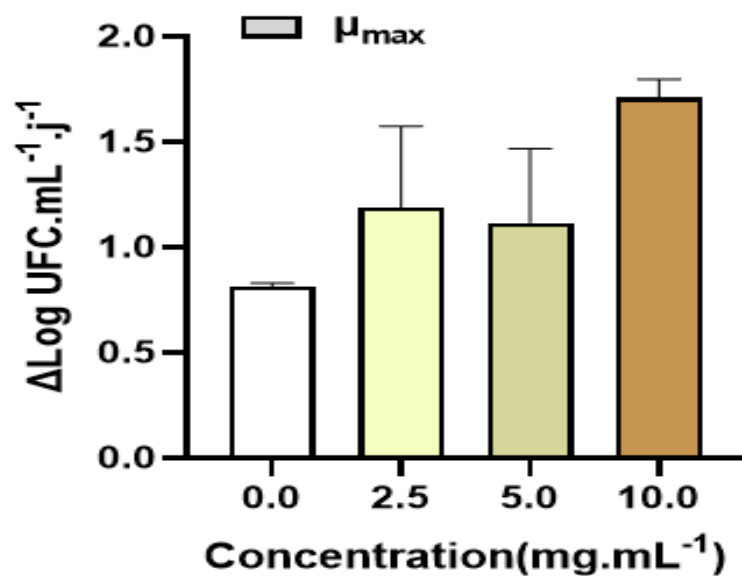
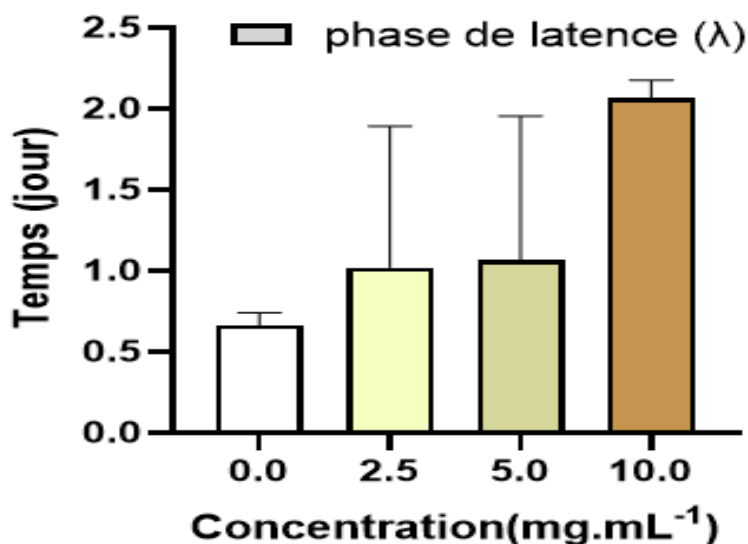


Figure 35 : Taux de croissance maximale.

### ➤ Phase de latence

Les résultats ont montré un retard de la croissance microbienne caractérisé par un prolongement de la durée de la phase de latence ( $\lambda$ ) par 33,66 h dans l'échantillon du lait supplémenté de concentration C1= 10 mg/ml , passant de  $0.661 \pm 0.0787$  jour (15,84 h) dans le lait sans supplémentation à  $2.0627 \pm 0.114$  jours (49,5 h) dans l'échantillon du lait supplémenté de concentration C1= 10 mg/ml. Et une prolongation de la phase de latence de 9,744 h et 8,628 h pour les échantillons du lait supplémenté de concentration C2= 5 mg/ml et C3= 2,5mg/ml respectivement.

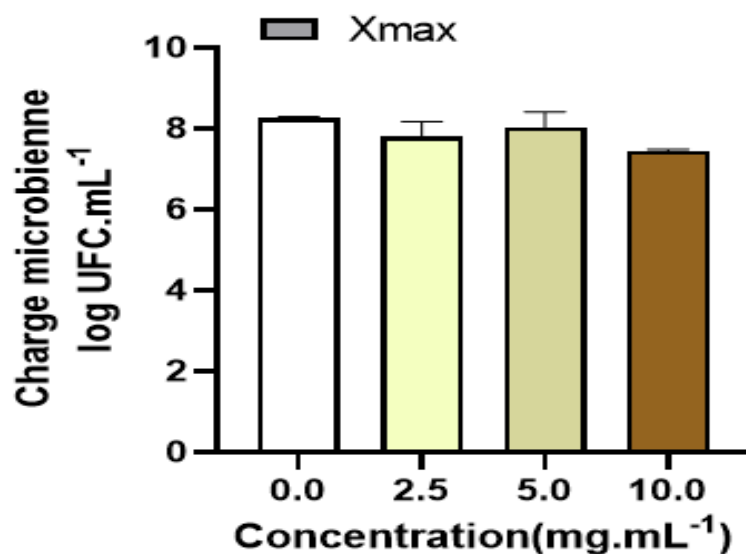
Cela montre que la concentration de C1= 10mg/ml a un effet plus important sur la prolongation de la phase de latence de la croissance microbienne par rapport aux concentrations C2= 5 mg/ml et C3= 2,5mg/ml (**Figure 36**).



**Figure 36** : Durée de la Phase de latence.

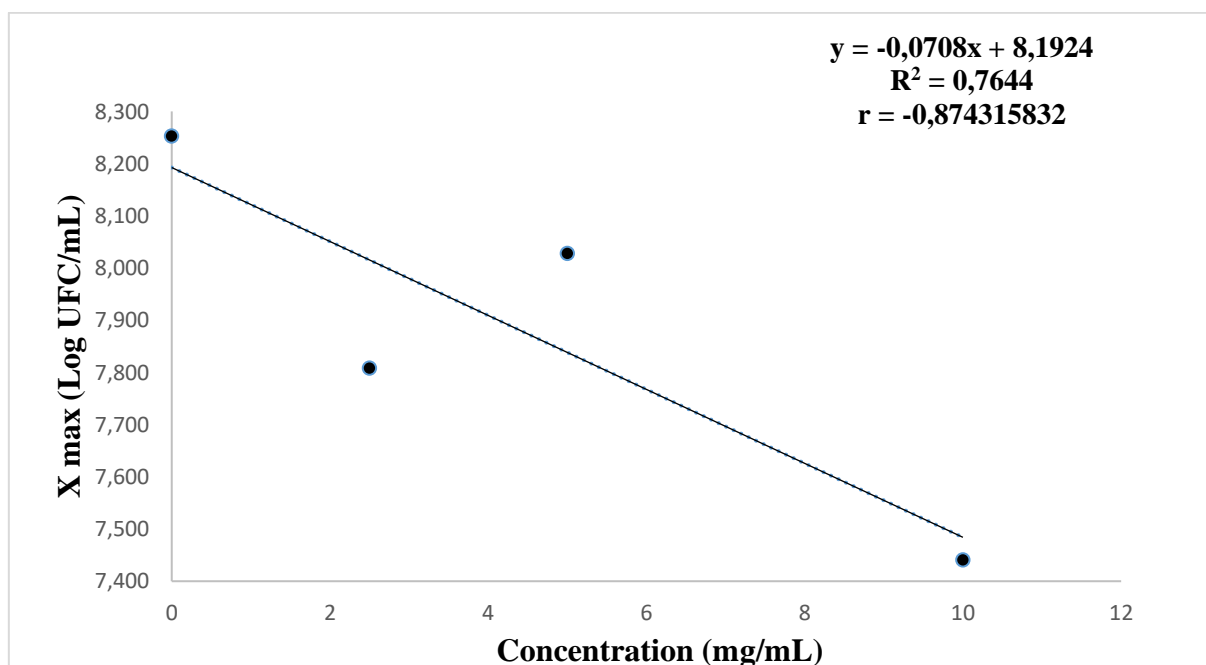
### ➤ Charge microbienne maximale

Les résultats présentés dans la **figure 37** montrent une diminution de la charge microbienne maximale ( $X_{max}$ ) pour l'ensemble des échantillons du lait supplémentés en huile essentielle de laurier en enregistrant la valeur la plus basse de  $7.441 \pm 0.0444$  log CFU.mL<sup>-1</sup> pour la concentration de 10 mg/ml. Toutefois, les deux concentrations 5mg/ml et 2,5mg/ml ont donné  $8.0281 \pm 0.385$  log CFU.mL<sup>-1</sup> et  $7.808 \pm 0.36$  log CFU.mL<sup>-1</sup>, respectivement, le lait sans supplémentation a enregistré un  $X_{max}$  égale à  $8.253 \pm 0.043$  log CFU mL<sup>-1</sup>.



**Figure 37 :** Charge microbienne maximale.

La relation de régression linéaire entre la croissance microbienne maximale et concentrations des échantillons supplémentés en huile essentielle de laurier noble est présentée dans la **figure 38**. L'évaluation statistique de la relation entre les variations de  $X_{\max}$  et les concentrations des échantillons de lait supplémenté en huile essentielle de laurier noble a donné une relation négative. Le coefficient de corrélation a enregistré la valeur de - 0,87.



**Figure 38 :** Relation de régression linéaire entre la croissance microbienne maximale et les concentrations de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* ajoutées au lait réfrigéré à 4 °C.

## 1.4. Analyses physicochimiques

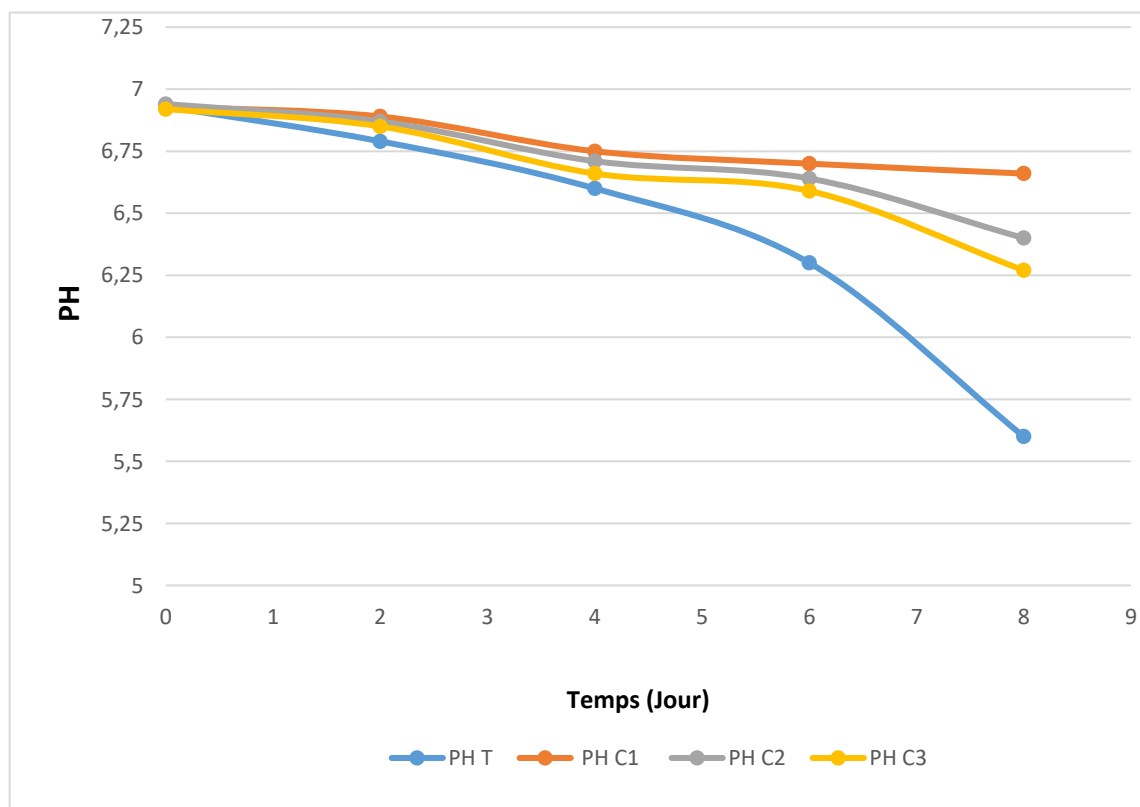
### 1.4.1. Variation du pH

Les échantillons du lait conservés à 4 °C ont fait l'objet d'un suivi de l'évolution du pH pendant huit jours à intervalle de deux jours.

Les résultats de l'évolution du pH au fil du temps, sont illustrées dans la **figure 39** et l'**Annexe 10**, indiquant que le pH du lait réfrigéré, auquel on a ajouté de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* aux concentrations de 10mg/ml 5mg/ml et 2,5mg/ml, ainsi qu'un échantillon témoin, ont subi une diminution du jour 0 au jour 8. Les valeurs de pH relevées se situent entre 6,94 et 5,6.

Les valeurs obtenues du pH variaient entre 6,93 et 5,6 pour le lait témoin (non supplémenté) et de (6,93 à 6,66), (6,94 à 6,4), (6,92 à 6,27) pour les échantillons supplémentés de concentration C1= 10mg/ml, C2= 5mg/ml, C3= 10mg/ml respectivement.

Dans l'échantillon témoin, une baisse importante du pH du lait est observée au fil du temps, à cause de la production de l'acide lactique par les bactéries lactiques. Cependant, pour les échantillons supplémentés en huile essentielle de laurier noble, on observe une diminution plus modérée du pH , surtout pour la concentration C1= 10mg/ml.

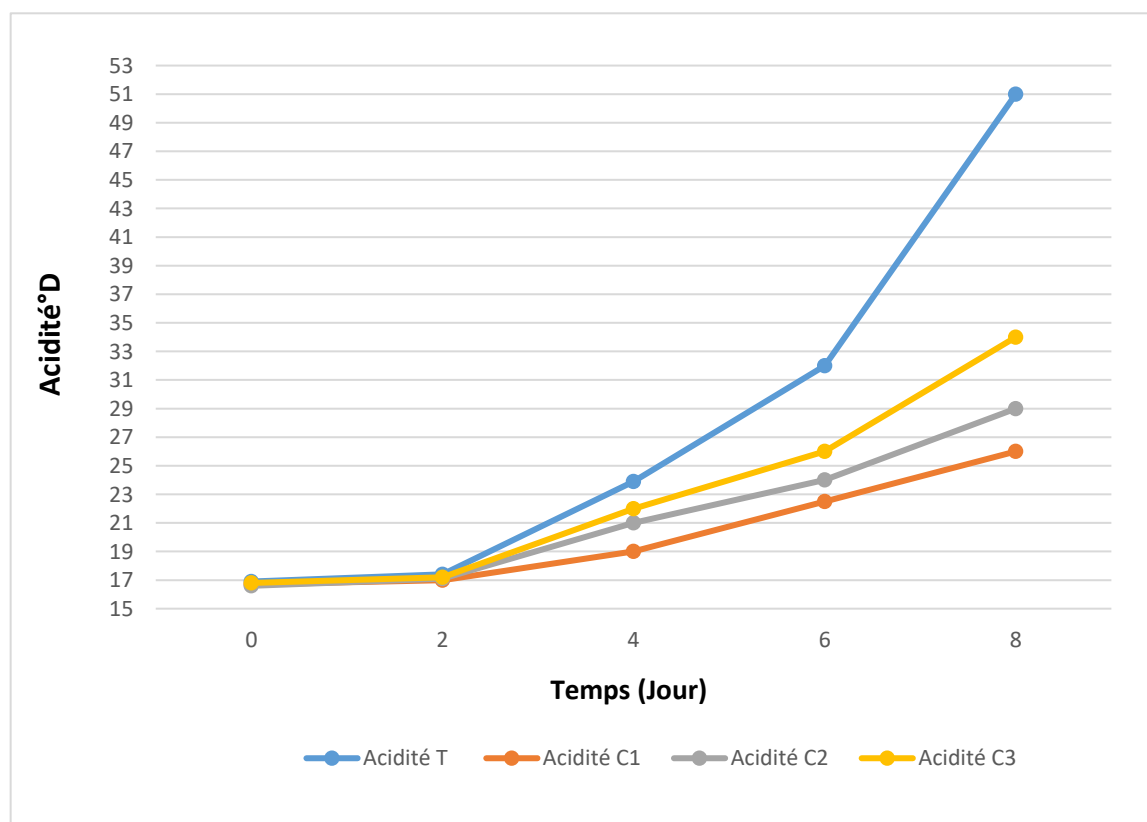


**Figure 39** : Suivi de l'évolution de pH des échantillons du lait au cours de 8 jours.

### 1.4.2. Variation de l'acidité

Les échantillons du lait conservés à 4°C ont fait l'objet d'un suivi de l'évolution de l'acidité pendant huit jours à intervalle de deux jours. Les valeurs obtenues de l'acidité varient entre 16,6 et 51 pour le lait témoin (non supplémenté) et de 16,7, 16,6 et 16,8 à 26, 29 et 34 pour les échantillons du lait supplémenté de 10mg/ml, 5mg/ml et 2,5mg/ml, respectivement. L'augmentation de l'acidité entraîne une odeur aigre dans les produits laitiers, ce qui affecte leur évaluation sensorielle. L'acidité initiale du lait réfrigéré, témoin et supplémenté, est de 16,9, 16,7, 16,6 et 16,9°D, respectivement. Les résultats ont montré que l'acidité globale du lait témoin et supplémenté a une tendance de s'augmenter au cours du stockage (**Figure 40 ; Annexe 9**).

Dans l'échantillon témoin, une augmentation importante de l'acidité du lait est observée au fil du temps, à cause de la production de l'acide lactique par les bactéries lactiques. Cependant, on observe une augmentation plus modérée de l'acidité pour les échantillons supplémentés en huile essentielle de laurier noble, notamment pour la concentration 10mg/ml (**Figure 40 ; annexe 10**).



**Figure 40 :** Suivi de l'acidité Dornic des échantillons du lait au cours de 8 jours.

## 2. Discussion

Les feuilles de laurier noble ont donné un rendement en huile essentielle inférieur aux pourcentages rapportés dans d'autres travaux tels que **Miliani, (2018)** et **Bouzidi, (2021)** où les rendements des feuilles étaient respectivement de 0,82% et de 0,96 %, et supérieure au pourcentage rapporté par **Caputo et al., (2017)** qui ont trouvé un rendement de 0.57%.

Ces variations dans le rendement peuvent être attribuées à des facteurs intrinsèques liés à leur bagage génétique, ainsi qu'à des facteurs extrinsèques liés aux conditions de croissance et de développement (**Maffei et Sacco, 1987 ; Bruneton, 1999**), l'origine géographique de la plante, les facteurs écologiques tels que le climat, l'espèce végétale, l'organe végétal, le stade de croissance, la période de collecte, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction sont autant de variables qui influencent ces différences observées dans le rendement (**Svoboda & Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001**).

La plante *Laurus nobilis* a montré une certaine activité inhibitrice de la croissance microbienne, ou l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a réagi positivement avec deux souches microbiennes et négativement avec trois autres souches bactériennes. Il convient également de noter qu'il y a des différences dans les diamètres des zones d'inhibition obtenues, allant de 0 à 8,7 mm. L'huile essentielle de laurier noble est considérée comme faiblement active contre deux souches l'une est Gram positive et l'autre est Gram positive, pour *Escherichia coli* ATCC 25922 notre huile a enregistré une zone d'inhibition de  $8,7 \pm 0,55$  mm avec une concentration minimale inhibitrice de 2,5 mg/ml et pour *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 une zone d'inhibition de  $8,5 \pm 0,79$  mm a été enregistré avec une concentration minimale inhibitrice de 10 mg/ml et donc une faible inhibition, les autres souches bactérienne (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* BAA-2856) paraît résistantes à notre huile essentielle et les CMI n'ont pas été déterminés à cause de manque de zone d'inhibition. L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés principaux et les effets synergiques entre les composants (**Oussalah et al., 2007**). La plupart des travaux qui ont eu pour objet d'étude le mécanisme d'action des composés actifs des huiles essentielles affirment que leur principale zone d'action est la membrane plasmique bactérienne (**Shunying et al., 2005**). La membrane cellulaire de la bactérie est désintégrée (**Silva et Fernandes, 2010**).

Nos résultats diffèrent de l'étude de **Goudjil et al., (2015)**, qui a rapporté que les souches Gram-négatives ont montré une sensibilité plus élevée par rapport aux autres souches bactériennes testées, et l'huile essentielle a démontré une activité modérée contre d'autres

souches Gram-négatives telles que *Escherichia coli* avec une CMI de 0,5 mg/ml et une zone d'inhibition de  $13.73 \pm 0.25$  mm, ainsi qu'une forte activité contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de  $14.50 \pm 0.5$  mm une CMI de 0,25 mg/ml. Cependant, il ont trouvé que *Pseudomonas aeruginosa* et la plus résistante parmi toutes les souches testées et qu'il n'ont pas pu déterminer son CMI, cela est en accord avec nos résultats. L'action antimicrobienne de l'huile peut facilement être attribuée à son niveau élevé de terpènes mono-oxygénés, notamment le 1,8-cinéole, déjà connu pour son pouvoir antibactérien contre plusieurs souches bactériennes testées (Derwich et al., 2009 ; Elharas et al., 2013).

Cette étude a examiné l'effet de différentes concentrations d'huile essentielle de *Laurus nobilis* (C1=10mg/ml, C2=5mg/ml, C3=2,5mg/ml) sur l'évolution du pH dans les échantillons de lait. Il est important de souligner que les valeurs de pH initiales de tous les échantillons de lait étaient légèrement supérieures à la norme (6,60 à 6,80) selon (Vignola, 2002), avec des valeurs comprises entre 6,92 et 6,93 au jour 0.

Les résultats obtenus au jour 8 ont montré que les échantillons de lait supplémentés en huile essentielle de *Laurus nobilis* ont présenté des valeurs de pH plus stables, allant de 6,27 à 6,44, par rapport au témoin non supplémenté qui a affiché la valeur de pH la plus basse de 5,6. Ces résultats suggèrent que l'ajout d'huile essentielle de *Laurus nobilis* peut jouer un rôle important dans la régulation de l'évolution du pH du lait et le ralentissement de la vitesse de dégradation de ce paramètre qui jouent un rôle important dans la fraîcheur du lait.

Pour les variations d'acidité des échantillons de lait stockés à 4°C supplémentés en huile essentielle de *Laurus nobilis* à différentes concentrations d'huile (C1, C2, C3). Les résultats ont montré que les niveaux d'acidité initiaux étaient conformes à la norme (AFNOR, 1985), qui spécifie des valeurs de 16 à 18°D, ce qui indique que les échantillons de lait étaient de bonne qualité au départ.

Les résultats ont également révélé que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* avait un effet significatif sur la régulation de l'acidité du lait, entraînant une stabilisation notable de l'acidité avec toutes les concentrations utilisées (C1=10mg/ml ; C2=5mg/ml ; C3=2,5mg/ml) au fil du temps. En comparaison, le témoin a atteint une acidité de 51°D, cela est due aux acides organiques présents dans les métabolites des bactéries acidifiantes (telles que les bactéries lactiques) qui accélèrent l'acidification du lait, entraînant ainsi une augmentation de l'acidité du lait et une qualité inférieure du lait (Li et al., 2021), ce qui indique que l'ajout d'huile essentielle de *Laurus nobilis* a un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries lactiques et leurs



production d'acide lactique dans le lait et engendre une régulation de l'acidité du lait et un ralentissement de l'évolution de ce paramètre.

Concernant les paramètres de la cinétique de croissance microbienne de la flore totale aérobie mésophile des différents échantillons, témoin et supplémentés en huile essentielle de *Laurus nobilis* :

Les niveaux de charge microbienne initiale ( $X_{\text{initiale}}$ ) étaient en conformité avec la limite d'hygiène de  $3.10^5$  UFC/ml (équivalent à 5.477 Log UFC/ml) pour la flore totale aérobie mésophile dans le lait cru, tel qu'indiqué dans la réglementation (JORA, 2017). Ces résultats indiquent que les échantillons de lait étudiés ne présentent pas de niveaux élevés de contamination microbienne et était donc conforme aux normes d'hygiène applicables. Ces niveaux de charge microbienne initiale enregistrés dans les échantillons du lait sont presque similaires à ceux signalés dans le monde. Au Brésil  $3,50 \log \text{UFC.mL}^{-1}$  (Machado et al., 2013), En Algérie, dans la région de Biskra, les valeurs de contamination initiale variaient de 2,5 à 3,5  $\log \text{UFC. mL}^{-1}$  (Boubendir et al., 2016) et une contamination microbienne initiale des laits supplémentés avec une valeur moyenne de  $3,54 \log \text{UFC.mL}^{-1}$  pour les laits supplémentés en extrait aqueux de romarin et  $3,19 \log \text{UFC.mL}^{-1}$  pour les laits supplémentés par l'extrait aqueux d'origan (Serrar et al. (2023).

Nos résultats montrent que l'échantillon Témoin, non supplémenté en huile essentielle de laurier, présente la phase de latence la plus courte de 0.661 jour. En revanche, les échantillons C1, C2 et C3, traités avec de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, ont une phase de latence plus longue. La concentration C1 de 10 mg/ml à la plus grande phase de latence de 2,008 jours, cette concentration a entraîné une prolongation de 33,66 heures dans la phase de latence par rapport au témoin. Ces résultats concordent avec les résultats trouvés par Serrar et al. (2023) montrant que l'extrait aqueux d'origan induit un allongement de la durée de phase de latence ( $\lambda$ ) par 22,08 heures dans l'échantillon du lait supplémenté avec la concentration  $1.25 \text{ mg.ml}^{-1}$  par rapport à l'échantillon témoin. Ou la durée de phase de latence est passée de  $4,12 \pm 0,11$  jour sans supplémentation à  $5,04 \pm 0,97$  jour avec une supplémentation de  $1,25 \text{ mg/ml}$  d'extrait aqueux d'origan.

Nos résultats aussi montrent une diminution de la charge microbienne maximale ( $X_{\text{max}}$ ) pour l'ensemble des échantillons du lait supplémentés en huile essentielle de laurier, enregistrant la valeur la plus basse de  $7.441 \pm 0.0444 \log \text{CFU.mL}^{-1}$  pour la concentration de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  et de  $8.0281 \pm 0.385 \log \text{CFU.mL}^{-1}$ ,  $7.808 \pm 0.36 \log \text{CFU.mL}^{-1}$  pour les concentrations de 5 et  $2,5 \text{ mg.mL}^{-1}$  respectivement, par rapport au lait sans supplémentation qui a enregistré un  $X_{\text{max}}$

de  $8.253 \pm 0.043 \log \text{CFU mL}^{-1}$ . Ces résultats sont en concordance avec celles de (Serrar et al. 2023), qui ont marqués une légère diminution du niveau de croissance maximale ( $X_{\max}$ ) passant de  $7,00 \pm 0,17 \log \text{UFC mL}^{-1}$  dans le lait non supplémenté à  $6,56 \pm 0,19 \log \text{UFC mL}^{-1}$  dans les deux laits supplémentés avec 1 et  $0,75 \text{ mg mL}^{-1}$  d'extrait aqueux de romarin. Cependant, la croissance microbienne maximale dans les laits supplémentés avec 0,5 et  $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$  a atteint respectivement  $7,04 \pm 0,18$  et  $7,00 \pm 0,12 \log \text{UFC mL}^{-1}$ .

Les résultats de la relation de régression linéaire entre les deux variables de la croissance microbienne maximale et les concentrations de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* ajoutés au lait indiquent une corrélation négative modérée. Cette relation de régression linéaire pourrait s'expliquer par l'intervention de plus de deux variables responsables de l'activité antimicrobienne des plantes, notamment la diversité phytochimique et les différents mécanismes impliqués dans l'activité antimicrobienne des composés bioactifs des plantes (Serrar et al. 2023).

---

## *Conclusion*

---

## Conclusion

Les résultats de notre étude ont révélé un rendement d'extraction remarquable lors de l'hydrodistillation des feuilles de *Laurus nobilis*. L'huile essentielle de laurier noble montre une légère activité contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 avec des CMI de 2,5mg/ml et 10mg/ml et des zones d'inhibition de  $8,7 \pm 0,55$  mm et  $8,5 \pm 0,79$  mm respectivement, tandis qu'il est inactive contre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 *Staphylococcus aureus* ATCC, 25923 *Staphylococcus aureus* BAA-2856.

En ce qui concerne l'ajout de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* au lait réfrigéré, nous avons observé un effet significatif sur le pH et l'acidité du lait. Ces deux paramètres sont des indicateurs importants de la fraîcheur du lait. L'huile essentielle a contribué dans le ralentissement de la vitesse d'évolution de ces paramètres, ce qui suggère un retardement de la détérioration du lait au fil du temps. Cette observation est encourageante car elle indique que l'huile essentielle de cette espèce peut potentiellement prolonger la durée de conservation du lait en maintenant ses paramètres de fraîcheur aux niveaux acceptables.

Dans notre étude, nous avons aussi évalué la croissance microbienne du lait à différentes concentrations de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* : 10 mg/ml, 5 mg/ml et 2,5 mg/ml. Nous avons observé que la concentration de 10 mg/ml a entraîné une phase de latence plus longue, estimée à :  $\lambda=2,0627$  jours, avec une charge microbienne de  $7,441 \log \text{UFC.ml}^{-1}$ . Aussi, l'ajout de cette HE prolonge la durée de la phase de latence, limitant ainsi la croissance microbienne dans le lait. La concentration de 10mg/ml a montré une réduction significative de la charge microbienne maximale du lait et une prolongation plus importante de la phase de latence par rapport au lait témoin, avec une augmentation de 33,66 heures.

Ces résultats sont encourageants et démontrent une activité antimicrobienne efficace de l'huile essentielle testée contre la flore microbienne totale mésophile du lait réfrigéré de vache. Il est suggéré donc que l'utilisation de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* permet de prolonger la durée de conservation du lait dans les conditions de réfrigération sans recours au traitement thermique ou chimique. Finalement, on peut dire que l'HE utilisée peut être considérée comme un bioconservateur du lait de vache réfrigéré.

## **Perspectives**

Pour une évaluation complète de l'effet de l'huile essentielle de laurier noble sur la conservation du lait, des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer ces aspects et confirmer les résultats prometteurs obtenus jusqu'à présent :

- Une étude d'autres paramètres physicochimiques doit être également prise en compte afin de connaître l'effet de cette huile essentielle sur ces paramètres ;
- Une étude phytochimique doit être menée pour révéler la composition chimique de l'huile essentielle testée, ainsi que la recherche de la ou les molécules bioactives responsables de la bioconservation du lait afin de les purifier et donc minimiser les doses ou les concentrations utilisées ;
- Une évaluation de la toxicité des doses utilisées dans cette étude doit être étudiée avant de pouvoir recommander son utilisation dans la sécurité alimentaire ;
- Une évaluation de la qualité nutritionnelle du lait supplémenté doit être réalisée pour connaître des éventuels changements ;
- Une étude d'analyse sensorielle du lait supplémenté en huile essentielle de *Laurus nobilis* doit être réalisée afin de connaître son effet sur les caractéristiques sensorielles du lait et de mieux évaluer l'acceptabilité du produit par les consommateurs.

---

## *Références Bibliographiques*

---

**Références Bibliographiques**

**Aboutayeb R A. (2011).** Composition physico-chimie et microbiologie du lait.

**AFNOR. (1987).** Huiles essentielles, recueil dans des normes française. 5 ème editions.1. Échantillonnage et méthodes d'analyses, 2. Spécifications, AFNOR, Paris.

**Al-Abri S.S., Said S.A., Al Touby S.S., Hossain M.A., & Al-Sabahi J.N. (2022).** Composition analysis and antimicrobial activity of essential oil from leaves of *Laurus nobilis* grown in Oman. Journal of Bioresources and Bioproducts, 7(4), 328-334.

**Alais C. (1984).** Sciences du lait : Principes de techniques laitières. 3ème édition. Edition publicité France. PP 431- 432.

**Ali-Delille L. (2013).** Les plantes médicinales d'Algérie, Berti Editions.

**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 In VIGNOLA C.L (2002). Science et technologie du lait-Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN P : 1-69 (600 pages).

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

**Anton R. et Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques. Epice, aromates, condiments et huiles essentielles- Tec & Doc, Paris (France).

**Aqilikhorasani M.S. (1992).** Collection of drugs (Materia media). Enqelab-e-Eslami Publishing and Educational Organization, Tehran, P 624–630.

**Arkoub L.E., Chetioui O. et Bouloufa H. (2018).** Étude phytochimique, activité anti oxydante et anti hémolytique des extraits de *Laurus nobilis*.

**Bacic, B., Jackson, H. and Clegg, L. (1968).** Distribution of bacteria in milk drawn directly from the cow's udder. J. Dairy Sci. p47–49.

**Baranyi J., & Roberts T.A. (1995).** Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 26, 199e218.

**Bardeau F. (1976).** «La mémoire par les fleurs », Robert Laffont, Paris, P310.

**Barla A., Topçu G., Oksuz S., Tumen G. & Kingston. DG. (2007).** Identification of cytotoxic sesquiterpene from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*, Vol. 104 (4): 1478- 1484.

**Bauer A., Kirby W., Sherris J. C., Turck M. (1966).** "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method." *American journal of clinical pathology* 45(4) : 493-496.

**Baydoun S.A., Kanj D., Raafat K., Aboul Ela M., Chalak L. & Arnold-Apostolides, N. (2017).** Ethnobotanical and economic importance of wild plant species of Jabal Moussa Bioserve, Lebanon. *J. Ecosyst. Ecography*, 7(3), 1-10.

**Belasli A., BenMiri Y., Aboudaou M., AitOuahioune L., Montanes L., Arino A. & Djenane D. (2020).** Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (*Laurus nobilis* L.): Potential use as wheat preservative. *Food Science & Nutrition*.

**Belkhodja H. (2016).** Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique. Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur : Sciences Biologiques : université de Mustapha Stambouli Mascara, P27.

**Beloued A. (2001).** Les plantes médicinales d'Algérie. (Ed) OPU. Ben Aknoun, Algérie, P100-227.

**Beloued A. (2005).** Les Plantes Médicinales d'Algérie (Medicinal Plants of Algeria). Office des Publications Universitaires, Algiers.P124-125.

**Beloued A. (2009).** Les plantes médicinales d'Algérie. 5ème édition, Alger. (p134)

**Bendjersia F.Z., Tazeroutia F., Belkhelda-Slimani R., Djerdjourib B. and Meklati B.Y. (2016).** Photochemical composition of the Algerian *Laurus nobilis* L. leaves extracts obtained by solvent- free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Research*. 28: P202–210



**Bennadja S., Kaki Y.T.A., Djahoudi A., Hadeif Y. & Chefrour, A. (2013).** « Activity of the essential oil of Laurel (*Laurus nobilis* L.) On eight bacterial strains. Journal of life sciences, 7(8), 814-819 ».

**Beroza M, Bowman MC. (1996).** Correlation of pesticide polarities with efficiency of milk extraction procedures. J. agric. chem., 49, pp : 7-12.

**Beuvier E. & Feutry F. (2005).** Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage. Publication de INRA-unité de recherche en technologie et analyses laitiers. 156 :1- 6.

**Bonfoh B., Fané A., Traoré N. A, Coulibaly Z., Simbé C. F, Alfaroukh O., Nicolet J., Farah Z. et Zinsstag J. (2002).** Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus en saison chaude dans le district de Bamako au Mali. Bio-terre, Rev. Inter.Sci. de la vie et de la terre, N° spécial actes du colloque international, centre Suisse. Editions Universitaires de Cote d'Ivoire, p 242-250.

**Botineau M. et Pelt J. (2015).** Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Paris : Ed.

**Boubendir A., Serrazanetti DI., Hamidechi MA., Vannini L., Guerzoni ME. (2016).** Changes in bacterial populations in refrigerated raw milk collected from a semi-arid area of Algeria. Ann Microbiol 66: 777-783.

**Bouchaale I., Kahalerras A. et Zouaoui S. (2015).** Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie). Diplôme de la fine étude : Science de la nature et de la vie : Université 08 mai 1945 de Guelma, P17.

**Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A. et Zhiri A. (2012).** Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. Journal de Pharmacie Clinique, 31(3), 141-148.

**Boultif L. (2015).** Détection et quantification des résidus de Tetramycine et de Pénicilline dans le lait de vache. Thèse de doctorat. Université des frères de Constantine Institut des sciences vétérinaire 156 p.

**Bourgeois M., Mescle J.F. et Zucca J. (1996)** : Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier,393-414

**Bouton, Y., Tessier, L., Guyot, P. et Beuvier, E. (2005).** Relations entre les pratiques des producteurs et les niveaux de populations microbiennes des laits à comté. Rencontre Recherche Ruminants, 12, 403

**Bouzidi O. (2021).** Efficacité Comparée D'une Plante Médicinale, *Laurus nobilis* À L'égard De Deux Espèces De Moustiques, *Culiseta Longiareolata* Et *Culex Pipiens*. Thèse de Doctorat, Université Larbi Tebessi - Tebessa, P 23-24.

**Brahmi N., Scognamiglio M., Pacifico S., Mekhoukhe A., Madani K., Fiorentino A., & Monaco P. (2015).** 1H NMR based metabolic profiling of eleven Algerian aromatic plants and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties. Food Research International, 76, 334-341.

**Brisabois A., Lafarge V., Brouillaud A., De Buyser M. L., Collette C., Garin-Bastuji B., Thorel M.F. (1997).** Les germes pathogènes dans le lait et les produit laitiers : situation en France et en Europe. Review of science technology office international epizooties. 16 (2): 452-471.

**Brossard D., Charrueau C., Chaumeil J.C., Crauste-Manciet S. & Le Hir A. (2016).** *Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments*. 10<sup>e</sup> édition. Elsevier Masson. ISBN : 978-2-294-74900-1 issy. P 185.

**Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier 3ème édition, Paris.

**Brunner J R.(1981).** Cow milk proteins: twenty five years of progress. Journal of dairy science, 64 : 1038-1054.

**Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. International journal of food microbiology, 94(3), 223–253.

**Bylund G.(1995).** Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221 86, Lund, Sweden: 18- 23-381.

**Caputo L., Nazzaro F., Souza L. F., Aliberti L., De Martino L., Fratianni F., ... & De Feo V. (2017).** *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. *Molecules*, 22(6), 930.

**Caputo L., Nazzaro F., Souza L., Aliberti L., De Martino L., Fratianni F., Coppola R. & De Feo V. (2017).** *Laurus nobilis* : Composition of Essential Oil and Its Biological Activities. *Molecules* 22(6) :930.

**Cauty I et Perreau J.M. (2009).** Conduite du troupeau bovin laitier. , France Agricole. 288p.

**Chabrier J.Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie : Diplôme d'état de docteur : pharmacie : Université Henri Poincaré Nancy 1, P165.

**Chahal K.K., Kaur M., Bhardwaj U., Singla N & Kaur A. (2017).** A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Vol 6 (4): 1153-1161.

**Chatelin M.Y., Richard J. (1981).** Etude de quelques cas de contaminations microbiennes importantes du lait à la ferme. *Le Lait*, INRA Editions, p80-94.

**Cherrat L., Espina L., & Mohammed Bakkali M. García-Gonzalo D., Rafael Pagán R. and Amin 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, 1197-1204.

**Christian K.T.R., Carole D.F.M., Alain K Y., Dahouenon-Ahoussi, E., Avlessi F., Sohounhloue D. & Simal-Gandara J. (2023).** Essential oils as natural antioxidants for the control of food preservation. *Food Chemistry Advances*, 100312.

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

**Courtet Leymarios F. (2010).** Qualité nutritionnel du lait de vache et de ses acides gras : voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse de doctorat vétérinaire. Ecole national vétérinaire D'Alfort.122p.

**Croguenec T., Jeante R. et Brule G. (2008).** Fondements physicochimique de la technologie laitière. ED. TEC & DOC. Paris ; 158p.

**CUQ JL. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

**Da Silveira S.M., Luciano F.B., Fronza N., Cunha Jr A., Scheuermann G.N. & Vieira C.R.W. (2014).** Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 C. LWT-Food Science and Technology, 59(1), 86-93.

**Damiani N., Fernández N.J., Porrini M.P., Gende L.B., Álvarez E., Buffa F. & Eguaras M.J. (2014).** Laurel leaf extracts for honeybee pest and disease management: antimicrobial, microsporidicidal, and acaricidal activity. Parasitology research 113(2): 701-709.

**Darinmoub, Laboratoire de contrôle la qualité et de conformité, (2009).** Conseils pour le consommateur. Atakor pub.En line :<http://www.darinmoub.com/>

**Debouz A, Guerguer L, Hamid Oudjana A et Hadj Seyd A.E.K.; (2014)** Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de ghardaïa, Rv : ElWahat pour les recherches et les Etudes, Algérie, ISSN : 1112 -7163 Vol.7n°2 : p10-17.

**Debry G. (2001).** Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21(566 pages).

**Decimo M., Morandi S., Silveti T. & Brasca, M. (2014).** Characterization of gram-negative psychrotrophic bacteria isolated from Italian bulk tank milk. Journal of Food Science, 79(10), M2081-M2090.

**Demir V., Guhan T., Yagcioglu AK. & Degirmencioglu A. (2004).** Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air dried Bay leaves. Biosystems Engineering, Vol .88 (3): 325-335.

**Depoërs P., Ledoux F. et Meurin P. (2008).** “ De la lumière à la guérison : La phytothérapie entre science et tradition”, Amyris, Bruxelles, P181-182.

**Derwich E., Benziane Z. & Boukir A. (2009).** Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Science, vol.3 (4): 3818-3824.

**Deschepper R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat. Université de Marseille, France, P149.

**Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Nasr S.B., El Beyrouthy M., & Mnif W. (2018).** Phytochemical composition and antioxidant activity of Tunisian *Laurus nobilis*. Pak. J. Pharm. Sci, 31(6), 2397-2402.

**Dias M.I., Barreira J., Calhella R.C., Queiroz M.F.R., Oliveira M.B.P.P., Soković M. & Ferreira I.C. (2014).** Two-dimensional PCA highlights the differentiated antitumor and antimicrobial activity of methanolic and aqueous extracts of *Laurus nobilis* L. from different origins. BioMed research international, 2014.

**Dias M.I., Barros L., Dueñas M., Alves R.C., Oliveira M.B.P., Santos-Buelga C., & Ferreira I.C. (2014).** Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis* L. leaves: would be more suitable a wild or a cultivated sample?. Food chemistry, 156, 339-346.

**Dolivert A et al., (2012).** Les poudres laitières et alimentaires : technique d'analyse. Lavoisier, 2012. ISBN: 978-2-7430-1419-3. P 7.

**Early R, (1998).** The technology of dairy products. Second edition. Thomson science 2-6-Boundary Row. London SE18HN, UK. ISBN : 075140344X. P 18.

**Elharas K., Daagare A., Mesifioui A., & Ouhssine M. (2013).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus nobilis* et *Lavandula Angustifolia*. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie, 9(2), 134-141.

**Elkiran O., Akbaba E. & Bagci E. (2018).** Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Laurus nobilis* L.: A chemotaxonomic approach. Bangladesh Journal of Botany, 47(4), 893-901.

**El-Tarabily K.A., El-Saadony M.T., Alagawany M., Arif M., Batiha G.E., Khafaga A.F., Elwan H.A.M., Elnesr S.S. & El-Hack M.E. (2021).** Using essential oils to overcome

bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. Saudi Journal of Biological Sciences. Vol 28 (9): 5145-5156.

**Fang F., Shengmin S., Kuang Y.C., Alexander G., Chi-Tang H. & Robert T.R. (2005).** Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (*Laurus nobilis*). Food Chemistry, Vol. 93, P 497–501.

**Fanica PO, (2008).** Le lait, la vache et le citadin du XVII<sup>e</sup> au XX<sup>e</sup> siècle. EditionsQuae. ISBN : 978-2-7592-0114-3. Paris. P 392.

**FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations),(2010).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine : Lait de consommation. Bibliothèque David Lubin FAO, Rome(Italie). N° 28.

**FAO. (1995).** Food and agriculture organisation, le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO alimentation et nutrition n°28.

**FAO.(1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, Collection FAO: Alimentation et nutrition, n° 28.

**Faye B. et Loiseau G. (2002) .** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, France. p11-13.

**Ferlay A., Graulet B., Chilliard Y.(2013).** Maîtrise par l'alimentation des teneurs en acides gras et en composés vitaminiques du lait de vache. INRA Productions Animales, Paris, 26 (2), pp177-192.

**Fernandez-Andrade C.M., da Rosa M.F., Borges F., Iwanaga C.C., Cortez D.A., Martins C.V.B., ... Gazim Z.C. (2016).** Chemical composition and antifungal activity of essential oil and fractions extracted from the leaves of *Laurus nobilis* L. cultivated in southern Brazil. Journal of Medicinal Plants Research, 10(48), 865-871.

**Fidan H., Stefanova G., Kostova I., Stankov S., Damyanova S., Stoyanova A. & Zheljzakov V.D. (2019).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Laurus nobilis* L. essential oils from Bulgaria. Molecules, 24(4), 804.

**Fiorini C., Daid B., Fourastet I. & Vercauteren J. (1998).** Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. phytochemistry, Vol.41 (5): 821-824.

**Foutou K., Voidarou C., Alexopoulos A., Plessas S., Avgeris I., Bezirtzoglou E., Akrida-Demertzi K. (2011).** Isolation of microbial pathogens of subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epirus (Greece) and their role in its hygiene. Elsevier. 17 : 315-319.

**Fredot E, (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier, P 14-379.

**Gazengel J.M. et Orecchioni A.M. (2013).** Le préparateur en pharmacie. 2e Edition. Paris : de Lavoisier, P1226

**Geerts P., Rammeloo J. et Van Cauteren G. (2002).** *Laurus nobilis* : le livre du laurier. Gand: Ed. Ludion, P131.

**Gibson A.M., Bratchell N., & 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 Microbiology, 6, 155e178.

**Gómez-Coronado D.J.M., Ibañez., Javier. & Rupérez-Barbas C. (2004).** “Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin”, Journal of Chromatography A, V.1045 P227-233.

**Gosta, ( 1995).** Les composants de traitement du lait. In : Manuel de transformation du lait. Sweden. edition Tétrapak processing system A. B. P 73-90.

**Got, R. (1997).** les enzymes du lait. ann nutr alim. 25 : A291- A311

**Goudjil M. B., Ladjel S., Bencheikh S.E., Zighmi S. & Hamada D. (2015).** Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* Lauraceae. J. chem. pharm. res, 7(1), 379-385.

**Goudjil M.B., Ladjel S., Bencheikh S.E., Zighmi S. & Hamada D. (2015).** Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* Lauraceae. J. chem. Pharm. res, 7(1), 379-385.

**Goursaud J. (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome1 ; les laits de la mamelle à la laitière. Luquet FM Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

**Goyon, N. et Badinand, F. (2003).** Qualité de l'eau et qualité du lait, à partir d'une enquête menée dans la Loire. Rencontre Recherche Ruminants, 10, 244.

**Guedouari R. (2012).** Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *Laurus nobilis* L. essais de formulations thérapeutiques.[Mémoire de Magister] : Génie des Procédés Chimiques et Pharmaceutiques : Université Mohamed Bougara Boumerdes.

**Guetouache M., Guessas, Bettache, Medjekal. & Samir, (2014).** Composition and nutritional value of raw milk. Issues Biol. Sci. Pharm. Res. 2(10), 115-122

**Guigma W.V. H., (2013).** Appréciation de la qualité physico-chimique du lait frais en rapport avec les pratiques d'élevage dans les élevages autour de la ville de Kaolack au Sénégal (Doctoral dissertation, Thèse de Médecine Vétérinaires. Ecole Inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires. Dakar(Sénégal).17, 18.

**Guiraud J. (2003).** Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. In: Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. P 651 (213-257).

**Guiraud JP. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition Dunod. Paris. Pp : 136-139.

**Haouel-Hamdi S., Ben Hamedou M., Bachrouch O., Boushah E., Zarroug Y., Sriti J., Messaoud C., Hammami M., Abderraba M., Limam F. & al. (2020).** Susceptibility of *Tribolium castaneum* to *Laurus nobilis* essential oil and assessment on semolina quality. Int J Trop Insect Sci. 40 (3) : 667–675.

**Hayaloglu A.A., (2016).** Cheese: Microbiology of Cheese. In: Reference Module in Food Science. Elsevier, 625-631.

**Hilan C., Chemali Z., (1998).** La contamination des produits laitiers par les antibiotiques. Annales de recherches scientifiques n° 1.p 267-275.

**Houicher A., Hechachna H., Teldji H. & Ozogul F. (2016).** In vitro study of the antifungal activity of essential oils obtained from *Mentha spicata*, *Thymus vulgaris*, and *Laurus nobilis*. Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, 8(2), 99-106.



**Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Tome 2 Edition. Londres : de Larousse, P143- 225-226.

**Iserin P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Edition. Paris : de Larousse, P10-335.

**Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., de LaRoque R., Vican P. et Ybert E. (2001).** «Larousse. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins», 2ème Edition, Edition Larousse, Paris.

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

**Jeantet R. et Croguennec T., (2018).** Eléments de biochimie laitière. In: Le fromage. Pp : 77-96.

**Jeantet R., Croguennec T., Chuck P et Brule G. (2007).** Science des aliments technologie des produits alimentaires tec et doc, 17(456 pages).

**Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P., Brule G.(2008).** Les produits laitiers. 2ème édition. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 200 P (11-15,185 P).

**Jemâa J.M.B., Tersim N., Toudert K.T. & Khouja M.L. (2012).** Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. Journal of Stored Products Research, 48, 97-104.

**JORA (Journal Officiel de la République Algérienne). (2017).** N° 39 du 02 Juillet 2017. Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438, correspondant au 4 octobre 2016, fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires, pp. 11-32.

**Ju J., Xie Y., Yu H., Guo Y., Cheng Y., Qian H. & Yao W. (2022).** Synergistic interactions of plant essential oils with antimicrobial agents: A new antimicrobial therapy. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 62(7), 1740-1751.

**Kabir A. (2014).** Contraintes de la production laitières en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constat et perspective). Thèse de doctorat, Université d'Oran 195p.

**Kahlouche R. (2014).** Évaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse présentée en vue de L'obtention du doctorat des sciences : Institut des sciences vétérinaires : Université Constantine 1, P 3.

**Kilic, A., Hafizoglu, H., Kollmannsberger, H., & Nitz, S. (2004).** Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers, and fruits of *Laurus nobilis* L. Journal of agricultural and food chemistry, 52(6), 1601-1606.

**Kivçak B.et Mert T. (2002).** Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. Fitoterapia 73(3): 242-243.

**Kivrak Ş. Göktürk T., & Kivrak İ. (2017).** Assessment of volatile oil composition, phenolics and antioxidant activity of Bay (*Laurus nobilis*) leaf and usage in cosmetic applications. International Journal of Secondary Metabolite. 4(2): 148-161.

**Konte., (1999).** Le lait et les produits laitiers développement de systèmes de production intensive en Afrique de l'ouest, *Sénégal*, 25p.

**Lahlou M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy research : PTR, 18(6), 435–448.

**Laithier C. (2011).** Ouvrage collectif cordonné "microflore du lait cru". Réseau fromage de terroirs, conseil national des appellations d'origine laitier.131p.

**Lamontagne M., Claude. P C., Joelle R.A., Sylvanie M., Nancy., Marys.L., Julie.J. , Ismael F. Microbiologie du lait. In Vignola C.L. (2002).** science et technologie du lait. Ecole polytechnique de Montréal. 600 p.

**Laure D., Cazet M., (2007).** Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus d produit phytosanitaire dans le lait de grand mélange bovin. Thèse Doctorat école nationale vétérinaire de Lyon. 157 p.

**Laurent S. (1992).** Contrôle de qualité du lait et des produits laitiers fabriqués par la soca. Thèse de doctorat en sciences et médecine vétérinaires. Dakar : EISMV, 216 pages.

**Lemaitre M. (1963).** sur la présence de pénicilline dans les laits de grand mélange, acad. Agric; 49. pp : 654-63.

**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.

**Linden, G. (1987).** Les enzymes in CEPIL. LE lait matiere premiere de l'industrie laitiere, CEPIL-INRA, paris, 121-127.

**Luquet FM, Mahieu H, Mouillet et Boudier. (1979).** A propos de l'origine de la contamination des laits en biphényles polychlorés. *Le lait*, 59. 551p.

**Maatallah S., Nasri N., Hajlaoui H., Albouchi A. et Elaissi A. (2016).** Evaluation changing of essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) under water deficit stress conditions. *Industrial Crops and Products*, P91, 170-178.

**Maffei M., & Sacco T. (1987).** Chemical and morphometrical comparison between two peppermint notomorphs. *Planta medica*, 53(02), 214-216.

**Mahaut M., Jeantet R., Brule G., (2000) .** Initiation à la technologie fromagère. *Techniques et Documentation – Lavoisier, Paris*, 194 p.

**Mahieu H., Le Jaouen JC, Luquet GM et Mouillet L. (1977).** Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. *Le lait*, 57, pp : 565-568.

**Mahjoub R. & BOUDABBOUS A. (1993).** Méthodes de conservation et rôle des micro-organismes dans les produits laitiers. *Microb. Hyg. Alim.* P 3-12.

**Mami A. (2013).** Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocine à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université d'Oran. 164 p.

**Mann C.M., Cox S.D., & Markham J.L. (2000).** The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30(4), 294-297.

**Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait (guides technologiques des IAA). *techniques et documentation, paris.* P, 220, 181-192.

**Mathieu J. (1998).** Présentation des constituants du lait In : Introduction à la physico-chimie du lait, pp.30-44.

**Meghfour S. (2014).** Les dates de préemption des produits alimentaires. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid- Telemcen. P 30-31.

**Mensah S.E.P., Aboh A. B., Salifou S., Mensah G. A., Sanders P., Abiola F. A., Koudandé O.D. (2014).** Risque dus aux antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le centre Bénin. Journal of Applied Biosciences. vol80:7102 – 7112. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v80i1.9>.

**MESSAOUDI S. (2008).** Les plantes médicinales. Troisième édition, Dar Elfikr, Tunis. P23-181.

**Michel V., Hauwuy A., Chamba J . (2001).** La flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. Le Lait, INRA Editions, p575-592.

**Miliani A. (2018).** Etude Phytochimique Des Feuilles De Laurier Noble (*Laurus nobilis* L.), Effets Biologiques Et Pharmacologiques [Thèse de Doctorat, Université Saad Dahleb - Blida].

**Mitchell M. (2005).** Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait de chèvre. Laboratoire des résidus médicamenteux/ division des services de laboratoire/ université de Guelph ; Brenda Norris- programme de salubrité des produits laitiers/MAAARO

**Moghtader M. & Salari H. (2012).** Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and flowers of *Laurus nobilis* L. from Kerman province. Journal of Ecology and the Natural Environment. 4(6): 150-153.

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

**Murata T., Zabik M.E et Zabik M. (1977).** Polybrominated biphenyls in raw milk and processed dairy products. J. Dairy Sci, 60, p516.

**Myose M. et Paris R. (1976).** Précis des matières médicales. Ed Masson, P161-162.

**Nabila B., Piras A., Fouzia B., Falconieri D., Kheira G., Fedoul F.F. & Majda S.R. (2022).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* leaves. *Natural Product Research*, 36(4), 989-993.

**Nadeem M.A., Aasim M., Kırıcı S., Karık Ü., Nawaz M.A., Yılmaz A, ... & Baloch F. S.(2018).** Laurel (*Laurus nobilis* L.): A less-known medicinal plant to the world with diffusion, genomics, phenomics, and metabolomics for genetic improvement. *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants : Conservation, Genetic Improvement and Utilization*, 631-653.

**Nafis A., Kasrati A., Jamali C.A., Custódio L., Vitalini S., Iriti M. & Hassani L. (2020).** A comparative study of the in vitro antimicrobial and synergistic effect of essential oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with antimicrobial drugs: New approach for health promoting products. *Antibiotics*, 9(4): 140.

**NCCLS, (2005).** NIST National Institute of Standard Library The Perkin Eima Corporation. Performance Standards for Antimicrobial susceptibility Testing. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania, USA, Twelfth International Supplement; M100-S12, 1997. Sylvestr

**Newman D.J. & Cragg G.M. (2007).** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of natural products*, 70(3), 461-477.

**Noblet B. (2012).** Le lait: produits, composition et consommation en France. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 47(5), 242-249.

**Oraon L., Jana A., Prajapati P.S., & Suvera P. (2017).** Application of herbs in functional dairy products—a review. *J Dairy Vet Anim Res*, 5(3), 109-115.

**Ouibrahim A., Tlili-Ait Kaki Y., Bennadja S., Mansouri R., Ait Kaki S., Khbizi S. et Djebar M. (2015).** Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian J. Nat. Products*, 3(3): P209-216.

**Ould Yerou K., Meddah B. et TirTouil A. (2015).** Etude de l'effet d'huile essentielle de laurier noble de l'ouest algérien sur *salmonella spp.* in vitro et in vivo. *European Scientific Journal*. 11(33): 311-318.

**Oussalah M., Caillet S., Saucier L. & Lacroix M. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food control, 18(5), 414-420.

**Özogul Y., El Abed N. et Özogul F. (2022).** Antimicrobial effect of laurel essential oil nanoemulsion on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. Food Chemistry, 368, 130831.

**Pariente L. (2001).** Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2ème Edition. Paris : d'Académie nationale de pharmacie, P1643.

**Peris I. et Blázquez M.A. (2015).** Comparative GC-MS Analysis of Bay Leaf (*Laurus nobilis* L.) Essential Oils in Commercial Samples. International Journal of Food Properties 18: 757–762.

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

**Piton C., Richard J. (1982).** Causes de contamination microbienne d'importance moyenne du lait dans un groupe de fermes de la région de Rennes. Le Lait, INRA Editions, p67-74.

**Pougheon S et Goursaud J. (2001).** Le lait : caractéristique physico-chimique. In Derby G. 2011.lait, nutrition et santé. Tec et Doc. Paris, 566 p.

**Pougheon S. (2001).** Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse Doctorat. Université Paul- Sabatier, Toulouse, 102p.

**Pougheon S., Goursaud J. (2001).** Le lait et ses constituants : caractéristiques physicochimiques. DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, 342 p.

**Quezel P. et Santa S. (1963).** «Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales», Edition C.N.R.S, Paris, P977.

**Quezel P. et Santa S. (1963).** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS. Paris, P360-361.

**Ramdani S. (2008).** Suivi de la qualité de lait de vache destiné à la fromagerie de Draa ben Khedda (DBK). Mémoire de Master en lait et dérivés. Université M'hamed bougara BOUMERDES. 56 pages.

**Ramet J.P. (1985).** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Etude FAO, Production et santé animales, no 48, 187 p.

**Renhe I.R.T., Perrone Í.T., Tavares G.M., Schuck P. & de Carvalho A.F. (2019).** Physicochemical characteristics of raw milk. In Raw milk (pp. 29-43). Academic Press.

**Rheotest, M. (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK–Produits alimentaires et aromatisants [http://www.rheoest.de/download/nahrungs\\_fr.pdf](http://www.rheoest.de/download/nahrungs_fr.pdf). REUMONT P.,(2009): Licencié.

**Roca, F. A. (2014).** Animal factors condition milk performance and quality of grazing dairy cows.

**Rulquin H.(1997).** Régulation de la synthèse et de la sécrétion des constituants du laitchez les ruminants. Renc. Rech. Ruminants, n°4, 327-338.

**Said C.M. & Hussein K. (2014).** Determiation of the chemical and genetic differences of *Laurus* collected from three different geographic and climatic areas in Lebanon. European Scientific Journal, 2:412-419.

**Sangun M.K., Aydin E., Timur M., Karadeniz H., Caliskan M. & Ozkan A. (2007).** Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. Journal of Environmental Biology, 28(4), 731-733.

**Sanogo R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako-Mali, P 53.

**Santoyo S., Lloria R., Jaime L., Ibanez E., Senorans F.J. & Reglero G. (2006).** Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. European Food Research and Technology, 222, 565-571.

**Saraiva C.R.N., Nonato C.F.A., Camilo C.J., Araújo A.C.J., Rodrigues F.F.G., CoutinhoH.D.M. et Costa J.G.M. (2021).** Chemical profile and inhibition of MDR bacteria

by the essential oil of *Laurus nobilis* L. and its major compound 1,8-cineol. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. Vol 36, 102-148.

**Sedef Nehir Yavuz E., Karagozlu N., Karakaya S. and Sahin S. (2014).** Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydro distillation .Food and Nutrition Sciences. 2014(5): 97-106

**Serrer A., Boubendir A., Bouchair K. & 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.

**Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y., & Guolin Z. (2005).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. Journal of Ethnopharmacology, 96(1-2), 151-158.

**Silva, N.C.C., & Fernandes Júnior, A.J.J.O.V.A. (2010).** Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases, 16, 402-413.

**Simić A., Soković M.D., Ristić M., Grujić-Jovanović S., Vukojević J., & Marin P.D. (2004).** The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives 18(9): 713-717.

**Simić M., Kundaković T., et Kovačević N. (2003).** Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia, 74(6) : 613-616.

**Sivropoulou A., Nikolaou C., Papanikolaou E., Kokkini S., Lanaras T. & Arsenakis M. (1997).** Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. Journal of Agricultural and food Chemistry, 45(8), 3197-3201.

**Smallfield B. (2001).** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. 45: 4.

**Snuossi M., Trabelsi N., Ben Taleb S., Dehmeni A., Flamini G. & De Feo V. (2016).** *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: Composition, antioxidant



and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*, 21(10), 1414.

**Sofowora A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition :de Karthala, P22.

**Spichiger R.E., Figeat-Hug M., et Jeanmonod D. (2002).** Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. PPUR presses polytechniques, P 413

**Stefanova G., Girova T., Gochev V., Stoyanova M., Petkova Z., Stoyanova A. & Zheljazkov V. D. (2020).** Comparative study on the chemical composition of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves from Greece and Georgia and the antibacterial activity of their essential oil. *Heliyon* 6 (12): e05491.

**Steven p.s. (2001).** « Angiosperm Phylogeny Website ».

**Stursa J. (2001).** Arbres et Arbustes à feuilles persistantes .Grand.Paris. P118-203.

**Svoboda K.P., & Hampson J.B. (1999).** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW. 16 : 1-7.

**Taarabt K.O., Koussa T. et Alfeddy M.N. (2017).** Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. au Maroc. *Afrique Science*. Vol 13 (1), 349-359.

**Taban A., Saharkhiz M.J & Niakousari M. (2018).** Sweet bay (*Laurus nobilis* L.) essential oil and its chemical composition, antioxidant activity and leaf micromorphology under different extraction methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. Vol 9, 12-18.

**Taybi N. , Arfaoui A. , Fadli M. (2014).** Evaluation of microbiological quality of raw milk in the region of Gharb, marocco. *International journal of innovation and scientific research*. 9 (2) : 487-493.

**Tomar O., Akarca G., Gok V. & Ramadan M.F. (2020).** Composition and Antibacterial Effects of Laurel (*Laurus nobilis* L.)Leaves Essential Oil. Journal Of Essential Oil. Vol 23(2) : 414-421.

**Tormo H., LEKHAL D.A.H. & Laithier C. (2006).** Les microflores utiles des laits crus de vache et de chèvre: principaux réservoirs et impact de certaines pratiques d'élevage. Rencontre Recherche Ruminants, 13, 305-308

**Valérie M., Agnès H & Jean-François.(2001).** La flore microbienne de laits crus de vache : Diversité et influence des conditions de production. Institute national de la recherche agronomique. 81(5) :575-592.

**Vanier P. (2005).** Le lait au fil du temps, Usages culinaires, Conservation, Écologie et environnement .p 65.

**Varnam A., & Sutherland J.P. (2001).** Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35-37.

**Veisserye. (1975).** Technologie du lait .constituants, récolte traitement et transformation du lait. Edition. Maison rustique. Paris. pp : 112-133.

**Velázquez-Ordoñez V.,Valladares-Carranza B., Tenorio-Borroto E., Talavera- Rojas M.,Varela-GuerreroJ.A., Acosta-Dibarrat J., Puigvert F.,Grille L., RevelloA.G & Pareja L. (2019).** Microbial Contamination in Milk Quality and Health risk of theConsumers of Raw Milk and Dairy Products. Nutrition in Health and Disease - Our Challenges Now and Forthcoming Time. P 1-25.

**Vignola C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Québec. 600p.

**Vignola C.L. (2002).**Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed. Ecole polytechnique de Montréal. ISBN. 600 P .

**Walstra, P. (1978).** The milk fat globule: natural and synthetic [size distribution, fat crystallization, membrane, changes in distribution]. In 20. International Dairy Congress, Paris (France), 26 Jun 1978.

**Werner J et al., (2010).** Science et technologie des aliments. Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. Presses polytechniques et universitaires romandes, 2010. 1<sup>er</sup>édition. ISBN : 987-2-8807-754-1. P 597-598.

**Winckle R. (2006).** “ Astro Plantes : se soigner par les plantes selon son signe astral”, Edition Alpen, Monaco, 86-87.

**Wu H., Zhao F., Li Q., Huang J. & Ju J. (2022).** Antifungal mechanism of essential oil against foodborne fungi and its application in the preservation of baked food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–13.

**Zheng L., Guo H., Zhu M., Xie L., Jin J., Korma S.A., ... & Cacciotti I. (2023).** Intrinsic properties and extrinsic factors of food matrix system affecting the effectiveness of essential oils in foods: a comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-34.

**Zhiri A., Baudoux D. et Breda M. (2005).** Huile essentielles chimiotypées et leurs synergies. Edition: Inspir développement, P 46.

**Zweifel, C., Muehlherr, J. E., Ring, M., & Stephan, R. (2005).** Influence of different factors in milk production on standard plate count of raw small ruminant's bulk-tank milk in Switzerland. *Small Ruminant Research*, 58(1), 63-70.

---

# *Annexes*

---

## Annexes

## Annexe 01 : Matériel utilisé

matériel utilisé		
Pissette	bain marie	micro-onde
Papier filtre	Boite de Pétri en plastique	glacière
Papier Wattman	Papier d'aluminium	Compte goutte
verre de montre	Porte tube	bec benzène
broyeur électrique	Tube à essai	Pince
Spatule	Tube à vise	Flacons en verre
Erlenmeyer	Micropipette	Embout
Entonnoir	Eprouvette graduée	Eppendorf
Bécher	anse de platine	Pipette pasteur
Ecouvillons	spectrophotomètre	appareil Clevenger
plaque chauffante	Agitateur magnétique	Autoclave
pied a coulisse	Vortex	perforateur
étuve	Réfrigérateur	allumette
portoir	compteur de colonies	disque d'antibiotique
pH mètre	burette	Balance (de précision)

## Annexe 02 : produits et réactifs utilisés

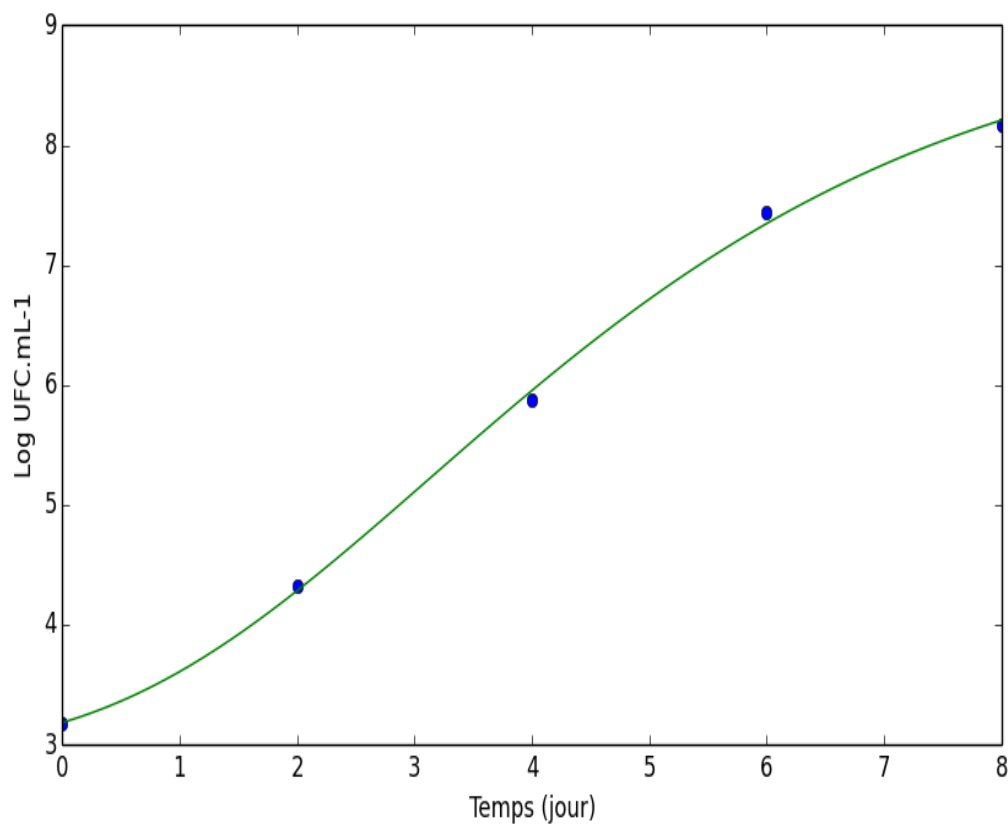
<b>solvants et Réactifs</b>	<b>Milieu de culture</b>
Eau distillée	Gélose nutritive
NaOH (Hydroxyde de sodium)	Gélose Mueller-Hinton
Phénolphtaléine	
DMSO (Diméthyl sulfoxyde)	
NaCl (chlorure de sodium)	
Eau physiologie	

## Annexe 03 : Tableau des Moyennes des UFC/mL et log UFC/mL.

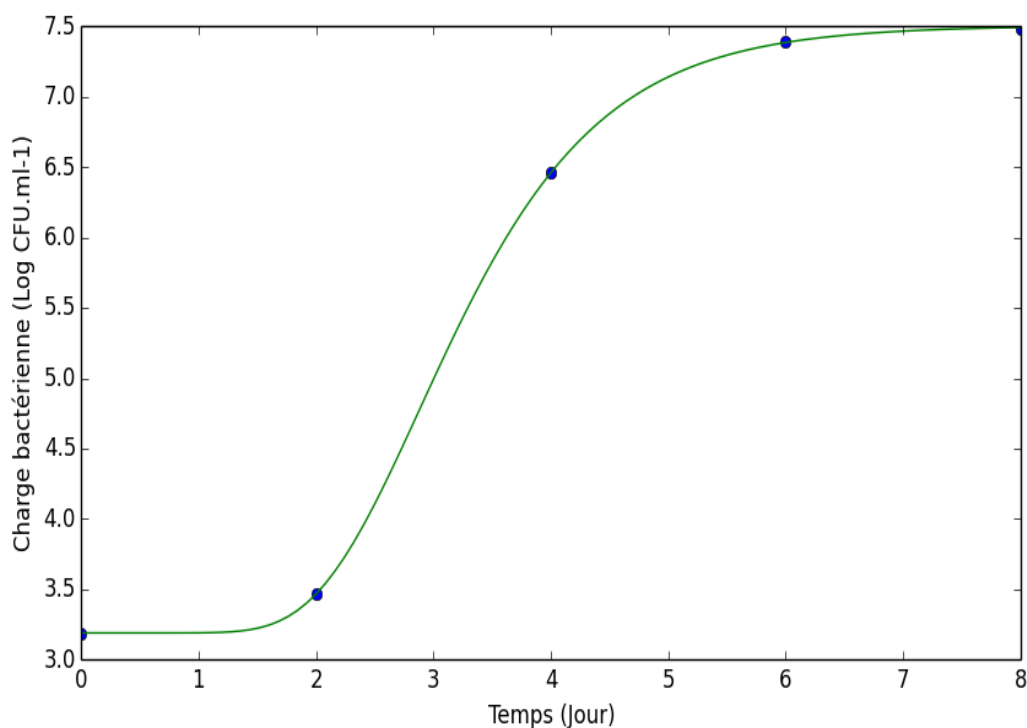
		<b>J 00</b>	<b>J 02</b>	<b>J 04</b>	<b>J 06</b>	<b>J 08</b>
<b>Flore</b>		<b>FTAM *</b>				
<b>Norme</b>		<b>3.10<sup>5</sup> UFC/mL , ( 5.477 log UFC/mL) <sup>a</sup></b>				
<b>Témoin</b>	<b>UFC/mL</b>	1500	21363,63636	220909,0909	27272727,27	148500000
	<b>Log UFC/mL</b>	3,176091259	4,329675177	5,872421167	7,43572857	8,171726454
<b>C1</b>	<b>UFC/mL</b>	1550	2950	2877272,727	24863636,36	30572727,27
	<b>Log UFC/mL</b>	3,190331698	3,469822016	6,458981029	7,395564646	7,485334182
<b>C2</b>	<b>UFC/mL</b>	1800	18590,90909	4168181,818	38000000	195500000
	<b>Log UFC/mL</b>	3,255272505	4,269300627	6,619946655	7,579783597	8,291146762
<b>C3</b>	<b>UFC/mL</b>	1550	27590,90909	4486363,636	137500000	30318181,82
	<b>Log UFC/mL</b>	3,190331698	4,44076601	6,651894472	8,138302698	7,481703153

<sup>a</sup> : JORA, 2017 ; \* Flore totale aérobie mésophile; **J**: jour; **C**: Concentration

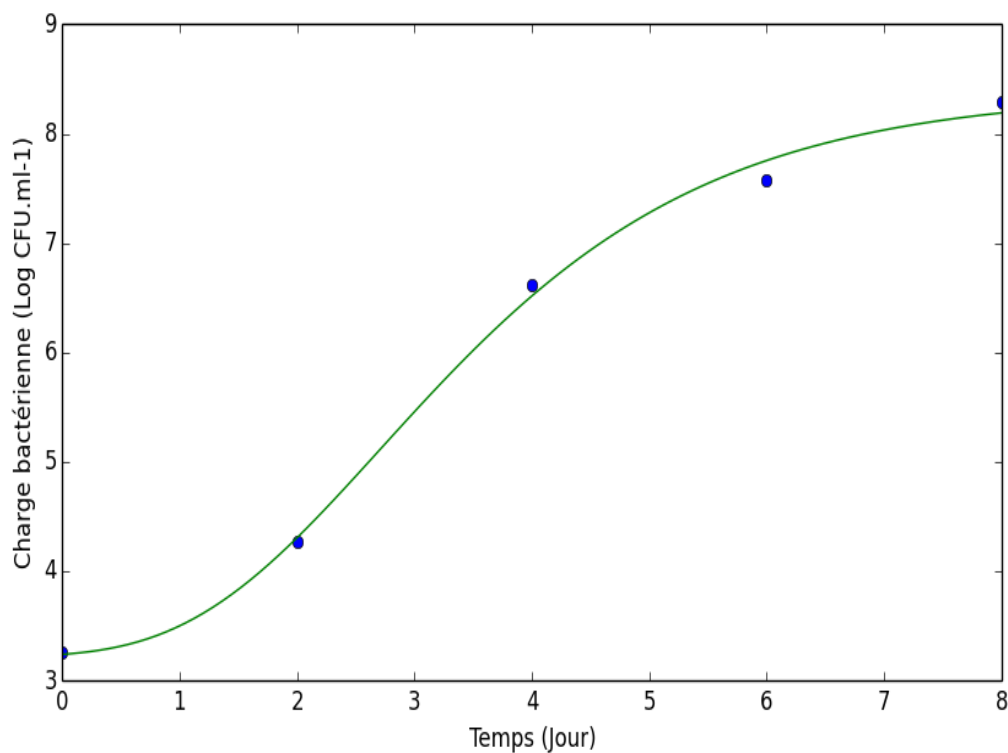
**Annexe 04** : L'évolution de la croissance microbienne du lait Témoin réfrigéré à 4°C , obtenue avec le modèle Gompertz modifié.



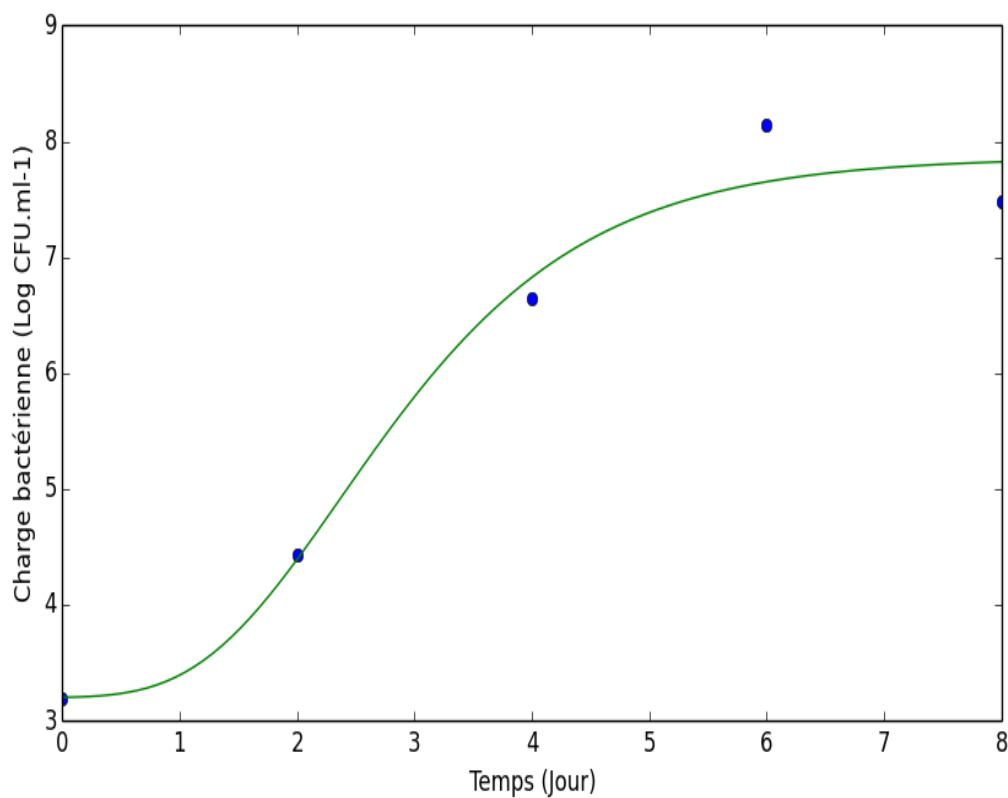
**Annexe 05** : L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à 10mg/mL, obtenue par le modèle Gompertz modifié.



**Annexe 06 :** L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à 5mg/mL, obtenue par le modèle Gompertz modifié.



**Annexe 07 :** L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à 2,5mg/mL, obtenue par le modèle Gompertz modifié.





**Annexe 08** : Les valeurs des paramètres de croissance microbienne de la flore totale aérobie mésophile de lait obtenus par Modèle Gompertz modifié.

Concentration	X Initiale	X max	$\mu$ max	( $\lambda$ )
Témoin	2.948	9.113	0.856	0.472
C3=2,5mg/ml	3.201	7.863	1.450	1.183
C2=5mg/ml	3.220	8.377	1.182	1.103
C1=10mg/ml	3.191	7.505	1.819	2.008

**X initiale** : Charge microbienne initiale (log UFC. ml<sup>-1</sup>), ( **$\lambda$** ) : Durée de la phase de latence (jour),  **$\mu$ max** : Taux de croissance maximale ( $\Delta$ log UFC. ml<sup>-1</sup>. jour.<sup>-1</sup>), **Xmax** : Charge microbienne maximale (log UFC. ml<sup>-1</sup>)

**Annexe 09** : Variation de l'acidité de différents échantillons du lait durant 8 jours.

<b>jours</b>	<b>T</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
<b>J 0</b>	16.9	16.7	16.6	16.8
<b>J 2</b>	17.4	17	17.1	17.2
<b>J 4</b>	23.9	19	21	22
<b>J 6</b>	32	22.5	24	26
<b>J 8</b>	51	26	29	34

**Annexe 10** : Variation de pH de différents échantillons du lait durant 8 jours.

<b>jours</b>	<b>T</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
<b>J 0</b>	6.93	6.93	6.94	6.92
<b>J 2</b>	6.79	6.89	6.87	6.85
<b>J 4</b>	6.6	6.75	6.71	6.66
<b>J 6</b>	6.3	6.7	6.64	6.59
<b>J 8</b>	5.6	6.66	6.4	6.27

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de l'ajout de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L., une espèce appartenant à la famille des Lauracées, dans le lait de vache sur la dynamique de la croissance microbienne durant la réfrigération. L'huile essentielle des feuilles est extraite par hydrodistillation en se servant d'un appareil de type Clevenger, et est ajoutée aux échantillons de lait à différentes concentrations : 2,5, 5 et 10 mg/ml. L'activité antibactérienne de l'HE est aussi testée sur cinq souches bactériennes : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* BAA-2856. L'extraction de l'HE a donné un rendement de 0,62%, l'HE de *laurus nobilis* montre une légère activité contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 avec des CMI de 2,5mg/ml et 10mg/ml et des zones d'inhibition de  $8,7 \pm 0,55$  mm et  $8,5 \pm 0,79$  mm respectivement. La progression de la croissance microbienne a été observée à un intervalle régulier de 48 heures sur une période de huit jours de stockage réfrigéré à 4°C. L'ajout de l'huile essentielle au lait réfrigéré a entraîné une prolongation de la phase de latence de 33,66 heures et une limitation de la croissance microbienne. La durée de la phase de latence ( $\lambda$ ) est passée de  $0,661 \pm 0,0787$  jours (15,84 heures) dans le lait non supplémenté à  $2,0627 \pm 0,114$  jours (49,5 heures) dans l'échantillon de lait supplémenté de 10mg/ml, tandis que la charge microbienne maximale ( $X_{\max}$ ) est passée de  $8,253 \pm 0,043$  log UFC.mL<sup>-1</sup> dans le lait non supplémenté à  $7,441 \pm 0,0444$  log UFC.mL<sup>-1</sup> dans l'échantillon de lait additionné de la même concentration. Une prolongation de la durée de la phase de latence ( $\lambda$ ) et une légère diminution de  $X_{\max}$  sont observées avec les deux concentrations 5mg/ml et 2,5mg/ml. De plus, l'ajout de l'HE à différentes concentrations a entraîné un ralentissement de la vitesse de la variation des paramètres physicochimiques pH et acidité et donc prolonge la durée de vie du lait. L'utilisation de l'HE de cette espèce comme additif naturel lors de la réfrigération pourrait présenter une opportunité en tant que biopréservateur dans l'industrie laitière, réduisant ainsi le recours au traitement thermique et chimique.

**Mots clés :** *Laurus nobilis*, huile essentielle, activité antimicrobienne, lait de vache réfrigéré, biopréservation.

## Abstract

The objective of this study is to evaluate the effect of adding essential oil from *Laurus nobilis* L., a species belonging to the Lauraceae family, to cow milk on the dynamics of microbial growth during refrigeration. The essential oil from the leaves is extracted by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus and added to milk samples at different concentrations: 2.5, 5, and 10 mg/ml. The antibacterial activity of the essential oil is also tested against five bacterial strains: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Staphylococcus aureus* BAA-2856. The extraction of the essential oil yielded 0.62%, the *Laurus nobilis* essential oil showed slight activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, with minimum inhibitory concentrations (MIC) of 2.5 mg/ml and 10 mg/ml, and inhibition zones of  $8.7 \pm 0.55$  mm and  $8.5 \pm 0.79$  mm, respectively. The progression of microbial growth was observed at regular intervals of 48 hours over a period of eight days of refrigerated storage at 4°C. The addition of essential oil to refrigerated milk resulted in a prolongation of the lag phase by 33.66 hours and a limitation of microbial growth. The duration of the lag phase ( $\lambda$ ) increased from  $0.661 \pm 0.0787$  days (15.84 hours) in the unsupplemented milk to  $2.0627 \pm 0.114$  days (49.5 hours) in the milk sample supplemented with 10 mg/ml, while the maximum microbial load ( $X_{\max}$ ) decreased from  $8.253 \pm 0.043$  log CFU/mL in the unsupplemented milk to  $7.441 \pm 0.0444$  log CFU/mL in the milk sample supplemented with the same concentration. A prolongation of the lag phase ( $\lambda$ ) and a slight decrease in  $X_{\max}$  were observed with the two concentrations of 5 mg/ml and 2.5 mg/ml. Furthermore, the addition of the essential oil at different concentrations resulted in a slowing down of the rate of change of the physicochemical parameters pH and acidity, thus extending the shelf life of the milk. The use of the essential oil from this species as a natural additive during refrigeration could present an opportunity as a biopreservative in the dairy industry, thereby reducing the need for thermal and chemical treatments.

**Keywords:** *Laurus nobilis*, essential oil, antimicrobial activity, refrigerated cow milk, biopreservation.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير إضافة الزيت الأساسي لنبته الرند (*Laurus nobilis* L.)، وهي نوع ينتمي إلى عائلة البتوليات (Lauracées)، إلى حليب البقر على ديناميكية النمو الميكروبي أثناء التبريد. يتم استخلاص زيت الأوراق الأساسي بواسطة التقطير بالماء باستخدام جهاز من نوع Clevenger ويتم إضافته إلى عينات الحليب بتركيز مختلفة: 2.5، 5 و 10 ملغ/مل. يتم أيضاً اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي للرند على خمس سلالات بكتيرية: *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Staphylococcus aureus* BAA-2856. أعطى استخلاص الزيت الأساسي عائداً قدره 0.62%، أظهر الزيت الأساسي للرند نشاط طفيف ضد *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 بتركيز MIC قدرها 2.5 ملغ/مل و 10 ملغ/مل ومناطق تثبيط بحجم  $0.55 \pm 8.7$  ملم و  $0.79 \pm 8.5$  ملم على التوالي. تم ملاحظة تطور النمو الميكروبي عند فترة منتظمة تبلغ 48 ساعة على مدار ثمانية أيام من التخزين في الثلاجة عند درجة حرارة 4 درجة مئوية. أدت إضافة زيت الغار إلى الحليب المبرد إلى تمديد مرحلة الكمون بمقدار 33.66 ساعة وتقييد النمو الميكروبي. ارتفعت مدة مرحلة الكمون ( $\lambda$ ) من  $0.0787 \pm 0.661$  يوم (15.84 ساعة) في الحليب غير المضاف إليه إلى  $0.114 \pm 2.0627$  يوم (49.5 ساعة) في عينة الحليب المضاف إليه 10 ملغ/مل، بينما انخفض الحمل الميكروبي الأقصى ( $X_{max}$ ) من  $0.043 \pm 8.253$  سجل UFC-مل<sup>1</sup> في الحليب غير المضاف إليه إلى  $0.0444 \pm 7.441$  سجل UFC-مل<sup>1</sup> في عينة الحليب المضاف بنفس التركيز. تم ملاحظة تمديد لمدة مرحلة الكمون ( $\lambda$ ) وانخفاض طفيف في  $X_{max}$  مع التركيزين 5 ملغ/مل و 2.5 ملغ/مل. بالإضافة إلى ذلك، أدت إضافة زيت الرند بتركيز مختلفة إلى إبطاء سرعة تغير المعايير الفيزيوكيميائية للحموضة والحموضة وبالتالي تمديد عمر الحليب. يمكن أن يكون استخدام زيت الرند من هذا النوع كمضاف طبيعي أثناء التبريد فرصة في صناعة الألبان كعوامل حفظ حيوية، مما يقلل من الحاجة إلى المعالجة الحرارية والكيميائية.

**الكلمات المفتاحية:** *Laurus nobilis*، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للميكروبات، حليب البقر المبرد، الحفظ البيولوجي.

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de l'ajout de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L., une espèce appartenant à la famille des Lauracées, dans le lait de vache sur la dynamique de la croissance microbienne durant la réfrigération. L'huile essentielle des feuilles est extraite par hydrodistillation en se servant d'un appareil de type Clevenger, et est ajoutée aux échantillons de lait à différentes concentrations : 2,5, 5 et 10 mg/ml. L'activité antibactérienne de l'HE est aussi testée sur cinq souches bactériennes : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* BAA-2856. L'extraction de l'HE a donné un rendement de 0,62%, l'HE de *Laurus nobilis* montre une légère activité contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 avec des CMI de 2,5mg/ml et 10mg/ml et des zones d'inhibition de 8,7±0,55 mm et 8,5±0,79 mm respectivement. La progression de la croissance microbienne a été observée à un intervalle régulier de 48 heures sur une période de huit jours de stockage réfrigéré à 4°C. L'ajout de l'huile essentielle au lait réfrigéré a entraîné une prolongation de la phase de latence de 33,66 heures et une limitation de la croissance microbienne. La durée de la phase de latence ( $\lambda$ ) est passée de 0,661±0,0787 jours (15,84 heures) dans le lait non supplémenté à 2,0627±0,114 jours (49,5 heures) dans l'échantillon de lait supplémenté de 10mg/ml, tandis que la charge microbienne maximale ( $X_{max}$ ) est passée de 8,253±0,043 log UFC.mL<sup>-1</sup> dans le lait non supplémenté à 7,441±0,0444 log UFC.mL<sup>-1</sup> dans l'échantillon de lait additionné de la même concentration. Une prolongation de la durée de la phase de latence ( $\lambda$ ) et une légère diminution de  $X_{max}$  sont observées avec les deux concentrations 5mg/ml et 2,5mg/ml. De plus, l'ajout de l'HE à différentes concentrations a entraîné un ralentissement de la vitesse de la variation des paramètres physicochimiques pH et acidité et donc prolonge la durée de vie du lait. L'utilisation de l'HE de cette espèce comme additif naturel lors de la réfrigération pourrait présenter une opportunité en tant que biopréservateur dans l'industrie laitière, réduisant ainsi le recours au traitement thermique et chimique.

**Mots clés :** *Laurus nobilis*, huile essentielle, activité antimicrobienne, lait de vache réfrigéré, biopréservation.

## Abstract

The objective of this study is to evaluate the effect of adding essential oil from *Laurus nobilis* L., a species belonging to the Lauraceae family, to cow milk on the dynamics of microbial growth during refrigeration. The essential oil from the leaves is extracted by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus and added to milk samples at different concentrations: 2.5, 5, and 10 mg/ml. The antibacterial activity of the essential oil is also tested against five bacterial strains: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Staphylococcus aureus* BAA-2856. The extraction of the essential oil yielded 0.62%, the *Laurus nobilis* essential oil showed slight activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, with minimum inhibitory concentrations (MIC) of 2.5 mg/ml and 10 mg/ml, and inhibition zones of 8.7±0.55 mm and 8.5±0.79 mm, respectively. The progression of microbial growth was observed at regular intervals of 48 hours over a period of eight days of refrigerated storage at 4°C. The addition of essential oil to refrigerated milk resulted in a prolongation of the lag phase by 33.66 hours and a limitation of microbial growth. The duration of the lag phase ( $\lambda$ ) increased from 0.661±0.0787 days (15.84 hours) in the unsupplemented milk to 2.0627±0.114 days (49.5 hours) in the milk sample supplemented with 10 mg/ml, while the maximum microbial load ( $X_{max}$ ) decreased from 8.253±0.043 log CFU/mL in the unsupplemented milk to 7.441±0.0444 log CFU/mL in the milk sample supplemented with the same concentration. A prolongation of the lag phase ( $\lambda$ ) and a slight decrease in  $X_{max}$  were observed with the two concentrations of 5 mg/ml and 2.5 mg/ml. Furthermore, the addition of the essential oil at different concentrations resulted in a slowing down of the rate of change of the physicochemical parameters pH and acidity, thus extending the shelf life of the milk. The use of the essential oil from this species as a natural additive during refrigeration could present an opportunity as a biopreservative in the dairy industry, thereby reducing the need for thermal and chemical treatments.

**Keywords:** *Laurus nobilis*, essential oil, antimicrobial activity, refrigerated cow milk, biopreservation.

## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير إضافة الزيت الأساسي لنبته الرند (*Laurus nobilis* L.)، وهي نوع ينتمي إلى عائلة البتوليات (Lauracées)، إلى حليب البقر على ديناميكية النمو الميكروبي أثناء التبريد. يتم استخلاص زيت الأوراق الأساسي بواسطة التقطير بالماء باستخدام جهاز من نوع Clevenger ويتم إضافته إلى عينات الحليب بتركيزات مختلفة: 2,5، 5 و 10 ملغ/مل. يتم أيضًا اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي للرند على خمس سلالات بكتيرية: *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Staphylococcus aureus* BAA-2856 و *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. أعطى استخلاص الزيت الأساسي عنده 0,62%، أظهر الزيت الأساسي للرند نشاط طفيف ضد *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 و *Escherichia coli* ATCC 25922 بتركيز MIC قدرها 2,5 ملغ/مل و 10 ملغ/مل ومناطق تثبيط بحجم 8,7±0,55 ملم و 8,5±0,79 ملم. تم ملاحظة تطور النمو الميكروبي عند فترة منتظمة تبلغ 48 ساعة على مدار ثمانية أيام من التخزين في الثلاجة عند درجة حرارة 4 درجة مئوية. أدت إضافة زيت الغار إلى الحليب المبرد إلى تمديد مرحلة الكمون بمقدار 33,66 ساعة وتقييد النمو الميكروبي. ارتفعت مدة مرحلة الكمون ( $\lambda$ ) من 0,661±0,0787 يوم (15,84 ساعة) في الحليب غير المضاف إليه إلى 2,0627±0,114 يوم (49,5 ساعة) في عينة الحليب المضاف إليه 10 ملغ/مل، بينما انخفض الحمل الميكروبي الأقصى ( $X_{max}$ ) من 8,253±0,043 سجل UFC.مل<sup>-1</sup> في الحليب غير المضاف إليه إلى 7,441±0,0444 سجل UFC.مل<sup>-1</sup> في عينة الحليب المضاف بنفس التركيز. تم ملاحظة تمديد لمدة مرحلة الكمون ( $\lambda$ ) وانخفاض طفيف في  $X_{max}$  مع التركيزين 5 ملغ/مل و 2,5 ملغ/مل. بالإضافة إلى ذلك، أدت إضافة زيت الرند بتركيزات مختلفة إلى إبطاء سرعة تغير المعايير الفيزيوكيميائية للحموضة والحموضة وبالتالي تمديد عمر الحليب. يمكن أن يكون استخدام زيت الرند من هذا النوع كمضاف طبيعي أثناء التبريد فرصة في صناعة الألبان كعوامل حفظ حيوية، مما يقلل من الحاجة إلى المعالجة الحرارية والكيميائية.

**الكلمات المفتاحية:** *Laurus nobilis*، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للميكروبات، حليب البقر المبرد، الحفظ البيولوجي.