

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saïda



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : biochimie

Thème

## Prétraitement et conservation de la viande rouge par un extrait et Huile essentiel d'une plante médicinale «Pinus halepensis Mill »

Présenté par :

- M<sup>elle</sup> : KHELFAOUI Rachida
- M<sup>elle</sup> : AOUIMEUR Rebiha

Soutenu le : 27/06/2022

Devant le jury composé de :

Président	Mr. TERRAS Mohamed	Pr	Université de SAIDA
Examineur	Mr. BENREGUIEG Mokhtar	MCA	Université de SAIDA
Rapporteur	Mr. BERROUKCHE Abdelkrim	Pr	Université de SAIDA
Co-encadrant	Mr. BOUDDOU Farouk	Dr	Université de SAIDA

Année universitaire 2021/2022

# Remerciement

A l'occasion de l'achèvement de ce présent mémoire, nous tenons à exprimer nos humbles et vifs remerciements à Dieu tout Puissant qui nous a donné les moyens, la force et le courage de mener à terme ce travail.

Nous voudrions adresser aussi nos sincères remerciements aux :

Professeur BERROUKCHE Abdelkrim, encadreur pédagogique qui, par ses généreux conseils et ses précieuses suggestions, nous a dirigé au cours de l'élaboration de ce mémoire. Qu'il trouve ici notre plus profonde gratitude ;

Docteur BOUDDOU Farouk, pour avoir bien accepté de diriger ce travail, pour l'orientation, la patience, qui ont constitué un rapport considérable sans lequel ce travail n'aurait pu être mené au bien.

Professeur TERRAS Mohamed, qui malgré ses obligations, nous a fait le grand honneur de présider le jury de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de notre haute considération ;

Professeur BENREGUIEG Mokhtar qui a accepté de siéger parmi les membres de jury et qui a bien voulu examiné ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de notre grande reconnaissance et de nos remerciements les plus dévoués ;

Nos remerciements vont également à :

L'ensemble du personnel du service de laboratoire.

Tous mes amis, surtout la promotion qu'ils trouvent ici le modeste témoignage de mon affection ;

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

**Merci à tous !**

# Dédicaces

NOUS DÉDIONS CE TRAVAIL À NOS TRÈS CHERS  
PARENTS EN TÉMOIGNAGE DE MA PROFONDE  
AFFECTION ET NOTRE ÉTERNELLE RECONNAISSANCE  
POUR LEURS SOUTIENS INCONDITIONNELS.

# Sommaire

<b>Remerciement</b> .....	
<b>Dédicaces</b> .....	
<b>Sommaire</b> .....	
<b>La liste des abréviations</b> .....	
<b>La liste des figures</b> .....	
<b>La liste des tableaux</b> .....	
<b>Résumé :</b> .....	
<b>Introduction</b> .....	<b>1-3</b>

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>Chapitre 1 : les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande</b> .....	<b>5</b>
<b>I. Viande rouge et blanche</b> .....	<b>6</b>
I.1. Définition de la viande .....	6
I.2. Classification de la viande .....	7
I.2.1. Viande rouge .....	7
I.2.2. Viande blanche.....	8
I.3. Structure de la viande.....	8
I.4. Transformation du muscle en viande .....	8
I.4.1. Phase de pantelance.....	8
I.4.2. Rigidité cadavérique (rigor mortis).....	9
I.4.3. Phase de maturation .....	9
I.5. Composition chimique de la viande.....	10
I.5.1. Teneur en eau .....	10
I.5.2. Les protéines .....	11
I.5.3. Les lipides .....	11
I.5.4. Glucides .....	12

I.5.5. Vitamines .....	12
I.5.6. Minéraux .....	12
I.6. Qualité de la viande.....	13
I.6.1. Définition de la qualité.....	13
I.6.2. Qualité nutritionnelle .....	13
I.6.3. Qualité sanitaire .....	13
I.6.4. Qualité organoleptique .....	14
I.6.4.1. La couleur .....	14
I.6.4.2. La flaveur .....	15
I.6.4.3. La tendreté.....	15
I.6.4.4. la jutosité .....	15
I.6.5. Qualité technologique .....	15
II. La putréfaction de la viande .....	16
II.1. Définition .....	16
II.2. Les types de putréfaction .....	16
II.2.1. Putréfaction superficielle .....	16
II.2.1.1. Putréfaction à basse température (< à 10 °C) .....	16
II.2.1.2. Putréfaction à température intermédiaire (10 à 25 °C) ou puanteur d'os .....	17
II.2.2. Putréfaction profonde .....	17
II.2.3. Facteurs de putréfaction.....	17
II.2.3.1. Activité de l'eau.....	18
II.2.3.2 La température .....	18
II.2.3.3. Le potentiel d'oxydoréduction.....	18
II.2.3.4. Le PH.....	18
III. La contamination microbienne de la viande.....	19
III.1. Origine de la contamination de la viande .....	19
III.1.1. Contaminations exogènes.....	19
III.1.2. Contamination endogène .....	19

III.2.la flore bactérienne de la viande .....	20
III.2.1.les germes saprophytes .....	20
III.2.2. La flore aérobie mésophile .....	20
III.2.3. Levures et moisissures.....	21
III.2.4. Les germes pathogènes.....	21
III.2.4.1. <i>Clostridium botulinum</i> .....	21
III.2.4.2. Salmonelle .....	21
III.2.4.3. <i>Escherichia coli</i> .....	22
III.2.4.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
III.2.5. Camphylobacter.....	22
III.2.6. <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	22
III.2.7. Les psychotropes .....	23
<b>Chapitre 2 : les méthodes de conservation de la viande. ....</b>	<b>25</b>
I. La conservation de la viande .....	26
I.1. Méthodes de conservation de la viande.....	26
I.1.1. Conservation par froid.....	26
I.1.2. Conservation par chaleur.....	27
I.1.3. Conservation par acidification lactique.....	27
I.1.4. Conservation par l'utilisation de la bactérie (biopreservation) .....	27
II. Méthodes traditionnel .....	27
II.1. Séchage .....	28
II.2. Fumage.....	28
II.3. Salaison.....	29
III. Méthodes modernes .....	30
III.1. Réfrigération.....	30
III.2. Refroidissement .....	30
III.3. Congélation.....	31
III.4. La surgélation .....	31

III.5. Additions de la substance chimique .....	31
III.6. La fermentation.....	31
III.7. La pasteurisation.....	32
IV. Nouvelles technologies de la conservation de la viande .....	32
IV.1. Irradiation.....	33
IV.2. Technologie de haute pression .....	33
IV.3. Technologie des emballages.....	34
IV.3.1. Emballage antimicrobien.....	34
IV.3.2. Emballage sous vide.....	34
<b>Chapitre 3 : <i>Pinus halepensis</i> Mill .....</b>	<b>36</b>
I. Généralités .....	37
II. La plante étudiée.....	37
II.1. Systématique de l'espèce.....	37
II.2. Biogéographie et Répartition .....	38
II.2.1. Dans le monde .....	38
II.2.2. En Algérie.....	39
II.3. Description botanique de la plante.....	39
II.3.1. L'écorce .....	40
II.3.2. Les aiguilles .....	40
II.3.3. Les bourgeons .....	40
II.3.4. La production de cônes et de graines.....	41
II.3.5. Cônes .....	41
II.3.6. Les Rameaux.....	41
III. Composition chimique de Pin d'Alep ( <i>Pinus halepensis</i> ) .....	41
III.1. L'Huile essentielle.....	41
III.2. Vitamine .....	42
III.3. Les éléments minéraux .....	42
III.4. Les acides gras.....	42

III.5. Les acides aminés .....	42
III.6. Les composées phénolique et Flavonoïde .....	42
IV. Les propriétés pharmacologiques de <i>Pinus halepensis</i> Mill .....	43
IV.1. Activité antibactérienne.....	43
IV.2. Activité antifongique.....	44
IV.3. Activité antioxydant .....	44
IV.4. Activité d'inhibition d'acétylcholinestérase .....	44
IV.5. Activité anti-inflammatoire .....	44
V. Les méthodes d'extraction.....	45
V.1. Macération.....	45
V.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....	45

### **Partie expérimentale**

<b>Chapitre 4 : Matériels et méthodes.....</b>	<b>47</b>
I. Objectif du travail.....	48
II. Matériel utilisé.....	48
III. Solvants, réactifs et milieux de cultures .....	48
IV. Préparation de la poudre végétale.....	49
V. Préparation des extraits.....	49
V.1. Extrait aqueux par macération (EAM) .....	49
V.2. Extrait Alcoolique par macération (EE) (EM).....	50
V.3. L'extrait huileux .....	51
VI. Calcul du rendement .....	52
VII. Etude Phytochimique.....	52
VII.1. Dosage de la teneur en polyphénols totaux (TTP) .....	52
VII.2. Dosage de la teneur en flavonoïdes totaux (TFT).....	52
VIII. Evaluation des activités biologiques.....	53
VIII.1. L'activité de piégeage des radicaux DPPH .....	53
VIII.2. Activité antibactérienne .....	54

IX. Application sur la viande bovine et efficacité antibactérienne .....	55
IX.1. Préparation de la viande .....	55
IX.2. L'analyse organoleptique .....	57
IX.3. L'Analyse microbiologique.....	57
IX.3.1. Préparation des milieux de culture .....	57
IX.3.2. La lecture.....	58
<b>Chapitre 5 : Résultats et discussion .....</b>	<b>59</b>
I. Rendement d'extraction .....	60
II. Estimation de la teneur totale en polyphénols et flavonoïdes.....	60
III. Résultat de l'activité antioxydant .....	61
IV. Résultats de l'activité antibactérienne .....	63
V. Résultat de l'appréciation organoleptique .....	65
VI. Résultat de L'utilisation des composés de <i>Pinus halepensis Mill</i> comme agents antimicrobiens.....	66
<b>Discussion.....</b>	<b>68</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>72</b>
<b>Les références bibliographiques .....</b>	<b>74</b>

# La liste des abréviations

**AH** : antioxydant.

**AW** : activité de l'eau.

**DPPH** : (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)

**DPPH-H**: (2,2- diphenyl-1- hydrazine)

**E.COLI** : Echerichia . Coli

**EAM, EM** : extrait aqueux par macération

**EE** : extrait ethanologique.

**EMM**: extrait méthanologique

**FC** : Folin -Ciocalteux

**g** : gramme.

**HA** : phase aqueuse.

**HE** : Huile essentiel

**HE** : phase organique .

**Kg** : kilogramme.

**M.H** : Miller Hinton.

**mg** : milligramme.

**mg GAE /g RS** : milligramme acide gallique équivalent en gramme résidus Sec.

**Min** : minute

**mm** : Millimètre

**nm** : nanomètre

**P.h, P. halepensis**: Pinus halepensis Mill.

**PCA** : Plat Count Agar.

**RH** : potentiel oxydant réduction.

**S.a** : Staphylococcus aureus

**TFT** : Teneur flavonoïde totaux.

**TTP** : Teneur polyphénols totaux.

**U.V** : Ultra-violet.

**UFC** : Unité formant une colonie.

**ug** : microgramme.

**Ul** : micro litre

**V.B** : viande bovine.

## La liste des figures

<b>Figure 1:</b> les différents types de viandes. ....	7
<b>Figure 2:</b> Etapes de transformation de viande en muscle ( <b>Ouali et al., 2006</b> ). ....	10
<b>Figure 3:</b> Variation de la couleur de la viande due à l'interconversion de leurs pigments ( <b>Boles et Pegg, 2002</b> ). ....	14
<b>Figure 4:</b> E. coli ( <b>Canadien en Santé, 2012</b> ). ....	23
<b>Figure 5:</b> <i>Clostridium botulinium</i> ( <b>Burme, 2012</b> ). ....	23
<b>Figure 6:</b> Salmonella ( <b>Mousset, 2011</b> ). ....	24
<b>Figure 7:</b> Staphylococcus aureus ( <b>Matthew et Carr, 2012</b> ). ....	24
<b>Figure 8:</b> Yersina Enterocolitica ( <b>Kunkel, 2004</b> ). ....	24
<b>Figure 9:</b> Campylobacter ( <b>Chuck, 2013</b> ). ....	24
<b>Figure 10:</b> Pseudomonas aeruginosa ( <b>Winsor et al., 2011</b> ). ....	24
<b>Figure 11:</b> Viande séchée conservée sur un balcon d'appartement dans un quartier nord d'Oulana-Bator (photo <b>Bianquis I, 2008</b> ). ....	28
<b>Figure 12:</b> Fumage de viande au Njeguši, au Monténégro (photo <b>Ralf Smallkaa</b> ). ....	29
<b>Figure 13:</b> le salage de viande ( <b>meat-me.fr</b> ). ....	30
<b>Figure 14:</b> Emballage antimicrobien ( <b>Axel Malgoire, 2020</b> ). ....	35
<b>Figure 15:</b> Emballage sous vide ( <b>Hanitriniaina, 2016</b> ). ....	35
<b>Figure 16:</b> Aire de répartition du pin d'Alep dans la région méditerranéenne ( <b>Quezel, 1986 in Bentouati, 2006</b> ). ....	38
<b>Figure 17:</b> Répartition du pin d'Alep en Algérie ( <b>Bentouati, 2006</b> ). ....	39
<b>Figure 18:</b> Le pin d'Alep dans la forêt de Draa El Aoud à Mecheria ( <b>TALBI, 2019</b> ). ....	39
<b>Figure 19:</b> L'écorce du Pinus halepensis ( <b>TALBI, 2019</b> ). ....	40
<b>Figure 20:</b> Aiguilles de pin d'Alep ( <b>Bernard Prévosto, 2013</b> ). ....	40
<b>Figure 21:</b> Bourgeons végétatifs. ( <b>Bernard Prévosto, 2013</b> ). ....	40
<b>Figure 22:</b> Sacs polliniques, cônes males matures enserrant un bourgeon végétatif. ....	41
<b>Figure 23:</b> Aspect de Pinus halepensis Mill avant et après l'opération de séchage. ....	49
<b>Figure 24:</b> l'extraction par macération. ....	50
<b>Figure 25:</b> un évaporateur rotatif. ....	50
<b>Figure 26:</b> préparation des extraits alcoolique. ....	51
<b>Figure 27:</b> montage d'extraction à vapeur. ....	51
<b>Figure 28:</b> Dosage en polyphénols. ....	52
<b>Figure 29:</b> La teneur en flavonoïde. ....	53

<b>Figure 30:</b> l'étude de l'activité antioxydant (DPPH). .....	54
<b>Figure 31:</b> Manipulation de l'activité antibactérienne. ....	55
<b>Figure 32:</b> Préparation des échantillons des viandes.....	56
<b>Figure 33:</b> Hachage, et malaxage de la viande par le traitement. ....	56
<b>Figure 34:</b> La conservation des échantillons.....	56
<b>Figure 35: A :</b> Technique de dilution décimale ; <b>B :</b> technique d'ensemencement en masse.	57
<b>Figure 36:</b> l'analyse microbiologique de la viande conservée. ....	58
<b>Figure 37:</b> Courbe d'étalonnage acide gallique. ....	60
<b>Figure 38:</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	61
<b>Figure 39:</b> Stockage de viande en présence et en absence d'HE et de l'extrait (T° ambiante). .....	65
<b>Figure 40:</b> Résultat de 24h. ....	66
<b>Figure 41:</b> Résultat de 48h. ....	67
<b>Figure 42:</b> Résultat de 72h. ....	67

# La liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les types des viandes .....	7
<b>Tableau 2:</b> Composition moyenne du muscle squelettique. (Coibion, 2008). .....	10
<b>Tableau 3:</b> L'activité de <i>Pinus halepensis</i> contre certains champignons. ....	44
<b>Tableau 4:</b> Les produits utilisés. ....	48
<b>Tableau 5:</b> Rendements des extraits. ....	60
<b>Tableau 6:</b> Les résultats des rendements d'extraction, des taux de TTP et de TFT des différents extraits et huile essentielle de <i>P. halepensis</i> . ....	61
<b>Tableau 7:</b> Les concentrations inhibitrices moyennes des extraits. ....	61
<b>Tableau 8:</b> Les zones d'inhibitions des extraits. ....	64
<b>Tableau 9:</b> La qualité organoleptique de la viande stockée en présence des traitements. ...	65

## Résumé :

Les souches bactériennes, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, constituent l'une des principales causes de la putréfaction des viandes. En effet, l'Homme a depuis toujours eu recours à l'utilisation des plantes médicinales qui peuvent constituer une importante contribution dans la conservation des aliments. Ainsi, l'objectif de ce travail est de déterminer le contenu phytochimique, la capacité antioxydante et l'activité antibactérienne in vitro de l'extrait éthanolique, méthanolique et aqueux, ainsi que de l'huile essentielle de *Pinus halepensis* Mill. Contre les deux souches bactériennes susmentionnées. Les estimations du taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux ont révélé que l'extrait éthanolique a enregistré les meilleurs rendements en polyphénols et en flavonoïdes respectivement estimés à 193.71 µg AGE/mg et 0.44 µg EC/mg. L'évaluation de l'activité antioxydante a révélé que l'extrait éthanolique possède lui aussi la capacité la plus significative à piéger le radical 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec une IC50 égale à 1.38 mg/ml suivi par l'extrait aqueux avec une IC50 égale à 2.95mg/ml, de l'huile essentielle avec IC50 égale 2.98mg/ml et de l'extrait méthanolique avec une IC50 égale à 3.32mg/ml. Les tests d'inhibition bactérienne effectués par la méthode de diffusion en puits d'agar ont montré une excellente activité antibactérienne de tous les extraits testés. L'addition de ces extraits de plante à des échantillons de viande bovine a permis de constater une bonne conservation pendant une période de 4 jours à température ambiante. Cette recherche a montré que les différents extraits de *Pinus halepensis* Mill constituent d'importants agents de conservation alimentaire naturels en raison de leurs hauts teneurs en composés phénoliques, qui leur confèrent un puissant effet antioxydant et surtout une bonne activité antibactérienne contre les bactéries gram positives et négatives.

**Mots-clés :** Antioxydant ; *Escherichia coli* ; *Pinus halepensis* Mill ; *Staphylococcus aureus* ; Viande.

## ملخص:

السلالات البكتيرية، الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية، هي أحد الأسباب الرئيسية لتعفن اللحوم. في الواقع، لجأ الإنسان دائماً إلى استخدام النباتات الطبية التي يمكن أن تشكل مساهمة مهمة في الحفاظ على الغذاء. وبالتالي، فإن الهدف من هذا العمل هو تحديد المحتوى الكيميائي النباتي، والقدرة المضادة للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا في المختبر للمستخلص الإيثانولي والميثانولي والمائي، وكذلك الزيت الأساسي لصنوبر الحلبي ضد السلالتين البكتيريتين المذكورتين أعلاه. أظهرت تقديرات مجموع البوليفينول والفلافونويد الكلي أن المستخلص الإيثانولي سجل أفضل إنتاجية من البوليفينول والفلافونويد على التوالي تقدر بـ 193.71 ميكروغرام / mg AGE و 0.44 ميكروغرام / mg EC. أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص الإيثانولي لديه أيضاً القدرة الأكثر أهمية على حبس شق 2، 2-ثنائي فينيل -1-بيكريل هيدرازيل (DPPH) باستخدام IC50 يساوي 1.38 مجم / مل متبوعاً بالمستخلص المائي باستخدام IC50. يساوي 2.95 مجم / مل، الزيت العطري الذي يحتوي على IC50 يساوي 2.98 مجم / مل والمستخلص الميثانولي بتركيز IC50 يساوي 3.32 مجم / مل. أظهرت اختبارات التثبيط البكتيري التي تم إجراؤها عن طريق طريقة انتشار آجار جيداً نشاطاً مضاداً للبكتيريا ممتازاً لجميع المستخلصات المختبرة. أظهرت إضافة هذه المستخلصات النباتية إلى عينات لحوم البقر حفظاً جيداً لمدة 4 أيام في درجة حرارة الغرفة. أظهر هذا البحث أن المستخلصات المختلفة لصنوبر الحلبي هي مواد حافظة غذائية طبيعية مهمة بسبب محتواها العالي من المركبات الفينولية، والتي تمنحها تأثيراً قوياً مضاداً للأكسدة وقبل كل شيء نشاطاً جيداً مضاداً للبكتيريا ضد البكتيريا الإيجابية والسلبية للجرام.

**الكلمات الدالة:** مضادات الأكسدة. الإشريكية القولونية، الصنوبر الحلبي، المكورات العنقودية الذهبية. لحمة.

## Summary:

Bacterial strains, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, are one of the main causes of putrefaction of meat. In fact, man has always used medicinal plants that can make an important contribution to the preservation of food. Thus, the objective of this work is to determine the phytochemical content, the antioxidant capacity and the antibacterial *activity in vitro* of the ethanolic, methanolic and aqueous extract, as well as the essential oil of *Pinus halepensis* Mill. Against the two bacterial strains mentioned above. Estimates of total polyphenols and total flavonoids levels revealed that the ethanolic extract recorded the highest yields of polyphenols and flavonoids estimated at 193.71 µg AGE/mg and 0.44 µg EC/mg respectively. The evaluation of antioxidant activity revealed that the ethanolic extract also has the most significant capacity to trap the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) with an IC50 equal to 1.38mg/ml followed by the aqueous extract with an IC50 equal to 2.95mg/ml, of the essential oil with IC50 equal to 2.98mg/ml and the methanolic extract with an IC50 equal to 3.32mg/ml Bacterial inhibition tests performed by the agar well diffusion method showed excellent antibacterial activity of all the tested extracts. The addition of these plant extracts to beef samples showed good preservation for a period of 4 days at room temperature. This research showed that the different extracts of *Pinus halepensis* Mill are important natural food preservatives due to their high content of phenolic compounds, which give them a powerful antioxidant effect and especially a good antibacterial activity against gram positive and negative bacteria.

**Keywords:** Antioxidant; *Escherichia coli*; *Pinus halepensis* Mill; *Staphylococcus aureus*; Meat.

# **Introduction**

# Introduction

---

La viande est un aliment de valeur, elle est parmi les aliments les plus consommés. Depuis des milliers d'années, l'homme comme être omnivore n'a cessé d'augmenter sa consommation en viande. C'est un aliment caractérisé par un goût et une valeur nutritionnelle importante. C'est une source de protéines, de vitamines et de fer (**Dupin, 1992**). D'ailleurs, ce sont les composants essentiels pour la santé de l'homme.

Toutefois, la viande est aussi un milieu favorable au développement des microorganismes, essentiellement des bactéries protéolytiques qui entraînent des modifications néfastes sur l'odeur, la couleur, la texture et produisent des substances toxiques. C'est donc une matière première fragile qui doit être strictement surveillée en raison des dangers dû à ces altérations et à la présence éventuelle de germes pathogènes (**Guiraud et al., 2003 et Brakna et Tobbi, 2005**).

La conservation de la viande consiste à maintenir sa qualité microbiologique en ralentissant la vitesse de prolifération des microorganismes et garder ses propriétés organoleptiques et nutritionnelles en éliminant les mécanismes d'altération intrinsèques et extrinsèques. La bonne conservation d'un aliment résulte d'une optimisation réussie entre différents paramètres tel que l'allongement de la date limite de conservation (DLC) des viandes fraîches selon des conditions de stockage et la qualité de l'aliment (**Multon, 1984; Durand, 2006**).

Dans le but de garder les produits alimentaires dans un état consommable pour une longue durée, de nombreuses méthodes de conservation ont été employées depuis les temps anciens jusqu'à nos jours. Ces méthodes de conservation reposent sur les techniques suivantes : la chaleur (appertisation, pasteurisation, stérilisation) ; le froid (réfrigération, congélation, surgélation) ; la modification de l'atmosphère ; la séparation et l'élimination de l'eau (salage, lyophilisation) ; les additifs (ajout d'un agent conservateur).

À l'heure actuelle, de nombreux spécialistes dénoncent l'utilisation d'additifs chimiques et démontrent à quel point ils sont dangereux pour la santé humaine. D'un autre côté, ils conseillent et encouragent l'utilisation d'additifs naturels, en particulier ceux extraits de plantes médicinales.

Les extraits de plantes peuvent, en combinaison avec d'autres technologies telles que la transformation et l'emballage, préserver les aliments pendant de plus longues périodes (**Yasmina Sultanbawa, 2015**).

Les plantes médicinales sont considérées depuis des siècles comme une source majeure des produits utilisés en thérapeutique. Parmi ces produits, on trouve les polyphénols qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêts en raison du bénéfice qu'ils pourraient apporter en termes de prévention des maladies (**Meziti, 2008**).

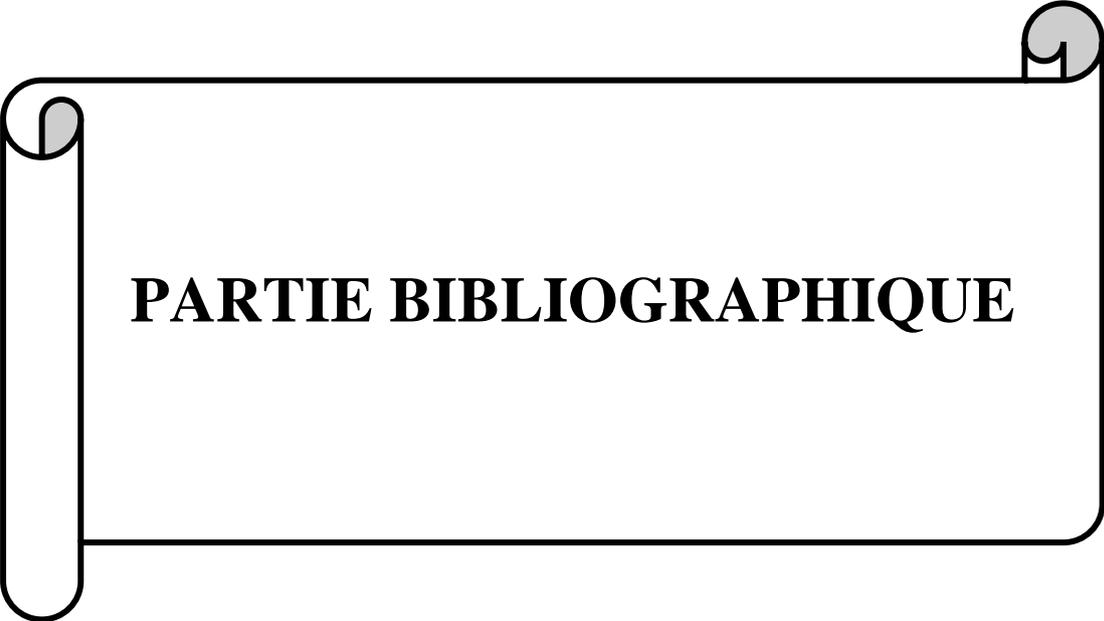
## Introduction

---

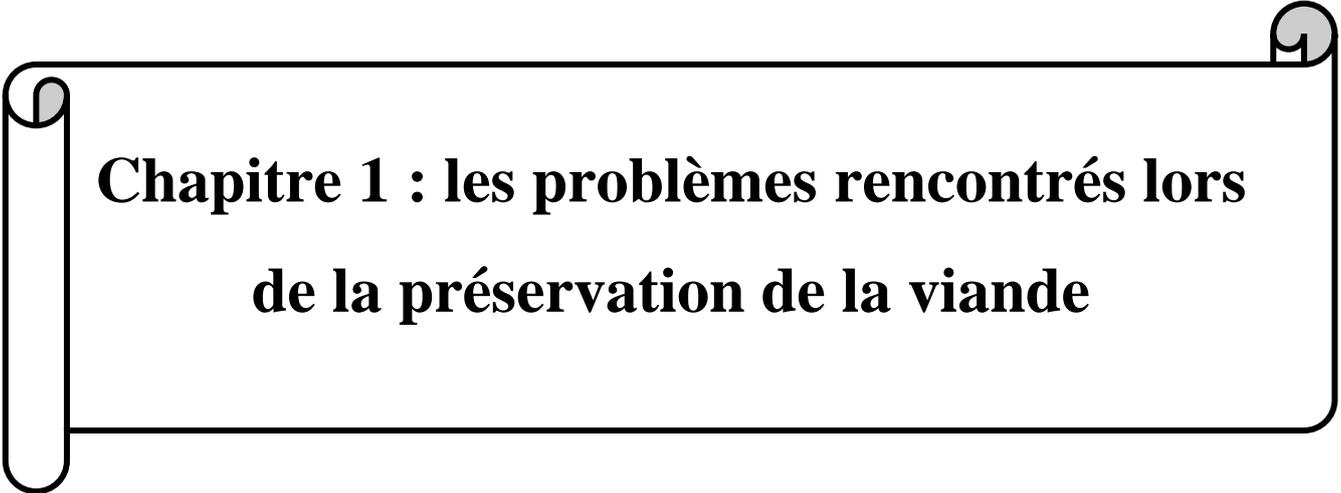
Les Pinus produisent une grande variété de métabolites secondaires : tels que les phénols, terpènes, tanins, flavonoïdes, coumarines et d'autres métabolites secondaires, qui sont souvent dotés d'intérêts thérapeutique et biologique (**Behih, et Ben Amrouche, 2017**).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier la possibilité de conserver un produit d'origine animale, en l'occurrence la viande de bœuf, grâce à l'utilisation d'huile essentielle et extrait extraites de la plante "*Pinus halepensis Mill*, Afin de réaliser ce travail, nous avons adopté le plan suivant :

- Préparation des extraits alcoolique et aqueux et l'Huile essentiel
- Evaluation de la teneur en polyphénols totaux, et en flavonoïdes des extraits.
- Evaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de *Pinus halepensis* par les tests de DPPH.
- L'effet anti microbien, par la prolongation de la durée de conservation et évaluer la qualité organoleptique sur la viande du bœuf vendue sur notre marché local.



**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**



**Chapitre 1 : les problèmes rencontrés lors  
de la préservation de la viande**

# Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

---

## I. Viande rouge et blanche

### I.1. Définition de la viande

La viande est une excellente source protéique pour l'alimentation humaine (**Lecerf, 2014**) Le terme viande désigne toutes les parties comestibles en provenance des animaux mammifère et certains types des oiseaux, celle-ci peuvent inclure essentiellement le tissu musculaire puis le tissu adipeux et quelques organes internes (**BELITZ et al ; 2009**)

Selon **MACNEIL (2014)** il n'existerait pas une définition universelle des viandes rouges. Cependant, la viande de bœuf, porc, mouton et veau sont généralement classées dans cette gamme de la viande. La viande est le résultat de l'évolution post mortem du tissu musculaire squelettique (Ou strié) et du tissu adipeux. La connaissance de la structure de ces tissus est donc préliminaire et indispensable à la compréhension des mécanismes responsables du déterminisme des qualités de la viande (**EL RAMMOUZ, 2005**).

Selon l'organisation mondiale de la santé animale (OMS), la viande désigne toutes les parties comestibles d'un animal. Dans ce vocabulaire sont incluses la chair des mammifères (Ovin, bovin, caprin, camelin ...) et des oiseaux (poulet, dinde, pintade ...). Mais la qualité de la viande est fonction de l'âge, du sexe et de la race de l'animal (**Fosse, 2003 et Elrammouz, 2008**). Pour une définition plus scientifique, la viande est l'ensemble des matières alimentaires obtenues par la mise à mort des mammifères domestiques réputés comestibles (**Drieux et al, 1962**), auxquels on peut ajouter la volaille, le gibier et le poisson.

Par définition, la viande est constituée de tous les tissus musculaires des animaux de boucherie. Par extension, on appelle viande toute partie consommable des animaux destinés à la consommation humaine, incluant les organes internes (langue, cœur, foie, rein, poumon, diaphragme, œsophage, intestins), les carcasses, les tissus adipeux et les muscles. Le gras ainsi que d'autres produits de l'abattage (le sang, la tête) sont aussi utilisés dans la fabrication de produits carnés. La viande est composée d'eau, de lipides, de protéines, d'éléments minéraux et d'une petite quantité de glucides. La teneur en eau est inversement liée à la teneur en lipides comme le montre le tableau suivant (**Angela Irène, 2017**).

La paléontologue Marylène Patou- Mathis nous dit que ce terme désigne « un muscle strié enveloppé d'un tissu conjonctif, de tendons, de nerfs et de vaisseaux sanguins » (2009, p. 13). Mais ce n'est pas tout. La viande n'est pas uniquement un matériau biologique. Là où la précédente définition renverrait en fait plutôt à la « chair », la viande quant à elle est une « notion normative », une « catégorie alimentaire » nous dit l'anthropologue Noëlie Vialles (2007, p. 198). Car la viande n'existe qu'en tant qu'elle est, en dernière instance, destinée à être mangée. (**Michaël Bruckert, 2016**)

# Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

## I.2. Classification de la viande

Traditionnellement, les viandes sont classées selon la couleur en : Viandes rouges (bœuf, dromadaire, mouton, agneau et cheval) et viandes blanches (veau, porc, lapin et volaille) et selon la richesse en graisse en: viandes maigres et viandes plus ou moins riches en graisse (Staron, 1982).

**Tableau 1:** Les types des viandes

Viande rouge	Viande blanche
<ul style="list-style-type: none"><li>- Bœuf</li><li>- Taureau</li><li>- Cheval</li><li>- Chèvre</li><li>- Moutton</li><li>- Agneau</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Couchon</li><li>- Veau de lait</li><li>- Lapin</li><li>- volaille</li><li>- porc</li></ul>



**Figure 1:** les différents types de viandes.

### I.2.1. Viande rouge

Selon la définition de l'Organisation Mondiale de la Santé, la viande rouge fait référence à tous les types de viande issus des tissus musculaires de mammifères comme le bœuf, le veau, le porc, l'agneau, le mouton, le cheval et la chèvre (OMS 2015)

C'est une structure anatomique faite de cellules spécialisées regroupées en faisceaux, capable de contractions et de décontractions et génératrice de mouvements. Le tissu musculaire représente 40% de la masse totale de l'organisme. Le terme tissu musculaire recouvre l'ensemble des cellules douées de propriété contractile et groupées au sein de structures organisées qui sont les muscles (Ziane, 2007)

### I.2.2. Viande blanche

La viande blanche est une source de protéines animales présentant autant de qualités nutritives que la viande rouge ; dans le passé cette viande était qualifiée de viande des pauvres ; actuellement et compte tenu des avantages qu'elle présente en matière des lipides, elle est conseillée aux patients au titre d'un régime alimentaire non gras pour la matière Odu taux de cholestérol, elle est recommandée également aux sportifs et aux personnes intéressées par une taille fine et une bonne forme. **(BOUKHALFA, 2006).**

### I.3. Structure de la viande

Le muscle squelettique des animaux terrestres est constitué de fibres musculaires groupées parallèlement en faisceaux. Chaque niveau de structure est enveloppé par une gaine conjonctive. On distingue ainsi, du centre du muscle vers la périphérie, l'endomysium qui enveloppe chaque fibre musculaire, le pérимysium qui délimite les faisceaux de fibres musculaires et l'épimysium, qui est l'enveloppe externe du muscle.

Quand les morceaux de viande consommés sont constitués d'un seul muscle, l'épimysium est retiré. Dans le cas où les morceaux consommés sont constitués de différents muscles, il n'est éliminé que sur l'extérieur.

Le muscle squelettique contient également du tissu adipeux et dans une moindre mesure, des tissus vasculaires et nerveux. **(A. LISTRAT et al,2015).**

### I.4. Transformation du muscle en viande

La viande est le résultat de l'évolution chimique et physique des muscles squelettiques initiée par la mort de l'animal. Elle est principalement composée du tissu musculaire ainsi que du tissu adipeux **(Scheffler et Gerrard, 2007).**

En effet, après la mort de l'animal, le muscle est le siège de nombreuses transformations. Ces transformations vont en grande partie être responsables de la qualité finale des viandes dont l'évolution se fait en trois phases, la phase de pantelance, la phase de rigidité cadavérique (rigor mortis) et la phase de maturation **(Bax, 2012).**

#### I.4.1. Phase de pantelance

La phase de pantelance suit directement l'abattage (20 à 30minutes). Juste après la mort de l'animal, le muscle est encore chaud mais ne reçoit plus d'information du système nerveux. Malgré l'interruption du courant sanguin, on observe une succession de contractions et relaxations musculaires. Le muscle dépense encore ses réserves en glycogène, puis une mise en place de la glycolyse anaérobie. L'accumulation d'acide lactique qui s'en suit provoque ainsi une baisse du pH qui passe selon les muscles, de 7 à environ 5,5 **(Coibion, 2008).**

## Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

---

La couleur du muscle à ce stade est relativement foncée due au manque d'oxygénation provoquée par la saignée et l'arrêt de la circulation sanguine qui ont pour effet majeur de priver la cellule musculaire des nutriments et de l'oxygène (anoxie). Seuls les mécanismes anaérobies continuent de fonctionner. Il en résulte des modifications du métabolisme qui présentent des répercussions sur la structure du tissu musculaire (**El Rammouz, 2005**).

### I.4.2. Rigidité cadavérique (rigor mortis)

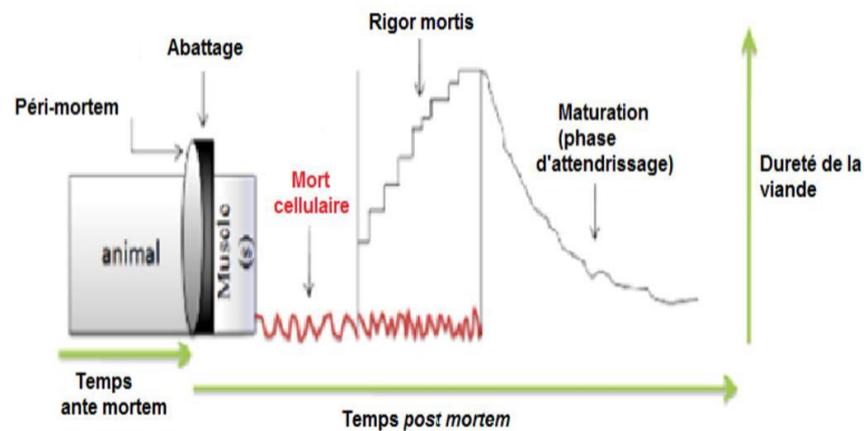
La phase de la rigidité cadavérique est comprise entre les 10 et 48 heures qui suivent la saignée. Le muscle devient progressivement raide et inextensible. La rigidité cadavérique est le résultat de la liaison irréversible entre la myosine et l'actine, avec diminution de la teneur en ATP car la vitesse de sa production devient inférieure à celle de l'hydrolyse due au manque d'oxygène au niveau du muscle provoqué par l'arrêt de la circulation sanguine (**Coibion, 2008**). L'installation de la rigidité cadavérique est un phénomène dynamique caractérisé par :

1. Perte de l'élasticité du muscle et son acidification (**Bax, 2012**).
2. Les protons hydrogène issus de l'hydrolyse de l'ATP et l'acide lactique.
3. S'accumulent et entraînent une diminution du pH musculaire, jusqu'à un pH dit « ultime », qui varie de 5,5 à 5,7 selon le type de muscle et l'espèce, lorsque les réserves de glycogène sont épuisées (**Guillemin et al, 2009 ; Promeyrat A., 2013**).

### I.4.3. Phase de maturation

La maturation de la viande se fait grâce à l'activité protéolytique des cathepsines libérées par les lysosomes qui vont provoquer une protéolyse myofibrillaires pour fragiliser le complexe actomyosine. Le phénomène de protéolyse peut être estimé par l'indice de fragmentation myofibrillaires. (**Veiseth ; 2001**).

La maturation joue un rôle considérable dans l'élaboration de la qualité sensorielle des viandes. Elle permet principalement l'attendrissement de la viande qui due à des modifications des myofibrilles et du cytosquelette. Il s'agit d'une phase de dégradation enzymatique des protéines du muscle. Les fibres musculaires sont les plus concernées par cette dégradation (**Terlouw, 2012**). Comme il s'agit d'un phénomène enzymatique, la vitesse de maturation est fonction de la température, mais également du pH du muscle (**Promeyrat A., 2013**).



**Figure 2:** Etapes de transformation de viande en muscle (Ouali et al., 2006).

### I.5. Composition chimique de la viande

En général la viande est composée d'eau, de matière grasse, de protéines, de minéraux et d'une faible proportion de glucide (HEINZ et al., 2007).

La composition du muscle est variable entre les animaux et chez un même animal d'un muscle à l'autre (Coibion, 2008). Mais il y a une composition moyenne qui est retenue indiquée dans le **Tableau 2**.

**Tableau 2:** Composition moyenne du muscle squelettique. (Coibion, 2008).

Composant chimique	Pourcentage (%)
Eau	75
Protéines	18.5
Lipides	3
Glucides et catabolite	1
Substances azotées non protéiques	1.5
Composés minéraux	1

#### I.5.1. Teneur en eau

Le muscle peut contenir de 60 à 80 % d'eau dont 90 à 95 % sous forme libre et 5 à 10 % sous forme liée (Coibion, 2008).

### I.5.2. Les protéines

D'une façon générale, les protéines d'origine animale et en particulier les viandes sont riches en acides aminés. Elles représentent en moyenne 18,5% du poids du muscle et c'est la fraction la plus importante après l'eau. **(TOME, 2008)**.

Les protéines du muscle se répartissent de la manière suivante :

- Protéines extracellulaires : collagène, réticuline, élastine
- Protéines intracellulaires: Protéines sarcoplasmiques : albumine, globuline, myoglobine, hémoglobine, Protéines myofibrillaires : - protéines filamenteuses : actine, myosine
- Protéines de régulation : tropomyosine, troponine, actinine, protéines de la ligne M, p
- Protéines insolubles de la strie Z (type collagène). **(Coibion, 2008)**

La viande rouge est une source majeure de protéines. La fonction fondamentale de ces protéines est d'assurer la bonne couverture des besoins azotés de l'organisme, d'un point de vue quantitatif et qualitatif, comme le renouvellement protéique des cellules musculaires par exemple **(Bourre, 2011)**. Selon **Darmaun, (2008)**, la viande apporte tous les acides aminés indispensables à l'homme.

La viande bovine renferme de protéines (17 à 22% du tissu frais) bien équilibrées en acides aminés indispensables et très digestes chez l'Homme **(Rémond et al., 2010)**.

### I.5.3. Les lipides

Les lipides de la viande représentent une fraction beaucoup plus variable en quantité et en composition **(Bauchart et al., 2008)**.

Ce sont surtout les lipides intramusculaires que l'on retrouve dans la viande. Ils sont en majorité constitués de triglycérides de réserve (en moyenne 85% des lipides totaux), de lipides membranaires, les phospholipides (12 % des lipides totaux) et de cholestérol (3% des lipides totaux) **(Bonnet et al., 2010)**.

Ces lipides sont constitués en partie d'acides gras. Trois groupes d'acides gras sont définis : les acides gras saturés (AGS), les acides gras mono-insaturés (AGMI) et les acides gras polyinsaturés (AGPI). Les AGS sont dominants dans toutes les viandes **(Bauchart et Gandermer, 2010)**.

Pour la viande de porc et de volaille, la fraction d'acides gras mono insaturés est la plus importante tandis que pour la viande de bœuf c'est la fraction d'acide gras saturés qui est la plus importante **(NUBEL ,2017)**.

## Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

---

La composition de la graisse est très différente selon les endroits. La graisse externe est beaucoup plus douce que la graisse interne entourant les organes en raison d'une teneur élevée de gras insaturés dans les parties externes (**HEINZ et al., 2007**).

### I.5.4. Glucides

La fraction glucidique ou le glycogène dans le muscle est d'environ 2%. Elle constitue la réserve énergétique pour la contraction du muscle. La viande est pauvre en glucides. Le glycogène est transformé en acide lactique après la mort de l'animal (**Craplet et al. 1979**).

### I.5.5. Vitamines

La viande contient toutes les vitamines liposolubles en faible quantité (A, D, E et K), les vitamines hydrosolubles (Thiamine, Riboflavine, Nicotinamine, Pyridoxine, Acide pantothémique, Acide folique, Niacine, Cobalamine et Biotine) et un peu de vitamine C. La viande est une réserve de vitamine A. La plupart des vitamines de la viande sont relativement stables au cours de la cuisson. La thiamine (vitamine B1) et dans une moindre mesure, la vitamine B6 sont thermolabiles, elles sont partiellement détruites pendant la cuisson (**HEINZ et al., 2007**).

La teneur de la viande dromadaire en vitamines, selon, **Ulmer et al., (2004)** est de 0,12mg/100 g pour la thiamine (B1), 0,18mg/100 g pour la riboflavine (B2), 0,25mg/100 g pour la pyridoxine (B6) et 0,61mg /100 g pour l' $\alpha$ -tocopherol (vitamine E).

### I.5.6. Minéraux

Le contenu minéral de la viande comprend d'une part : le calcium, le phosphore, le sodium, le potassium, le chlore et le magnésium avec un niveau au-dessus de 0,1% pour chacune de ces substances minérales et d'autre part les oligoéléments comme le fer, le cuivre, le zinc entre autres (**HEINZ et al., 2007**).

La viande est une excellente source de fer, 100g de viande fraîche apporte jusqu'à 2.2 à 3.7mg de fer, essentiellement sous forme hémique (65 à 75% du fer totale), la teneur en fer totale dépend du morceau (55% de la variance totale) et très peu de la race (4-6% de la variance) (**Bauchart et al, 2008**)

Les viandes sont les aliments les plus riches en sélénium. Leur teneur moyenne est d'environ 9 $\mu$ g/100g. C'est un antioxydant qui protège l'organisme contre les peroxydations lipidiques donc contre le vieillissement et les maladies cardiovasculaires (**Interbev, 2005**).

### I.6. Qualité de la viande

#### I.6.1. Définition de la qualité

Estimer la qualité d'une entité selon la définition ISO 8402 : c'est définir l'ensemble des caractéristiques de cette entité (activité, produit ou organisme) qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites en vue de son utilisation à la consommation et (où) à la transformation. La qualité est l'aptitude du produit ou d'un service à satisfaire les besoins des utilisateurs.

La qualité est une notion ambiguë. Pour certains, elle désigne la supériorité d'un produit dans une catégorie ou un ensemble de produits (**Day et al.,1988**), pour d'autres, c'est une notion mesurable et objective que le consommateur évalue dans une option d'échanges (trade-off) (**Zeithmal v.A., 1988**). Pour les produits alimentaires, la qualité est un élément important dans le choix des produits carnés (**Ventura Lucas M. R., 2002**). Tant pour les producteurs que pour les distributeurs, la compréhension du processus de perception du produit est une nécessité incontournable. (**ABDESSADEK ETTABTI, 2005**).

En ce qui concerne la viande cette qualité regroupe plusieurs critères qui sont :

- Qualité nutritionnelle,
- Qualité sanitaire,
- Qualité organoleptique,
- Qualité technologique

#### I.6.2. Qualité nutritionnelle

La première fonction d'un aliment est de couvrir les besoins physiologiques d'un individu (Protéines, glucides, lipides, oligo-éléments...) (**Touraille C.,1994**). La viande est un élément qui apporte de nombreux nutriments indispensables à une alimentation équilibrée. Cette caractéristique est prouvée scientifiquement pour la viande et s'appuie sur les données relatives à sa composition. C'est une source de protéines d'excellentes qualités car ces protéines contiennent 40 % d'acides aminés essentiels. Cet aliment apporte également des minéraux tels que le fer, en particulier, dans les viandes rouges et le zinc et aussi des vitamines du groupe B. La viande peut être une source d'acides gras poly insaturés à chaîne longue. (C18:2 et C18:3) (**Chougui N.,2015**).

#### I.6.3. Qualité sanitaire

La qualité hygiénique de la viande constitue l'exigence élémentaire du consommateur. Elle peut être altérée par la prolifération de microorganismes néfastes, de parasites et/ou la présence de composés toxiques. La viande peut être contaminée par des microorganismes à

## Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

différentes étapes de la chaîne de transformation. Le contrôle des proliférations microbiennes dépend avant tout du respect de la chaîne du froid (Coibion, 2008).

### I.6.4. Qualité organoleptique

Ce sont les qualités perçues par les sens du consommateur.

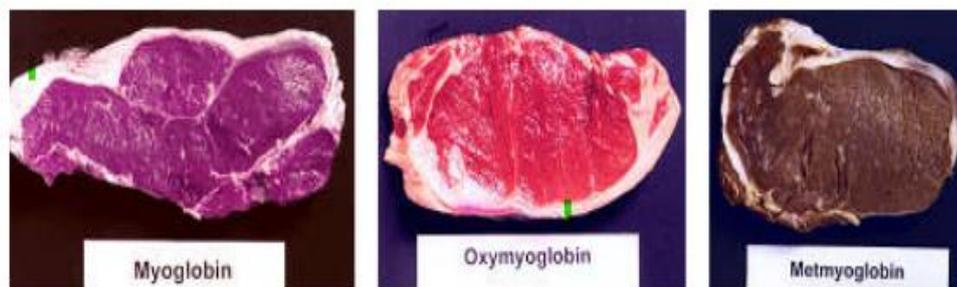
Quatre critères principaux définissent les qualités organoleptiques de la viande : la couleur, la flaveur, la tendreté et la jutosité.

#### I.6.4.1. La couleur

La couleur rouge à la surface de la viande est le principal critère de qualité des consommateurs (Hood et Riordan, 1973).

La couleur est la première caractéristique perçue par le consommateur. C'est souvent la seule dont il dispose pour choisir la viande au moment de l'achat. Car la couleur de la viande influence les décisions d'achat plus que tout autre facteur de qualité. De plus, les consommateurs utilisent à tort ou à raison la décoloration comme un indicateur de la nature et de la détérioration éventuelle de la qualité du produit (Smith et al., 2000).

La couleur rouge de la viande, lui est conférée par un pigment musculaire, la myoglobine, dont le rôle est de capter l'oxygène véhiculé par l'hémoglobine sanguine et de le transporter dans le muscle (Monin, 1991).



**Figure 3:** Variation de la couleur de la viande due à l'interconversion de leurs pigments (Boles et Pegg, 2002).

Au sein du muscle, la myoglobine est sous forme réduite, de couleur pourpre, en raison de l'absence d'oxygène, au contact de l'air, elle se trouve sous forme oxygénée (oxymyoglobine), de couleur rouge vif, après une exposition prolongée à l'air, le pigment s'oxyde en metmyoglobine, de couleur brunâtre (Touraille, 1994 ; Geay et al., 2001).

### I.6.4.2. La flaveur

La flaveur correspond aux sensations des consommateurs lors de la libération des arômes de la viande pendant la dégustation. La flaveur de la viande est abusivement appelée goût dans le langage courant. Elle résulte de la sollicitation du goût et de l'odorat, soit une perception olfacto-gustative de la viande. Ces sensations proviennent de l'irritation provoquée par des stimuli chimiques de la cavité buccale, du nez ou de la gorge (**Micol et al., 2010**).

### I.6.4.3. La tendreté

Pour 72% des consommateurs, le prix est important certes, mais il n'est ni le seul ni le premier critère de choix. En effet, la qualité sensorielle de la viande, et la tendreté en particulier, apparaissent aujourd'hui importantes à leurs yeux (**Cassignol, 2014**).

De nombreux facteurs influencent la tendreté de la viande. C'est donc une des qualités les moins prévisibles. Deux facteurs majeurs sont à prendre à compte dans la tendreté de la viande. La tendreté peut être définie comme "la facilité avec laquelle une viande se laisse trancher et mastiquer" (**Touraille, 1994**).

### I.6.4.4. la jutosité

La jutosité est une caractéristique perçue lors de la mastication. Elle représente le caractère plus ou moins sec de la viande lors de sa consommation. Ses deux composantes principales sont :

- La sensation de libération d'eau dès les premières mastications. Elle est produite par la libération rapide des fluides de la viande ;
- L'effet des lipides sur la sécrétion salivaire.

La jutosité dépend de la capacité de rétention en eau de la viande. Plus les pertes à la cuisson sont importantes, plus la viande paraît sèche (**RENAND et al., 2008**).

### I.6.5. Qualité technologique

La qualité technologique de la viande correspond à ses aptitudes à subir une transformation. La qualité de la matière première doit être définie par rapport à l'utilisation en visagée. Le pouvoir de rétention en eau de la viande fraîche est la capacité des 20 % de protéines musculaires à retenir les 75 % d'eau présents ; c'est une caractéristique essentielle pour la fabrication de viande cuite. Il est fortement influencé par la vitesse de chute du pH post mortem ; une chute trop rapide du pH combinée à une température élevée provoque la dénaturation des protéines, conduisant à une réduction du pouvoir de rétention. Cela, entraîne une diminution du rendement de fabrication de viande cuite (**Chougui N.,2015**).

### II. La putréfaction de la viande

#### II.1. Définition

La putréfaction est l'altération majeure des viandes des animaux de boucheries, et des produits de la pêche. Dans les pays où l'hygiène et la conservation des produits se sont développées, la putréfaction devient un motif de saisie rare. Au niveau mondial on perd chaque année 10% de viande par putréfaction, 15 à 20 % de fruits et 25 à 30% des produits de la pêche. Pour empêcher la putréfaction, il y'a lieu de développer des précautions hygiéniques pour éliminer la cause déterminante ; d'utiliser la chaîne de froid, d'améliorer les conditions de transport (**Professeure DIB A. L.**).

La flore de contamination post-mortem de la viande provoque une altération se traduisant par la putréfaction. Selon l'origine et l'évolution on distingue la puanteur d'os qui s'observe dans les masses musculaires à forte teneur en graisse et la putréfaction superficielle provoquée par les germes aérobies psychotropes.

#### II.2. Les types de putréfaction

Altération des viandes Plusieurs types d'altérations sont susceptibles d'atteindre la viande selon la température de conservation. Il s'agit des altérations à basse, à moyenne et à forte température.

##### II.2.1. Putréfaction superficielle

###### II.2.1.1. Putréfaction à basse température (< à 10 °C)

Putréfaction superficielle Selon la nature de l'atmosphère, deux types d'altérations sont susceptibles d'apparaître sur les viandes conservées à la chambre froide : En atmosphère sèche, la multiplication des bactéries est retardée. Par contre, on assiste à une prolifération lente (une semaine ou plus) de moisissures à la surface de la viande (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Thamnidium*, *Rotrichum*, *Penicillium*, *Mucor*) participant aux réactions d'hydrolyse et d'oxydation des lipides. Des levures (*Candida*, *Monilia*, *Torula*) ont également été isolées mais elles requièrent moins d'attention que les moisissures (**Bourgeois et al., 1996 ; Fernandes, 2009**). En atmosphère humide, les viandes sont envahies en quelques jours par des bacilles Gram négatif. Il s'agit essentiellement de : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, et *Enterobacteriaceae*. La viande devient brune grisâtre, elle dégage une odeur putride. Cette putréfaction se traduit par l'apparition en surface d'une couche visqueuse résultant de la juxtaposition de cellules microbiennes (putréfaction superficielle) accompagnée d'odeur nauséabonde. Les bactéries responsables sont des Psychrotrophes, essentiellement *Pseudomonas* et *Achromobacter*. Dans le cas où la viande est emballée avec facilité de diffusion

## Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

---

de l'oxygène, les deux souches bactériennes sont présentes. En l'absence de l'oxygène dans l'emballage, seule la souche *Pseudomonas* est éliminée (Ndiaye, 2002).

### II.2.1.2. Putréfaction à température intermédiaire (10 à 25 °C) ou puanteur d'os

Le refroidissement lent des carcasses conduit à des altérations en surface et en profondeur. Il se développe en surface de nombreuses espèces avec un pourcentage élevé de germes anaérobies facultatifs et en particulier des entérobactéries ; les *Pseudomonas* y deviennent rapidement l'espèce majoritaire avec apparition d'un poissage et d'une odeur nauséabonde.

Les formes sporulées de *Clostridium* sont supposées être responsables du phénomène. De nombreuses espèces de *Clostridium* et de *Bacillus* ont été isolées (Bourgeois et al., 1996). Ces germes agiraient conjointement avec des enzymes tissulaires dans des réactions d'hydrolyse et seraient responsables de l'apparition de composés volatils malodorants caractérisant la puanteur d'os (Mead, 2007)

### II.2.2. Putréfaction profonde

Elle est due au développement rapide des bactéries anaérobies putréfiantes provenant du tractus intestinal des animaux. Ces germes se multiplient lorsque le rH (potentiel redox) a atteint une valeur suffisamment basse (établissement progressif de l'anaérobiose par consommation tissulaire de l'oxygène résiduel soit 8 à 10 heures post mortem) et que la température reste élevée. (SALIFOU, C.F.A et al, 2013).

Cette putréfaction se manifeste en premier lieu par la formation de gaz en l'absence de toute mauvaise odeur. Elle est associée à la présence d'un nombre élevé de *Clostridium perfringens* sous forme végétative). Dans un second temps, la viande verdit et devient très malodorante à la suite de la multiplication d'espèces encore plus anaérobies : *Clostridium histolyticum*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium oedematien* (Fernandes, 2009).

### II.2.3. Facteurs de putréfaction

Le développement de la microflore initiale est influencé par : le nombre initial de microorganisme présent sur la carcasse (principalement les germes d'altération), les espèces ou les souches de germes présentes, la température de conservation, le pH (lié au taux de glucose dans la viande) particulièrement pour les viandes conservées sous vide ou sous atmosphère modifiée et l'humidité relative qui influence uniquement les viandes non emballées (Corry, 2007). Les plus importants sont le pH, la température, l'activité de l'eau (aw), l'humidité relative et le potentiel d'oxydoréduction (rH) (Lawrie et Ledward, 2006).

### II.2.3.1. Activité de l'eau

L'activité de l'eau mesure la disponibilité en eau du milieu dans lequel se trouve la microflore. D'une manière générale, plus l'*aw* du milieu est élevée, c'est-à-dire proche de 1, plus le développement de la microflore est intense. L'*aw* de la viande fraîche est de l'ordre de 0.993; elle est donc favorable à la multiplication de toutes les espèces microbiennes (**James et James, 2000**).

Une faible humidité relative provoque une forte évaporation qui ne sera plus compensée par le passage de l'eau des tissus profonds. L'activité de l'eau diminue et rend le milieu défavorable à la croissance des bactéries comme *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*. Inversement, une forte humidité relative limite l'évaporation de l'eau et facilite le développement des bactéries psychotrophes (**Feiner, 2006**).

### II.2.3.2 La température

Le facteur le plus important qui régit la croissance microbienne est la température. De façon générale, plus la température est grande, plus le taux de croissance est élevé. Beaucoup de micro-organismes de la viande se développent dans une certaine mesure à toutes les températures, de moins de 0 °C à 65 °C. Les Psychrophiles (psychrotrophes) ont une température optimale entre -2 °C et 7 °C, les mésophiles entre 10 °C et 40 °C et les thermophiles de 43 à 66 °C (**Lawire et al., 2006**). Les basses températures inhibent le développement des microorganismes. Les paliers suivants sont notés (**Rosset et al., 1984**).

### II.2.3.3. Le potentiel d'oxydoréduction

Après la mort, le muscle ayant des réserves en oxygène, présente un potentiel d'oxydoréduction (rH) profond, élevé et positif (+250 mV) ; ce qui est favorable à la multiplication des germes aérobies. Ensuite, les réserves en oxygène n'étant plus renouvelées par le sang, (**James et James, 2000**).

Les conditions réductrices ainsi créées dans la profondeur de la viande sont propices au développement des germes anaérobies de la putréfaction. (**SALIFOU, C.F.A et al, 2013**).

### II.2.3.4. Le PH

Après abattage, le pH du muscle passe d'un niveau proche de 7,0 dans le muscle vivant, à environ 5,5-5,7 (chez le bovin) dans le muscle de référence, le faux-filet (**Cartier, 2007**). Cette valeur ne varie plus lorsque la viande est normalement conservée. Les microorganismes sont extrêmement sensibles aux variations de pH. D'une façon générale, on observe que leur vitesse de développement se trouve réduit par tout abaissement de ce paramètre. Les bactéries sont les premières touchées puis viennent les levures et les moisissures (**James et James, 2000**).

### III. La contamination microbienne de la viande

En raison de ses qualités nutritionnelles, la viande constitue un terrain très favorable à la plupart des contaminations microbiennes. La qualité hygiénique des viandes dépend des conditions d'élevage, de transport des animaux avant l'abattage et de la contamination pendant les opérations d'abattage. L'abattoir constitue l'un des points critiques majeurs de l'hygiène des viandes et l'abattage est considéré comme l'étape où les plus grandes opportunités de contamination se posent, sachant que 80 à 90% de la microflore des viandes parvenant aux consommateurs résultent de contaminations survenant à l'abattoir (**Jouve, 1990**). Parmi les micro-organismes incriminés, il y a les bactéries qui peuvent toucher la santé du consommateur en causant des toxi-infections d'origine alimentaire et celles qui peuvent altérer les caractères organoleptiques des carcasses. Les principales bactéries pathogènes sont *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Yersinia enterocolitica* (**Fournaud et Jouve, 1990**).

#### III.1. Origine de la contamination de la viande

Les sources de contaminations microbiennes de la viande sont diverses et d'importance inégale, selon l'origine de la contamination, les microorganismes peuvent être endogènes ou exogènes (**GOUDIABY, 2005**).

##### III.1.1. Contaminations exogènes

Les contaminations exogènes ont lieu après l'abattage à travers des sources de contaminations diverses; les équipements utilisés pour chaque opération, la peau et les poils des animaux, le contenu du tube digestif, l'eau de lavage des carcasses, les installations physiques, l'air et surtout les vêtements et les mains du personnel (**TESFAY et al., 2014**). D'après **SUDHAKAR et al (2009)**, le plancher de la vente au détail ainsi que le véhicule utilisé pour le transport de la viande de l'abattoir à la vente au détail agissent comme des sources externes pour la contamination de la viande. Les bactéries saprophytes à l'origine de la contamination exogène de la viande, appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Micrococcaceae* (80% des cas), puis viennent les entérobactéries et Flavobactéries (61% des cas). Enfin sont cités en ordre décroissant de 40 à 10% ; *Bacillus*, *Microbactérium*, *Lactobacillus*, *Sarcina*, *Streptococcus*, *Aeromonas*, *Corynebactérium* (**FOURNAUD, 1982**). On peut également trouver des champignons appartenant au genre *Penicillium*, *Mucor* et *Sporotrichum Alternaria*.

##### III.1.2. Contamination endogène

Les microorganismes contaminants proviennent de l'animal à partir duquel la viande est produite, c'est-à-dire la viande est déjà contaminée avant que l'animal soit abattu. Les appareils

## Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

---

digestifs et respiratoires et le cuir des animaux sont des réservoirs à microorganisme. Ces éléments constituent les principales sources de contamination des carcasses (**CARTIER, 2004**). D'après **NDIAYE (2002)**, la contamination de la viande peut se faire par les microorganismes ci-après : *Mycobacterium tuberculosis* ; *Brucella abortus bovi* ; *Bacterium anthrax* ; *Tenia sangitana*.

### III.2.la flore bactérienne de la viande

Selon les travaux de **Salifou et al, 2013** montrent les microorganismes pathogènes isolés dans les viandes sont : *Bacillus cerus* (taux relativement faible sur les carcasses); *Campylobacter* spp. (Rencontré plus fréquemment dans la volaille et le porc), *Escherichia coli* et principalement *E. coli* O 157 : H7 (retrouvé dans la viande bovine), *Listeria monocytogenes* (taux plus élevé souvent dans les viandes hachées), *Clostridium botulinium*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Yersina enterocolitica*.

Pour la contamination superficielle des carcasses, les germes recherchés sont la flore aérobie mésophile, les entérobactéries et les salmonelles qui sont les trois indicateurs de l'hygiène du procédé d'abattage (**Commission Européenne, 2005**). De même que les coliformes totaux, les coliformes fécaux et par la suite *Escherichia coli*, qui renseignent sur les conditions de l'abattage (**Cartier, 1990**). Ainsi que, le dénombrement des staphylocoques qui est une flore indicatrice de contamination d'origine humaine. Selon **Ghafir et Daube, (2007)**, **Latifou et al 2017** affirmé que Les entérobactéries et les champignons et les contenus stomacaux sont également remarqués selon laquelle les surfaces endogènes et exogènes sont une source de contamination des carcasses.

#### III.2.1.les germes saprophytes

Les germes saprophytes constituent l'essentiel de la microflore de contamination des viandes et des produits à base de viande. Parmi les bactéries saprophytes isolées des viandes, citer par ordre d'importance d'abord *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Micrococcus*; il y a ensuite, les Entérobactéries et *Flavobacterium* et enfin, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Lactobacillus*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Streptococcus*, *Aeromonas*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter* et *Clostridium* (**Fournaud J., 1982**).

#### III.2.2. La flore aérobie mésophile

La flore aérobie mésophile regroupe des microorganismes formant des colonies dénombrables après leur multiplication dans des conditions de laboratoire définies (**BONNEFOY et al., 2002**). Il s'agit des germes aérobies pouvant se multiplier dans des conditions ambiantes à 30 °C et ne constituant pas une famille bactérienne particulière. Parmi les bactéries saprophytes isolées des viandes, nous pouvons citer par ordre d'importance les

## Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

---

Pseudomonas, Acinetobacter et Micrococcus ; il y a ensuite les Entérobactéries et Flavobacterium et enfin, Bacillus, Mycobacterium, Lactobacillus, Alcaligenes, Serratia, Streptococcus, Aeromonas, Corynebacterium, Arthrobacter, Clostridium et *E. Coli*.

### III.2.3. Levures et moisissures

A côté des bactéries on décèle aussi sur les viandes des levures et des moisissures saprophytes. Parmi les levures on trouve les genres Saccharomyces, Hansenula, Candida, Torulopsis, Rhodotorula, Debaryomyces. Quant aux moisissures on identifie trois genres, Penicillium, Cladosporium et Rhyzopus ; à ceux-là, on peut ajouter les genres Mucor, Thamnidium, Geotrichum, Monilia, Aspergillus, Sporotrichum et Alternaria. Cependant, selon (DOYLE,2007) la croissance des levures et des moisissures est essentiellement lente sur la viande fraîche par rapport aux bactéries, Par conséquent, elles ne sont pas composante majeure de la flore d'altération.

### III.2.4. Les germes pathogènes

Les germes pathogènes qui contaminent les viandes et les viandes hachées, et responsables de toxi-infections alimentaires sont en général, *Salmonella ssp*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonashy drophila*, *Shigella* et récemment *E.coli* entero hémorragique ou *E. Coli* O157(DENNAI et al., 2000).

#### III.2.4.1. *Clostridium botulinum*

Les *Clostridium botulinum* sont responsables de sévères intoxications alimentaires chez l'Homme et les animaux (botulisme) par ingestion de toxine préformée dans un aliment (intoxication) ou par colonisation intestinale et production de toxine in situ (toxi-infection). Ce sont des bacilles à Gram positif, anaérobies stricts et sporulés. Les souches de *C. botulinum* sont très hétérogènes d'après leurs caractères cultureux, biochimiques et génétiques et sont divisées en quatre groupes (anses,2019)

#### III.2.4.2. Salmonelle

Les bactéries du genre Salmonella appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Genre regroupant de petits bacilles, Gram négatif habituellement mobiles par des cils péritriches mais des mutants immobiles peuvent exister et *S. gallinarum* est toujours immobile. Mésophiles, capables de se développer à des températures comprises entre 5,2 °C et 47 °C et de manière optimale entre 35 et 37 °C. Il s'agit de sérotypes ubiquistes qui peuvent être hébergés dans le tube digestif de l'homme, des animaux domestiques et sauvages, des animaux de compagnie et plus particulièrement des volailles pour *S. enteritidis*. En ce qui concerne la viande bovine, *S. dublin* est également souvent incriminée. (SALIFOU, C.F.A, 2013).

### III.2.4.3. *Escherichia coli*

Les *Escherichia coli* font partie de la famille des Enterobacteriaceae. Il s'agit de courts bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches, Gram Négatifs, anaérobies facultatifs, non sporulés. Ils sont capables de fermenter Plusieurs sucres, mais leur fermentation du lactose avec production de gaz est caractéristique. La multiplication à 44°C, la production d'indole et la présence d'une activité  $\beta$ glucuronidase sont également caractéristiques. Les *E. coli* sont sérotypées en se basant sur leurs 173 antigènes somatiques (O), 56 antigènes flagellaires (H) et 80 antigènes capsulaires (Feng P., 2001).

### III.2.4.4. *Staphylococcus aureus*

Est un germe de la famille des Micrococcaceae. Il s'agit de cocci à coloration de Gram positive, mesurant 0,5 à 1  $\mu$ m de diamètre souvent disposé en grappe, non sporulé, coagulase positive. Cette espèce fait partie des bactéries aéroanaérobies facultatives, mais préférant le métabolisme aérobie. C'est un germe mésophile capable de se multiplier entre 4 °C et 46 °C, de manière optimale à 37 °C, pour un pH allant de 5 à 9, avec un optimum de 7,2 à 7,6 et une aw de 0,86. Ce germe est halophile et xérophile, car il se développe même en présence de sel et du sucre et survit dans les aliments déshydratés, sa croissance est possible jusqu'à une concentration de 18 % en sel en aérobiose (BAILLY et al., 2012).

### III.2.5. *Campylobacter*

Le genre *Campylobacter* est constitué de fins bacilles Gram négatifs incurvés en spirale, non sporulés d'une taille de 0,2 à 0,9  $\mu$ m de diamètre et de 0,5 à 5  $\mu$ m de long (ASPC, 2012), Toutes les espèces de *Campylobacter* se multiplient à 37 °C, mais les *Campylobacter* thermophiles (*C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*) ont une meilleure croissance à 42 °C et ne se multiplient pas à une température inférieure à 25 °C. (Hu et Kopecko, 2003).

*Campylobacter* est fréquemment présent dans le tractus intestinal des volailles, porcs et bovins, mais en raison des techniques d'abattage de cette espèce, la viande de volaille est la principale source de contamination de l'homme (Jorgensen et al., 2002).

### III.2.6. *Yersinia enterocolitica*

Le genre *Yersinia* comprend 11 espèces appartenant aux Enterobacteriaceae. Il s'agit de bacilles Gram négatifs, non sporulés, anaérobies facultatifs qui fermentent le glucose. Plus petites que la plupart des autres entérobactéries, Elles apparaissent souvent comme des coccobacilles lorsqu'elles se multiplient à 37°C. Ce genre comprend 4 espèces pathogènes bien caractérisées : *Yersinia pestis* responsable des pestes bubonique et pulmonaire, *Y. pseudotuberculosis* pathogène des rongeurs et occasionnellement de l'homme, *Y. ruckeri* provoquant des maladies chez les poissons d'eau douce, et *Y. enterocolitica*, un pathogène intestinal.

## Chapitre 01 Les problèmes rencontrés lors de la préservation de la viande

*Y.pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica* sont les 2 agents pathogènes d'origine alimentaire. *Y. enterocolitica* est psychrotrophe, c'est-à-dire capable de se multiplier à des températures inférieures à 4 °C. Sa température optimale de multiplication est cependant de 28-30 (Krauss et al, Robin-Browner.M. et al 2003).

### III.2.7. Les psychotropes

C'est une bactérie Psychrotrophe qui possède la capacité de développement au froid. (L.M.Baryshnikova,et al ). Leur croissance est possible entre 4 °C (voire moins) et 43 °C (Euzéby JP. 2007). Elle se développe dans les aliments, à activité de l'eau (AW) élevée. (L.M.Baryshnikova,et al ). Le genre *Pseudomonas* est constitué de bacilles Gram négatifs, droits ou légèrement incurvés, ayant une taille de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm de longueur, aérobies stricts, oxydase positifs, non sporulés et généralement mobiles par un ou des flagelles polaires. (Euzéby JP. 2007). Les *Pseudomonas* sont ubiquistes et peuvent vivre dans des niches écologiques très diverses. Peu virulentes, plusieurs souches sont des pathogènes opportunistes pour l'homme et des agents d'altération des viandes, poissons et produits laitiers.

Leur présence au niveau des chaînes d'abattage et en particulier dans les chambres froides constitue une source permanente de contamination des viandes. *Pseudomonas* est principalement utilisé comme indicateur d'altération des viandes fraîches et du lait. (Baillly JDet al,2012).

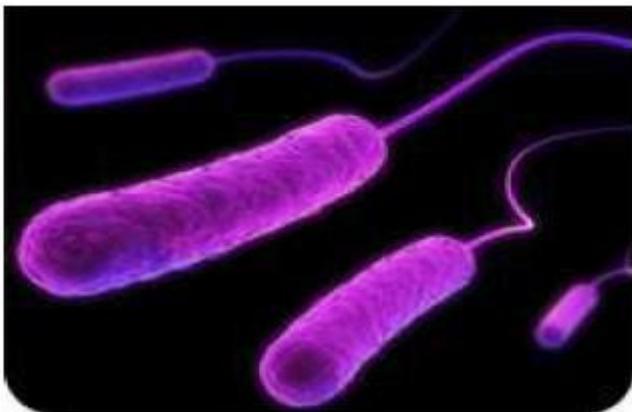


Figure 4: *E. coli* (Canadien en Santé, 2012).

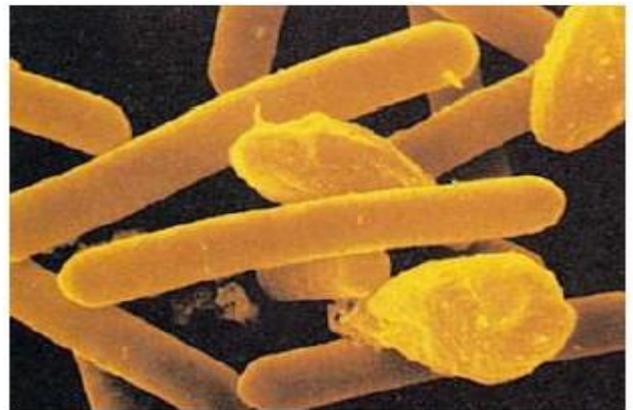


Figure 5: *Clostridium botulinum* (Burme, 2012).



Figure 6: *Salmonella* (Mousset, 2011).

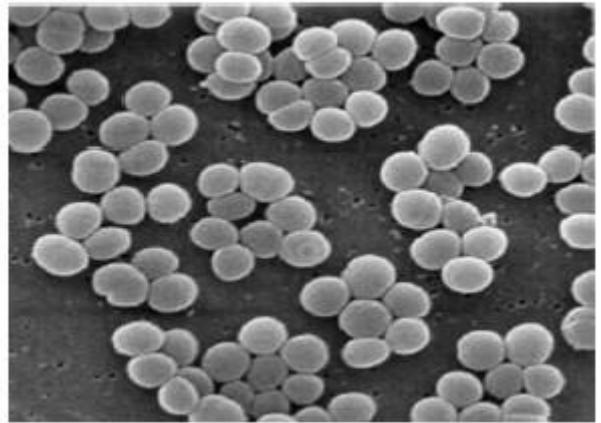


Figure 7: *Staphylococcus aureus*  
(Matthew et Carr, 2012).



Figure 9: *Campylobacter* (Chuck, 2013).

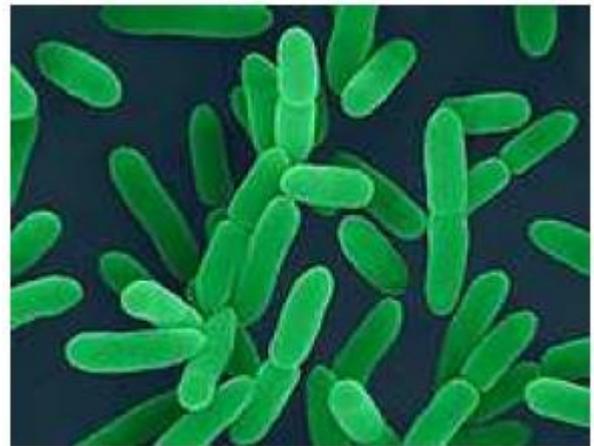


Figure 8: *Yersinia Enterocolitica* (Kunkel, 2004).

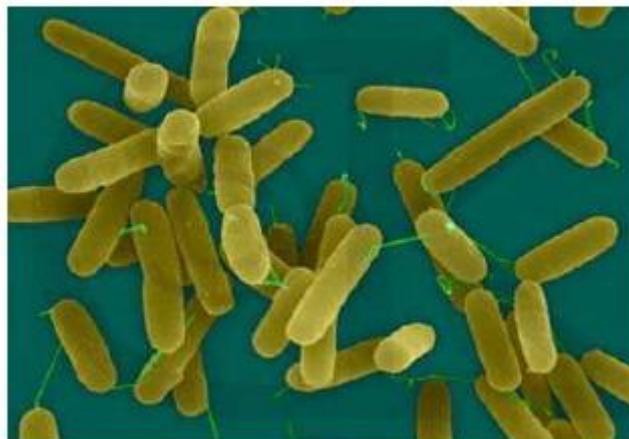
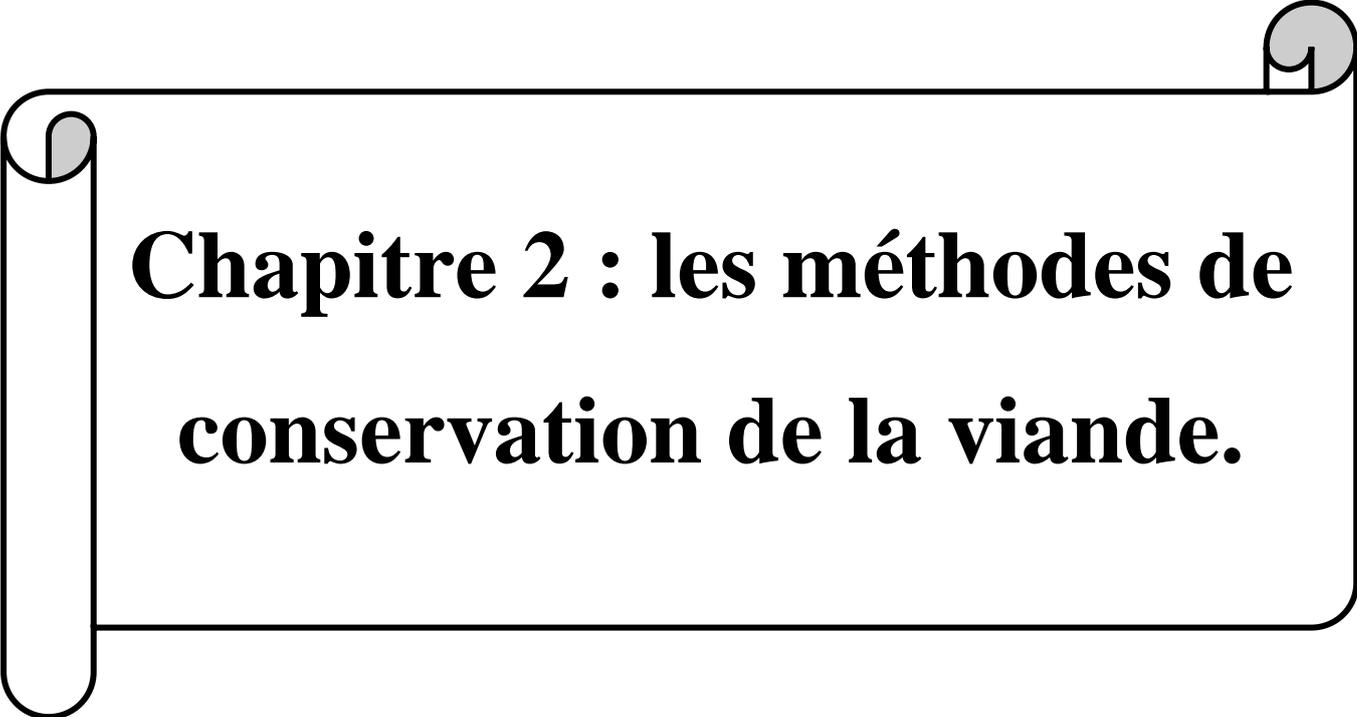


Figure 10: *Pseudomonas aeruginosa* (Winsor et al., 2011)..



**Chapitre 2 : les méthodes de  
conservation de la viande.**

**I. La conservation de la viande**

La conservation consiste à maintenir le plus longtemps possible, le plus haut degré de « qualité » de la denrée, en agissant sur les divers mécanismes d'altération pour en ralentir ou en supprimer les effets. (Auras et al, 2006)

La conservation de la viande consiste à maintenir sa qualité microbiologique et garder ses propriétés organoleptiques et nutritionnelles, en ralentissant la vitesse de prolifération des microorganismes et en éliminant les mécanismes d'altération intrinsèques et extrinsèques (Multon, 1984 ; Durand et al., 2006).

Les principales technologies utilisées pour préserver la qualité et la salubrité microbiologique des aliments comprennent :

1. Les procédures qui empêchent l'accès des micro-organismes aux aliments en premier lieu;
2. Les procédures qui les inactivent s'ils y ont néanmoins accès;
3. Les procédures qui empêchent ou ralentissent leur croissance s'ils y ont accès et ne sont pas désactivés.

Alors que les procédures traditionnelles de préservation actuellement utilisées continuent d'agir. L'une de ces trois manières, on a récemment constaté un regain d'intérêt pour la modification de ces technologies, principalement dans le sens de réduire la sévérité des techniques les plus extrêmes. Ces modifications sont recherchées principalement pour améliorer la qualité des produits alimentaires, et principalement pour répondre aux besoins des consommateurs en évitant l'utilisation extrême d'une technique unique. En plus des techniques modifiées, mais avec le même objectif d'améliorer la qualité des aliments, des techniques radicalement nouvelles sont également recherchées et appliquées. Tant pour les techniques modifiées que pour les nouvelles techniques, il est impératif qu'elles apportent non seulement les améliorations de qualité promises, mais aussi un niveau de sécurité équivalent, ou de préférence amélioré, par rapport aux procédures qu'elles remplacent (G.W. GOULD, 1997).

**I.1. Méthodes de conservation de la viande****I.1.1. Conservation par froid**

Le froid n'est pas un moyen de stérilisation ou de désinfection, mais simplement un agent inhibiteur des processus biologiques, notamment du développement des microorganismes et de l'activité des enzymes car ces deux processus sont proportionnels à la température (Craplet, 1966).

Les basses températures préservent la matière alimentaire en retardant la croissance microbienne et les réactions enzymatiques et chimiques qui détériorent la viande et la détériorent (**Bhavana Gupta**).

En abaissant la température de conservation d'un aliment, on ralentit la croissance des microorganismes (**Vierling, 2008**).

### **I.1.2. Conservation par chaleur**

Le traitement des aliments par la chaleur (ou traitement thermique) est aujourd'hui la plus importante technique de conservation de longue durée. Il a pour objectif de détruire ou d'inhiber totalement ou partiellement les enzymes et les microorganismes.

L'effet d'un traitement thermique est lié au couple temps/température. De manière générale, plus la température est élevée et plus la durée est longue, plus l'effet sera important. Cependant, il faut aussi tenir compte de la résistance thermique des micro-organismes et des enzymes et qui est très variable. (**Al ATYQ, 2018**).

### **I.1.3. Conservation par acidification lactique**

Le pH est un paramètre très important dans la conservation de la viande, car à des valeurs données, certaines bactéries peuvent voir leur croissance très ralentie voir même inhibée (**Cuq, 2007**).

### **I.1.4. Conservation par l'utilisation de la bactérie (biopreservation)**

Exemple : par l'utilisation des bactéries lactiques. Selon **Stiles (1996)**, la biopréservation est le terme utilisé pour décrire la « durée de conservation prolongée et l'innocuité accrue des aliments utilisant la microflore naturelle et/ou de leurs produits antibactériens » et plusieurs bactéries lactiques conviennent à cet effet. Les bactéries lactiques sont principalement utilisées en tant que ferments et produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes telles que les acides organiques et les bactériocines. Ces dernières ont plusieurs propriétés qui les rendent idéales pour une utilisation dans la conservation des aliments (**Budde et al., 2003 ; Lücke, 2000 ; Ammor et al., 2006**).

## **II. Méthodes traditionnel**

Les techniques traditionnelles de transformation des produits de viande dans les tropiques sont souvent basées sur des opérations séparées ou combinées de salage, séchage et de fumage qui ont pour objectif commun la diminution de la teneur en eau. Grâce à ces procédés de transformation et/ou de conservation de la viande, plusieurs produits sont obtenus de par le monde. Ces produits sont faciles à préparer et consommés dans de nombreuses régions du monde, et sont sans danger et conservables sans réfrigération (**Leistner, 1985 ; Dzimba et al., 2007**).

### II.1. Séchage

Le séchage est une opération unitaire qui a pour but d'éliminer par évaporation l'eau de constitution d'un produit afin d'allonger sa durée de vie, d'éviter la prolifération des microorganismes, de stopper les réactions enzymatiques et donc de conserver les denrées alimentaires. Par ailleurs, le séchage a aussi pour effet la réduction de poids, l'augmentation de la teneur en protéines ainsi que l'obtention de plus petits volumes (**Kleih, 1995 ; Kalilou, 1997 ; Yacouba, 2010**). Cependant, les produits déshydratés ne sont pas stériles, et toute réhydratation accidentelle sera néfaste, voire dangereuse.

Le séchage est un procédé très ancien de conservation des produits agricoles et alimentaires. Il permet de convertir des denrées périssables en produits stabilisés, par abaissement de l'activité d'eau (aw) jusqu'à une valeur inférieure à 0,5. La plupart du temps, ces produits sont stockés à température ambiante, avant d'être réhydratés pour une utilisation dans un procédé industriel ou dans une préparation culinaire. (**Thu Ha Nguyen, 2015**).



**Figure 11:** Viande séchée conservée sur un balcon d'appartement dans un quartier nord d'Oulan-Bator (photo **Bianquis I, 2008**).

### II.2. Fumage

Le fumage ou fumaison consiste à exposer un aliment à l'action de composés gazeux qui se dégagent lors de la combustion de certains végétaux (hors résineux). La fumée est produite soit d'une façon traditionnelle, qui proviennent généralement des copeaux de bois, ou

de sciure de bois directement en-dessous de la viande suspendue ou dans un générateur de fumée (**Fidel Toldrà et al 2010**).

La deuxième méthode est appliquée par injection d'air contenant des arômes de fumées obtenue par condensation de la fumée produite par pyrolyse de bois (**Pole, 2010**)

On distingue différents types de fumage :

Le fumage à chaud ; les températures élevées (> 30°C) conduisent à des produits fumés et cuits.

Le fumage traditionnel à froid (<30) le viande après fumage à une température inférieure à 30°C, reste cru.

Il existe une autre méthode de fumage à chaud est le boucanage, est une méthode traditionnelle de fumage à chaud encore pratiquée en Amérique du Sud, en Afrique et dans les Antilles françaises pour conserver viandes et poissons. Le procédé consiste à placer la viande ou le poisson à conserver au-dessus d'un feu étouffé et de le laisser dans la fumée plusieurs heures. La fumée est souvent générée à partir de bagasse (résidu fibreux) de canne à sucre (**Pole Aquimer, 2010**).



**Figure 12:** Fumage de viande au Njeguši, au Monténégro (photo **Ralf Smallkaa**).

### II.3. Salaison

Visé à soumettre la denrée alimentaire à l'action du sel soit en le répandant directement à la surface de l'aliment (salage à sec), soit en immergeant le produit dans une solution d'eau salée (saumurage). Cette technique est essentiellement utilisée en fromagerie, en charcuterie et pour la conservation de certaines espèces de poissons (harengs, saumon, etc.) ou denrées alimentaires végétales (condiments) (**DGCCRF,2021**).



**Figure 13:** le salage de viande ([meat-me.fr](http://meat-me.fr)).

### III. Méthodes modernes

#### III.1. Réfrigération

Cette technique consiste à abaisser la température pour prolonger la durée de conservation des aliments. À l'état réfrigéré, les cellules des tissus animaux et végétaux restent en vie pendant un temps plus ou moins long, et les métabolismes cellulaires sont seulement ralentis. La température des aliments réfrigérés est comprise entre 0° C et +4° C pour les denrées périssables les plus sensibles (DGCCRF, 2021).

#### III.2. Refroidissement

La reconnaissance par les premières civilisations des effets conservateurs du stockage à basse température de produits périssables tels que la viande a conduit au stockage de ces produits dans des grottes naturelles où les températures étaient relativement basses tout au long de l'année. Les principes de la formation de glace artificielle et de la réfrigération mécanique datent d'environ 1750 (voir Lawrie et Ledward, 2006) et les opérations à l'échelle commerciale basées sur la réfrigération mécanique étaient utilisées 100 ans plus tard

Le refroidissement est essentiel pour l'hygiène, la sécurité, la durée de conservation, l'apparence et la qualité gustative de la viande. Le refroidissement à l'air réduit la température de surface de la carcasse et améliore le séchage des carcasses; qui réduisent tous deux la croissance des bactéries (Ockerman & Basu, 2004). Une augmentation de la vitesse de l'air et/ou une diminution de la température (toutes deux contrôlables) diminuent le temps de refroidissement. Un facteur limitant, cependant, est la difficulté d'évacuer rapidement la chaleur des tissus plus profonds des carcasses.

### III.3. Congélation

Elle consiste à entreposer les aliments à des températures inférieures au point de Congélation, généralement  $-18^{\circ}\text{C}$ . Elle est utilisée pour la conservation des aliments à long terme (4 à 24 mois). Pendant la congélation, l'activité métabolique de la plupart des germes pathogènes et d'altération est inhibée. Cependant, les réactions d'altération chimique ne sont pas arrêtées complètement. Les plus importantes de ces réactions sont : l'oxydation enzymatique des lipides, l'hydrolyse des glucides et la lipolyse (**Romain, 2006**).

La baisse de la température influence trois éléments :

L'eau transformée en glace n'est plus mobile et donc n'est plus disponible ni comme solvant ni comme réactif (**JEANTET et al.2006**).

La congélation provoque la dénaturation de certaines enzymes bactériennes d'où sa température qui varie avec la nature des micro-organismes. D'après **FREDOT (2005)** la congélation à  $-18^{\circ}\text{C}$  provoque un blocage de la multiplication des mésophiles, une destruction des parasites et un arrêt de l'activité des enzymes.

La qualité du produit final dépend de celle du produit avant congélation, de la vitesse de refroidissement et de la congélation et du maintien du froid négatif au cours de son stockage (**JEANTET et al, 2006**).

### III.4. La surgélation

La surgélation est une congélation industrielle ultra-rapide qui fait descendre la température à  $-18^{\circ}\text{C}$  au cœur même de la viande, créant de petits cristaux de glace arrondis, ce qui évite l'exsudation lors de la décongélation.

La viande doit être maintenue au minimum à  $-18^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment de la vente, ce qui impose l'utilisation de la chaîne du froid. En 1992 et en France, plus de 700 produits de viande différents étaient commercialisés sous cette forme (**Henri Dupin,1992**)

### III.5. Additions de la substance chimique

Ces additifs chimiques possèdent des fonctions antimicrobiennes. Certains additifs maintiennent la coloration rouge de la viande. Exemple : Nitrites, nitrates, orthophosphates de sodium, lactate de potassium, diacétate de sodium, érythorbate de sodium, lutéine, sesamole, acide ellagique (**Reichl et al., 2004 ; Hayes, et al., 2009**).

### III.6. La fermentation

La fermentation est une méthode simple et peu coûteuse de conservation des aliments qui peut être pratiquée à température ambiante. La fermentation est un processus au cours duquel des modifications chimiques d'un substrat organique sont provoquées par l'action d'enzymes libérées par des micro-organismes. Au cours de la fermentation, les micro-

organismes libèrent de l'acide lactique, des acides volatils (comme l'acide acétique), des antibiotiques et des bactériocines qui inhibent la croissance des micro-organismes indésirables et apportent des conservateurs.

Processus de fermentation dans la viande et les produits à base de viande. Des changements physiques, microbiologiques et biochimiques ont lieu pendant le processus de fermentation. Ceux-ci sont- (1) production d'acide lactique entraînant une baisse du pH

Cette étape de fermentation en elle-même a aussi un rôle de stabilisation (préservation) grâce à plusieurs facteurs :

- Une acidification résultant de la production d'acide lactique par les microorganismes
- Un effet barrière des ferments présents dans la viande qui empêchent d'autres microorganismes, éventuellement pathogènes de se développer

- Une diminution de l'activité de l'eau ( $A_w$ ) : qui devient limitante en dessous de 0,95 pour certains germes

- Une diminution du potentiel d'oxydoréduction par la consommation d'oxygène par les microorganismes, qui pénalise les microorganismes aérobies (**Julie Quaranta,2007**)

Il y a 3 méthodes de fermentation :

La fermentation alcoolique (vin), la fermentation lactique, la fermentation acétique (vinaigre) (**DGCCRF ,2021**)

### **III.7. La pasteurisation**

La pasteurisation est un traitement thermique modéré permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération. La température du traitement est généralement inférieure à 100°C et la durée, de quelques secondes à quelques minutes. Ce traitement thermique doit être suivi d'un brusque refroidissement afin de ralentir le développement des germes encore présents. Les aliments pasteurisés sont ainsi habituellement conservés au froid (**Pascal Chillet**).

### **IV. Nouvelles technologies de la conservation de la viande**

Les nouvelles technologies de conservation les plus étudiées pour la viande fraîche sont les technologies d'inactivation non thermique telles que la haute pression hydrostatique (HHP), les nouveaux systèmes d'emballage tels que l'emballage sous atmosphère modifiée (MAP) et l'emballage actif (AP), les composés antimicrobiens naturels et la bioconservation. Toutes ces technologies alternatives se veulent douces, économes en énergie, respectueuses de l'environnement et garantissent un aspect naturel tout en éliminant les pathogènes et les micro-organismes d'altération (**G.H. Zhou, 2010**).

**IV.1. Irradiation**

L'irradiation repose sur l'exposition des denrées alimentaires à l'action de rayonnements ionisants électromagnétiques qui a pour but d'augmenter la durée de conservation des aliments en éliminant les micro-organismes.

Les sources de rayonnements ionisants font l'objet d'une liste exhaustive fixée par la réglementation. La liste des denrées alimentaires pouvant être traitées est limitée et concerne celles qui sont fréquemment contaminées et/ou infestées par des organismes et leurs métabolites, qui sont de nature à nuire à la santé publique (insectes, micro-organismes pathogènes, etc.) (DGCCRF,2021)

L'irradiation est une technique certainement aussi bien connue que le traitement thermique. Aucune augmentation de température n'est observée, ce qui classe ce traitement en procédé athermique (Farkas, 2007).

Les techniques d'irradiation ont l'avantage de pouvoir traiter le produit en surface et en volume. (Satin, 2002).

En complément des méthodes de conservation mentionnées auparavant, d'autres technologies de conservation telles que la **microfiltration**, le **chauffage ohmique**, procédé au cours duquel le produit est chauffé directement par un courant alternatif basse tension, les ultrasons, les hautes pressions, les champs magnétiques pulsés ou la **lumière pulsée** se développent.

Ces solutions qui permettent de traiter les produits d'une manière plus douce, parfois plus efficacement, en préservant leur propriétés gustatives et nutritives sont peu appliquées pour des raisons industrielles, réglementaires ainsi qu'économiques. (DGCCRF,2021)

**IV.2. Technologie de haute pression**

Le procédé des hautes pressions consiste à soumettre un produit alimentaire liquide ou solide, avec ou sans emballage, à des pressions comprises entre 100 et 800 MPa (Frank Devlieghere et al., 2004)

Le procédé hautes pressions, également appelé « pascalisation » ou « pasteurisation à froid », est une technologie non thermique et éco-efficace. Bien que les hautes pressions aient d'abord été appliquées en laboratoire par Hite en 1899 pour détruire les micro-organismes dans le lait afin d'améliorer sa durée de conservation, la technologie est considérée comme un processus émergent depuis que les premiers systèmes à échelle industrielle sont disponibles au Japon en 1990 (Farkas, 2016). Le procédé des hautes pressions est en pleine expansion.

**IV.3. Technologie des emballages**

L'emballage protège les produits contre les effets de détérioration, qui peut inclure une décoloration un développement de saveur et d'odeur désagréables perte de nutriments, changements de texture, pathogénicité et autres éléments mesurables facteurs. Variables qui influencent les propriétés de durée de conservation des produits frais emballé la viande sont le type de produit, le mélange gazeux, l'emballage et l'espace de tête équipement d'emballage, température de stockage et additifs Les emballages de viande fraîche ne sont que très peu perméables à l'humidité et ainsi la dessiccation de surface est empêchée, tandis que la perméabilité au gaz varie avec le type de film particulier utilisé. Options d'emballage pour le cru réfrigéré la viande sont des emballages perméables à l'air, un vide à faible O<sub>2</sub>, une faible O<sub>2</sub> MAP avec gaz anoxiques et haute O<sub>2</sub> MAP. (Mc Millin et al, 1999)

**IV.3.1. Emballage antimicrobien**

Le but de l'incorporation des substances antimicrobiennes dans un emballage est d'empêcher la croissance microbienne en surface des aliments. Par exemple, la viande des animaux sains est pratiquement stérile et la détérioration se produit principalement en surface à la suite de la manipulation du produit. La libération progressive d'un agent antimicrobien à travers un film d'emballage vers la surface d'un aliment peut avoir un avantage par rapport aux techniques de trempage et de pulvérisation. (Coma, 2008).

**IV.3.2. Emballage sous vide**

Emballage sous atmosphère modifiée (MAP) ou protectrice L'emballage sous atmosphère modifiée ou sous vide (MAP) permet d'évacuer l'air de l'emballage pour favoriser la conservation des aliments. Cependant, la viande a tendance à grisailler en l'absence d'oxygène. Pour remédier à ce problème, nous injectons un mélange en proportions différentes de gaz inertes en fonction de l'aliment à conserver. Les gaz utilisés sont l'azote, le dioxyde de carbone et l'oxygène. Chacun de ces gaz joue un rôle particulier en rendant l'emballage plus efficace. Les bénéfices de l'emballage sous atmosphère modifiée (MAP) :

1. Réduire le rythme de respiration des aliments;
2. Réduire la sensibilité à l'éthylène;
3. Rallonger la vie du produit en entrepôt. (Hanitriniaina Mamitiana ANDRIANINA,

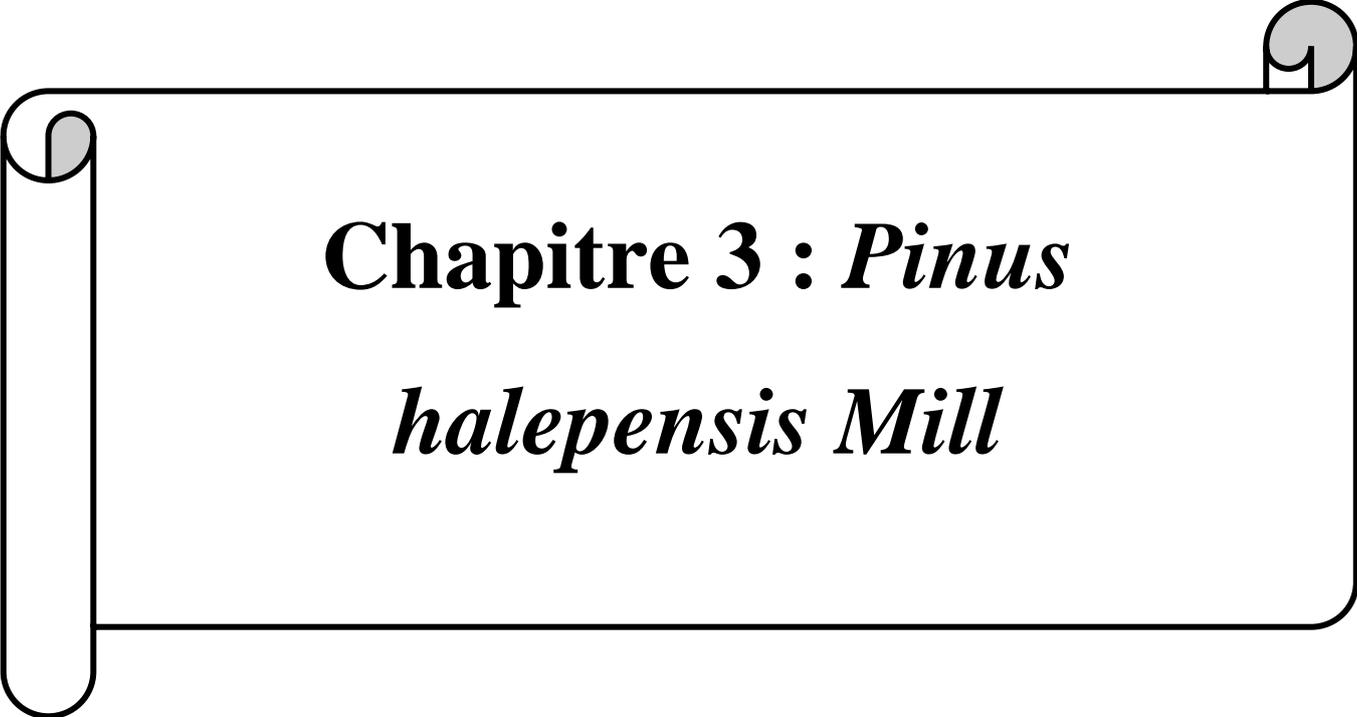
2016).



**Figure 14:** Emballage antimicrobien  
(Axel Malgoire,2020).



**Figure 15:** Emballage sous vide  
(Hanitriniaina,2016).



**Chapitre 3 : *Pinus***  
***halepensis Mill***

## I. Généralités

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropical estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémique. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algérienne dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel (**Benkiki, 2006**).

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède de propriétés médicamenteuse (**Farnsworth et al, 1986**). Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie ainsi que dans confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique ou encore sous forme de principes actifs comme matière pour l'obtention de médicaments (**Babulka, 2007**).

## II. La plante étudiée

Le pin est la désignation générique des arbres appartenant au genre Pinus. L'origine de nom Pinus provient de mot « pit », c'est un mot Indo –Européen désignant une résine. Le pin est une gymnosperme de la famille des pinacées. Cette famille est la plus important des conifères, dont plus de centaine d'espèces ont été décrites par plusieurs auteurs (**Judd et al., 2002**).

Le *Pinus halepensis* fut décrit pour la première fois par Duiiamel en 1755 sous le nom de Pinos hiero, soliviitana, puis Philip Miller la redécrit plus tard en 1768 sous le nom de *Pinus halepensis* (**Nahal,1962**).

Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) est un des arbres les plus communs dans la partie ouest du bassin méditerranéen, où il occupe environ 3,5 millions d'hectares (**Le Houerou, 2005** in **M. Vennetier et al 2010**).

### II.1. Systématique de l'espèce

Selon Nahal (1962) ; in **Athmani et Masmoudi, (2008)** ; le Pin d'Alep "*Pinus halepensis* Mill." est l'essence caractéristique de l'étage bioclimatique méditerranéen semi-aride, il appartient à :

- Embranchement : Phanérogames.
- Sous embranchement : Gymnospermes.
- Classe : Conifères.

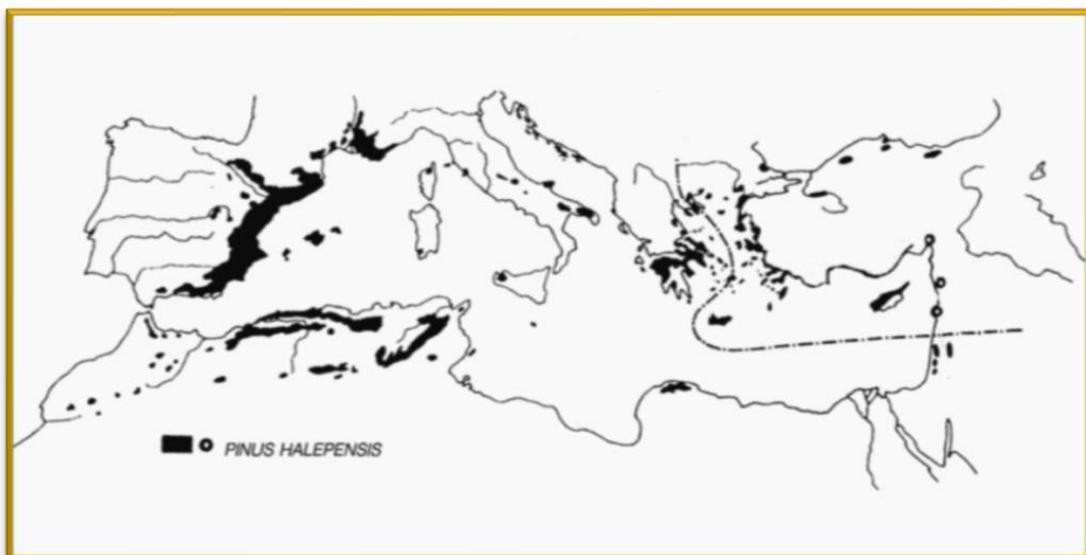
- Ordre : Coniféroles pinoidines
- Sous ordre : Abiétales
- Famille : Pinacées.
- Genre : Pinus.
- Sous genre : Eupinus.
- Espèce : Pinus halepensis.
- Nom scientifique : Pinus halepensis.
- Nom commun: pin d'Alep
- Nom arabe: Sanaoubar al-halabi

## II.2. Biogéographie et Répartition

### II.2.1. Dans le monde

C'est une espèce largement répandue sur le pourtour méditerranéen, où son aire de répartition a été précisée par de nombreux auteurs et en particulier par Nahal (1962). C'est une essence fréquente surtout en région méditerranéenne occidentale, mais qui se rencontre également en divers points du bassin méditerranéen oriental. Ses forêts occupent sans doute au total plus de 3,5 millions d'hectares. (Quezel pierre et al, 1992).

Le pin d'Alep s'étend de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye) et du Moyen Orient (Syrie, Liban, Jordanie, Palestine et Turquie), jusqu'à l'Europe méridionale méditerranée (Grèce orientale, Croatie, Italie du Nord, Est de la France et Espagne orientale) (Djerrad et al., 2015).

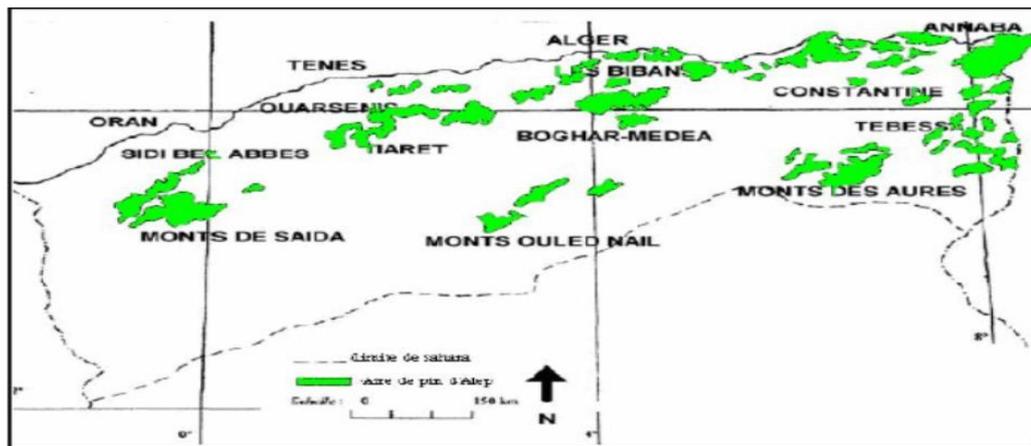


**Figure 16:** Aire de répartition du pin d'Alep dans la région méditerranéenne (Quezel, 1986 in Bentouati,2006).

### II.2.2. En Algérie

Le pin d'Alep est fréquent dans la surface forestière de l'Algérie, avec 35% de couverture (**Letreuch,1991**).

Le pin d'Alep présente de vastes peuplements en oranais (Sidi-belabbès, Saïda, Tlemcen, Tiaret) dans l'Algérois (Médéa, Boughar, Monts des Bibans), sur l'Atlas saharien (Monts des Ouled Nail) et dans le sud Constantinois (Aurès, région de Tébessa) (**Boudy,1955 in Laleg ,2017**).



**Figure 17:** Répartition du pin d'Alep en Algérie (**Bentouati, 2006**).

### II.3. Description botanique de la plante

Le Pin d'Alep (**Figure 18**) est un arbre toujours vert, de hauteur totale allant de 25 à 27m, sa longévité ne dépasse pas 150 ans. Au tronc tortueux, irrégulier et branchu. (**Seigue, 1985**).



**Figure 18:** Le pin d'Alep dans la forêt de Draa El Aoud à Mecheria (**TALBI, 2019**).

### II.3.1. L'écorce

Riche en tannin, est d'abord lisse de couleur argentée, (**Figure 19**) puis devient crevassée avec des écailles de couleur gris-brunâtre (**KADIK, 1987**).



**Figure 19:** L'écorce du Pinus halepensis (**TALBI, 2019**).

### II.3.2. Les aiguilles

Sont fasciculées par 2 dans le brachyblaste (rarement 3 à 5), filiformes, molles, vert jaunâtre, de moins de 1 mm d'épaisseur, 6 à 10 cm de long **Figure 20** (**Bernard Prévosto,2013**).



**Figure 20:** Aiguilles de pin d'Alep (**Bernard Prévosto,2013**).

### II.3.3. Les bourgeons

Non résineux, sont cylindriques, allongés, à écailles brunes libres frangées de blanc **Figure 21** (**Bernard Prévosto,2013**).



**Figure 21:** Bourgeons végétatifs. (**Bernard Prévosto,2013**).

### II.3.4. La production de cônes et de graines

En avril mai (année  $n$ ), commence dès 10-12 ans, mais n'est réellement abondante qu'après 20 ans et au-delà. Les cônes sont unisexués mais l'espèce est monoïque (cône et séparés sur le même pied).

### II.3.5. Cônes

Oblongs roussâtres, de 6 à 7 mm, très nombreux et ramassés autour des bourgeons à l'extrémité des rameaux, (**Figure 22**) à maturité, les sacs polliniques libèrent un pollen très abondant emporté par le vent (anémogamie). (**Bernard Prévosto,2013**).



**Figure 22:** Sacs polliniques, cônes males matures enserrant un bourgeon végétatif.

### II.3.6. Les Rameaux

Sont verts clair, puis gris clair, assez fins. Il est polycyclique car cet arbre fait souvent une seconde pousse la même année. Les bourgeons sont non résineux, ovoïdes, aigus, bruns avec des écailles libres frangées de blanc (**KADIK, 1987**)

## III. Composition chimique de Pin d'Alep (*Pinus halepensis*)

L'analyse moyenne des graines a montré la composition suivante (en pourcentage du poids sec): protéines 22.7%; huile 43.3%; cendres 8.3%et les hydrates de carbone totaux 25.7%. Le potassium, magnésium et calcium étaient les minéraux dominants présents dans les graines et atteignent ensemble les 1%. Les acides oléique et linoléique étaient les acides gras insaturés principaux (27.3% et 48.8% ; respectivement). Alors que le principal acide gras saturé était l'acide palmitique (8.75%). (**Cheikh Rouhou, S et al 2006**).

### III.1. L'Huile essentielle

L'hydrodistillation (GC/SM) des épines de *P. halepensis* a donné 0,3 % d'huile essentielle. Le profil chromatographiquea montré que l'huile est principalement constituée d'hydrocarbures sesquiterpéniques. Plus de 22 composés ont été identifiés, représentant 92,38% de l'huile totale. Le principal constituant de notre HE est l'oxyde de caryophyllène (48,15%), suivi du thumbergol, de l'oxyde d'humulène, le valérate de phénéthyle et le caryophyllène. De

plus petites quantités de terpine-4-ol, p-cymen-8-ol ont également été détectées. (Abi-Ayad M et al,2011).

### III.2. Vitamine

L'huile de pin est riche en vitamines essentielles ainsi qu'en substances macroéléments qui ont un pouvoir nutritif. Comme vitamines on peut citer : E et F, connues pour leur haut niveau physiologique et propriétés antiacides, B1, B2, B3 et vitamine pro A (bêta-carotène) et d'autres caroténoïdes (Stephen 2004 ; Kissileff et al.,2003 in Kadari,2012).

### III.3. Les éléments minéraux

L'huile de pin d'Alep contient le magnésium ; zinc ; fer ; cuivre ; iode ; calcium ; phosphore ; manganèse ; cobalt. Ces éléments, qui ont un effet bénéfique pour la santé, sont fortement présents dans les graines du Pinus halepensis (Wang et al, 2006).

### III.4. Les acides gras

La composition en acides gras est caractérisée par l'abondance des acides gras insaturés. La majeure contribution dans la fraction est attribuée aux acide linoléique (49.3) et oléique (27.9). Les autres acides gras saturés en particulier l'acide palmitoléique (C16), gadoléique (C20), et cétooléique(C22), semblant avoir une contribution moindre dans la composition totale (Hamrouni et al,2020).

### III.5. Les acides aminés

L'huile de pin contient également jusqu'à 5% de substances azotés, dont 90% sont les acides aminés, parmi lesquels 70% sont des amino-acides essentiels (Wang et al, 2006).

### III.6. Les composées phénolique et Flavonoïde

Kaundun et al (1998) in Nam, 2014 ont étudié la variabilité géographique des flavonoïdes contenus dans les aiguilles de P. halepensis de plusieurs pays européens. Cette étude a été menée sur 215 arbres. Le solvant utilisé est de l'eau acidifiée par HCl. Deux types de flavonoïdes sont extraits, d'une part des anthocyanes (pigments naturels des feuilles), telles que la prodéphinidine et la procyanidine (93,6 % et 6,4 % respectivement) et d'autre part des flavonols tels que la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol (Pourcentages moyens respectifs: 26.2%; 26.2%et 23.2%).

Les études environnementales menées par Pasqualini et al 2003 in Nam,2014 ont permis d'établir que les composés phénoliques présents dans les aiguilles de P. halepensis taient des bio-indicateurs de la qualité de l'air (degré de pollution par dioxyde de soufre et oxyde d'azote). Les solvants d'extraction utilisés sont le méthanol aqueux à 70% acidifié par HCl pour les phénols totaux, puis l'éther diéthylique pour les phénols simples. Les trois acides

phénoliques majoritaires sont : les acides protocatéchique (jusqu'à 71 µg/g), vanilique (jusqu'à 24 µg/g) et coumarique (jusqu'à 18 µg/g).

#### IV. Les propriétés pharmacologiques de *Pinus halepensis* Mill

Plusieurs études pharmacologiques ont affirmé que *Pinus halepensis* possède un large spectre d'activités biologiques liées à sa composition chimique.

##### IV.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle *pinus halepensis* a été testée de différentes sites (pin de lac Mellah, pin de zaarouria) contre trois souches de références par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou aromagramme.

Les huiles essentielles testées ont exercé une activité antibactérienne plus accrue que celle enregistrée en présence des antibiotiques testés.

L'huile essentielle brute des aiguilles de pin du lac Mellah a montré un effet inhibiteur contre les souches testées, cet effet est similaire à celui provoqué par l'HE des aiguilles provenant de Zaarouria. La souche *S.a*, Gram (+), est plus sensible qu'*E. coli* et *P.aeruginosa*, Gram (-), sous l'action des extraits testés.

La résistance élevée des bactéries Gram (-) est attribuée à la présence d'une membrane externe, imperméable aux composés hydrophobes grâce à son revêtement lipo-polysaccharide. L'absence de cette barrière, chez les bactéries Gram (+) permet le contact direct des constituants hydrophobes de l'huile essentielle avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une déficience au niveau du système enzymatique.

L'activité des HE testées est probablement due aux composés majoritaires (caryophyllène et pinène) ou peut aussi, être attribuée au phénomène de synergie entre tous les constituants volatiles ; Les interactions synergiques entre les différents composés peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible pour les composés majoritaires (N. sadou et al,2015).

De plus plusieurs travaux (Sandri I.G et al,2007; Zarai Z et al,2011; Al-Bayati A.F,2008) ont rapporté que les bactéries Gram (+) sont plus susceptibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram (-).

#### IV.2. Activité antifongique

L'huile essentielle de *Pinus halepensis* extraite à partir des aiguilles montre une activité antifongique contre les champignons suivants mentionnées dans le tableau (Seladji,2014).

**Tableau 3:** L'activité de *Pinus halepensis* contre certains champignons.

Champignons	Diamètres d'inhibition (mm)
<i>Aspergillus flavus</i>	3
<i>Aspergillus Niger</i>	3.75
<i>Fusarium oxysporum</i>	9
<i>Rhizopus stolonifer</i>	3.5

#### IV.3. Activité antioxydant

**Khoudj 2016 in Hamrouni et al, 2020**, travaillant sur l'activité antioxydant du pin d'alep approchée par les tests DPPH et bêta- carotène, a pu montrer l'existence d'une forte variabilité intra spécifique chez le pin d'alep pour chacun des deux types d'extrait utilisés (extrait méthanolique obtenu à partir des graines et HE obtenu à partir des feuilles). Aussi quel que soit le test effectué, elle a pu déceler une activité antioxydant plus élevée chez le pin d'alep.

La comparaison entre les deux types d'extrait montre globalement que l'activité antioxydant de l'extrait méthanolique est meilleur que celle des HE (**Hamrouni et al, 2020**).

#### IV.4. Activité d'inhibition d'acétylcholinestérase

Pour l'activité d'inhibition d'acétylcholinestérase, les résultats montrent l'existence d'une différence hautement significatives ( $p < 0.0001$ ) entre les provenances de pin d'alep quel que soit le type d'extrait avec une activité d'inhibition d'acétylcholinestérase des HE beaucoup plus élevée que celle de l'extrait méthanolique (khoudj 2016 in Hamrouni et al, 2020).

L'activité d'inhibition d'acétylcholinestérase des huiles essentielles pourrait être expliquée par la richesse en monoterpènes **orhan et al,2008; Aazza et al,2011 in Hamrouni et al, 2020**.

#### IV.5. Activité anti-inflammatoire

**Eleftheria et ses collaborateurs 2019**, ont étudié l'effet locale des patches d'alginate micro/nanofibreuse chargées par l'extrait aqueux de l'écorce de *Pinus halepensis* sur la peau des souris femelle sans poils exposée aux radiations ultraviolets (3MEDs). Les résultats obtenus montrent que l'application topique de l'extrait réduit significativement l'inflammation cutanée induite par les rayons UV.

L'extrait méthanolique exercent des effets anti-œdémateux par application locale dans le model de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris. De plus, L'extrait

de *Pinus halepensis* possède également un effet anti-œdémateux lorsqu'il est administré par voie orale, sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène (**Meziti et al, 2019**).

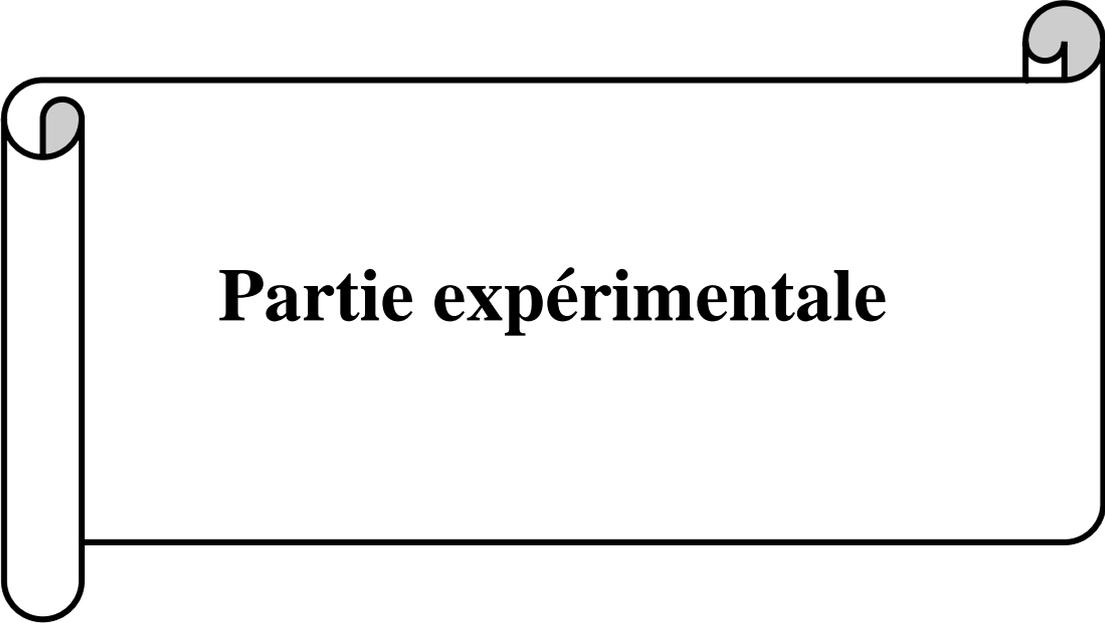
## **V. Les méthodes d'extraction**

### **V.1. Macération**

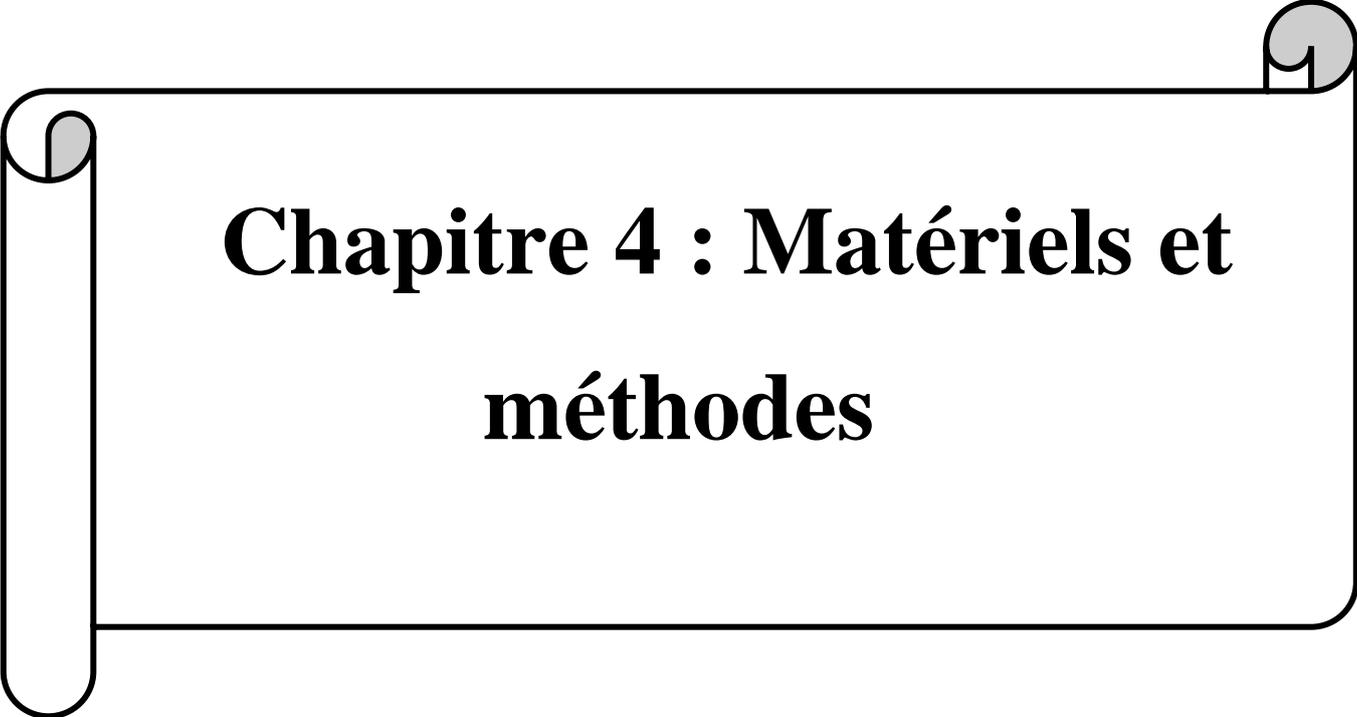
Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (**Kraft et Hobbs, 2004**). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (**Baba-Aïssa, 2000**).

### **V.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau**

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE) (**boukhatem et al**).



**Partie expérimentale**



# **Chapitre 4 : Matériels et méthodes**

### I. Objectif du travail

L'objectif de notre étude est d'évaluer les effets antioxydants et antibactérien des extraits et huile essentielle du pin d'Alep (*Pinus halepensis Mill*) contre certaines souches pathogènes responsables de la putréfaction des viandes bovines.

### II. Matériel utilisé

Le matériel utilisé dans cette étude à concerner :

- Trois étuves réglées à différentes températures (30°C, 37°C, et 45°C) ;
- Un rota vapeur ;
- Pompe à vide ;
- Plaque chauffante avec agitation ;
- Vortex ;
- Balance électronique de précision ;
- Autoclave ; - bain-marie ; -Micropipette ;
- Autres matériel : sachets stomacher, bec Bunsen, papiers filtres, papiers aluminium, spatules et boites de Pétri ;
- Verrerie : flacons, pipettes, béchers, tubes et erlenmeyers.

### III. Solvants, réactifs et milieux de cultures

**Tableau 4:** Les produits utilisés.

<b>Les Réactifs</b>
Ethanol
Methanol
Eau distillé
NA <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 7%
Nitrite de Soduim 5%
ALCL <sub>3</sub> 10%
NAOH
DPPH
Les milieux utilisés
PCA
M.H

#### IV. Préparation de la poudre végétale

Les échantillons frais ont été étalés et laissés sécher dans l'étuve à une température de 45° pendant une semaine, Après séchage, le matériel végétal constitué a été broyé séparément en poudre fine à l'aide d'un broyeur à lames électriques. La poudre ainsi préparée a été emballée et conservée dans des bocaux à l'abri de l'humidité et de la lumière afin d'éviter toute réaction chimique pouvant entraîner des modifications au niveau des principes actifs présents dans la poudre de la plante étudiée.



**Figure 23:** Aspect de *Pinus halepensis Mill* avant et après l'opération de séchage.

#### V. Préparation des extraits

##### V.1. Extrait aqueux par macération (EAM)

L'extrait de *Pinus halepensis Mill* a été préparé selon la méthode décrite par (**Kraft et Hobbs, 2004**). Pour cela, dixgramme (10g) de pin d'Alep séchée et broyée, achetée chez une apiculture locale dans la wilaya de Saida, est macérée pendant 24H dans 100mL d'eau. Une fois la macération finie, la solution obtenue est filtrée avec du papier filtre (Whatman N°1), les surnageants sont ensuite concentrés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (heidolphlaborota 4000), et le résidu obtenu est stocké au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à son utilisation ultérieure (Figure 24).



Figure 24: l'extraction par macération.

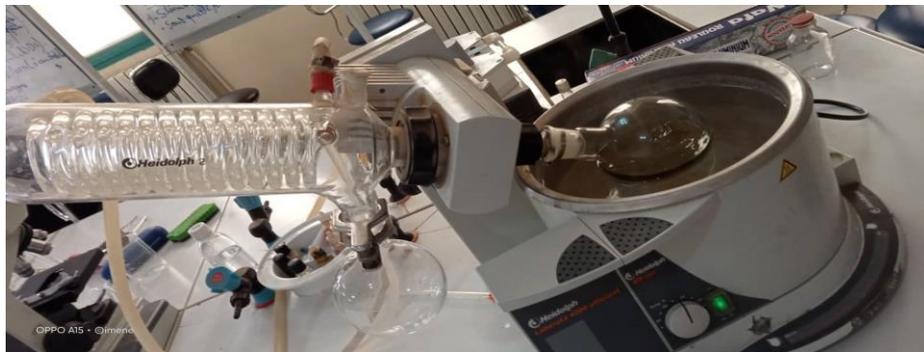


Figure 25: un évaporateur rotatif.

### V.2. Extrait Alcoolique par macération (EE) (EM)

Pour cela, dixgramme (10g) de la poudre de pin d'Alep, est macérée pendant 24H dans 100mL d'éthanol et méthanol, Une fois la macération finie, les solutions obtenues sont filtrées avec du papier filtre (Whatman N°1), les surnageants sont ensuite concentrés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (heidolphlaborota 4000), et les résidus obtenu est stocké au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à son utilisation ultérieure (Figure 26).



Figure 26: préparation des extraits alcoolique.

### V.3. L'extrait huileux

L'extrait huileux de *Pinus halepensis* a été préparé selon la méthode d'extraction à vapeur. Pour cela, un kilogramme (1kg) et (800g) de la plante séchée, incubé dans 6L d'eau distillé, Une fois l'extraction fini, la solution obtenue est décontée et l'huile obtenu est stocké dans un tube à verre dans une température ambiante jusqu'à son utilisation ultérieure (Figure 27).



Figure 27: montage d'extraction à vapeur.

## VI. Calcul du rendement

Le rendement (R) a été calculé selon la formule suivante :

$R (\%) = \frac{\text{Masse du ballon rempli (g)} - \text{masse du ballon vidé (g)}}{\text{masse de la matière première utilisée (g)}} \times 100$

## VII. Etude Phytochimique

### VII.1. Dosage de la teneur en polyphénols totaux (TTP)

La TTP des extraits de pin d'Alep a été estimée par spectrométrie selon la méthode du Folin-Ciocalteu adopté par (Afroz et al 2014). Brièvement, une aliquote de la fraction d'échantillon diluée a été ajoutée à 0,5 ml d'eau distillée et à 0,125 ml de réactif de FC. Le mélange est ensuite agité et incubé pendant 6 min. avant d'ajouter 1,25 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7%). La solution est ensuite ajustée avec d'eau distillée jusqu'à un volume final de 3 ml. Après incubation dans l'obscurité (30 min), l'absorbance est lue à 765 nm par rapport à un blanc préparé (Figure 28).



**Figure 28:** Dosage en polyphénols.

### VII.2. Dosage de la teneur en flavonoïdes totaux (TFT)

Tout d'abord, 100 µl de l'extrait (1 mg / ml) est mélangé avec 0,3 ml de nitrite de sodium à 5%. Après environ 5 min, 0,3 ml d'AlCl<sub>3</sub> à 10% sont ajoutés. Puis, après 6 min, 2 ml supplémentaires d'hydroxyde de sodium 1M (NaOH) sont ajoutés. La solution est ensuite ajustée avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 2.5 ml. L'intensité de la couleur du complexe flavonoïde-aluminium a été mesurée à 510 nm (Figure 29).

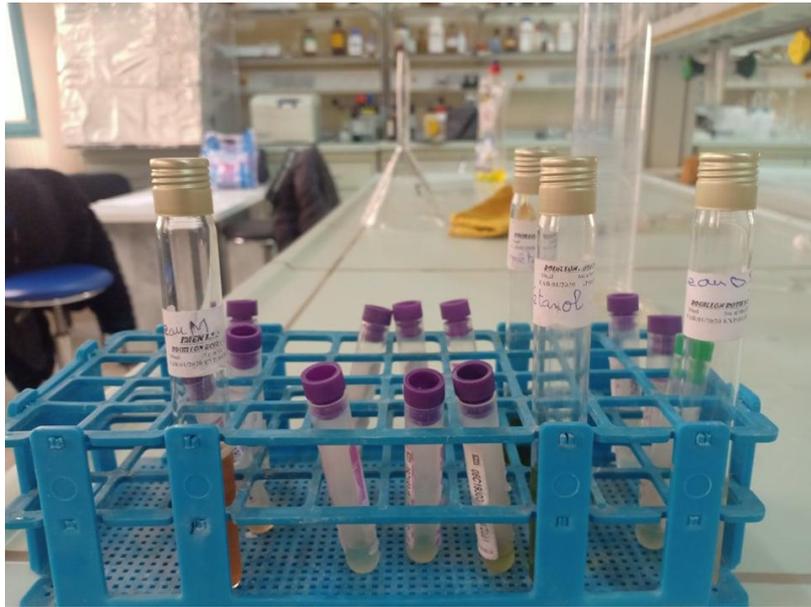


**Figure 29:** La teneur en flavonoïde.

### **VIII. Evaluation des activités biologiques.**

#### **VIII.1. L'activité de piégeage des radicaux DPPH**

Ce test est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydant d'extraits bruts ou de composés purifiés de plantes. Le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est une molécule stable soluble dans le méthanol, caractérisée par sa couleur violette foncé avec un maximum d'absorption à 515 nm. Les antioxydants (AH) ou d'autres espèces radicalaires sont capables de réagir avec ce radical stable en lui fournissant un électron ou un atome d'hydrogène, le réduisant ainsi en 2,2-diphényl-1-hydrazine (DPPH-H) ou en une hydrazine analogue substituée (DPPH-R) caractérisée par une couleur incolore ou jaune pâle qui peut être facilement suivie à l'aide d'un spectrophotomètre (Njoya 2021) (Figure 30).



**Figure 30:** l'étude de l'activité antioxydant (DPPH).

### VIII.2. Activité antibactérienne

Au cours de ce travail, les micro-organismes cités ci-après sont choisis pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires :

- Bactéries : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

L'inoculum a été préparé en cultivant les microorganismes (dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 12 heures) et une concentration d'environ  $10^8$  UFC/ml a été utilisée pour l'analyse antibactérienne. La méthode de diffusion en puits d'agar a été réalisée en étalant chaque suspension bactérienne sur la surface de plaques d'agar de Mueller-Hinton contenant un puits central de 6 mm de diamètre. Le puits a été rempli avec 30  $\mu$ l d'extrait. D'autres disques imprégnés uniquement d'éthanol sont utilisés comme test témoin. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant une nuit. Les résultats ont été exprimés en termes de diamètre de la zone d'inhibition et l'éthanol a été utilisé comme contrôle (Figure 31).



**Figure 31:** Manipulation de l'activité antibactérienne.

### **IX. Application sur la viande bovine et efficacité antibactérienne**

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits et l'Huile essentielle de *Pinus halepensis Mill* appliqués sur la viande bovine stockée à  $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ , et d'autre part de pouvoir dénombrer les bactéries susceptibles d'être affecté par la présence de l'huile essentielle et de l'extrait de pin d'Alep.

#### **IX.1. Préparation de la viande**

La viande de bœuf (24 h post-mortem) est achetée chez un boucher local dans la ville de Saida (Algérie) puis transportées dans une enceinte réfrigérée ( $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) au Laboratoire dans les 15 mn qui ont suivi l'achat.

Pour évaluer l'effet antimicrobien des différents composés de *Pinus halepensis*, plusieurs échantillons de viande sont préparés selon les bonnes pratiques de manipulation. Au total, 200g sont achetés et préparées (10g /échantillon).

3 échantillons étaient placés dans des sachets stériles individuels Stomacher, la première (viande seule), La deuxième échantillon (viande + extrait) et la troisième (l'échantillon + H.E).

Les échantillons qui sont additionnés d'extrait brut et de H.E de Pin d'Alep étaient soigneusement homogénéisés et hachées Pour assurer une bonne distribution des traitements à travers toute la surface de la viande.

Les échantillons de viande étaient stockés à l'air libre et à l'obscurité à  $8 \pm 2$  °C

Les analyses microbiologiques et organoleptiques sont réalisées pour un intervalle de 4 jours.



**Figure 32:** Préparation des échantillons des viandes.



**Figure 33:** Hachage, et malaxage de la viande par le traitement.



**Figure 34:** La conservation des échantillons.

**IX.2. L'analyse organoleptique**

Les propriétés organoleptiques de la viande ont été évaluées après 0, et 4 jours de conservation. Les principaux éléments utilisés dans cette évaluation sont : La couleur, l'odeur anormale et la présence de l'exsudat.

**IX.3. L'Analyse microbiologique**

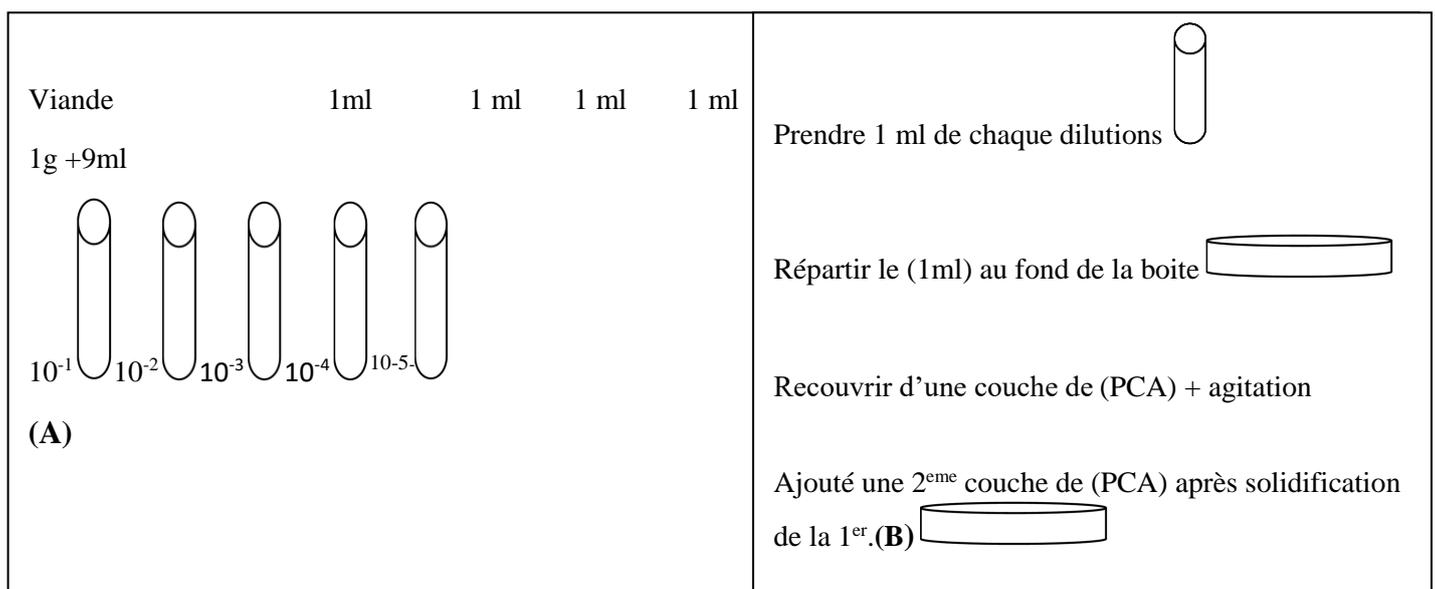
**IX.3.1. Préparation des milieux de culture**

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

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

En premier lieu les échantillons de viandes prélevées dans des sacs Stomacher stériles En second lieu des prélèvements sur les mêmes échantillons ont subies une série de dilutions : 1g de viande est prélevé et dissout dans 9ml d'eau physiologique (dilution 10<sup>-1</sup>). A partir de cette dernière, 1ml est mélangé à 9ml d'eau physiologique (dilution 10<sup>-2</sup>), et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de la dilution voulu. A partir des trois premières dilutions 1 ml de chaque dilution est cultivé en masse avec de la gélose PCA (Plate Count Agar) afin de pouvoir dénombré les germes de la flore mésophile aérobie totale.

Ceci permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) après une incubation à 30°C/24,48 à 72 h respectivement.



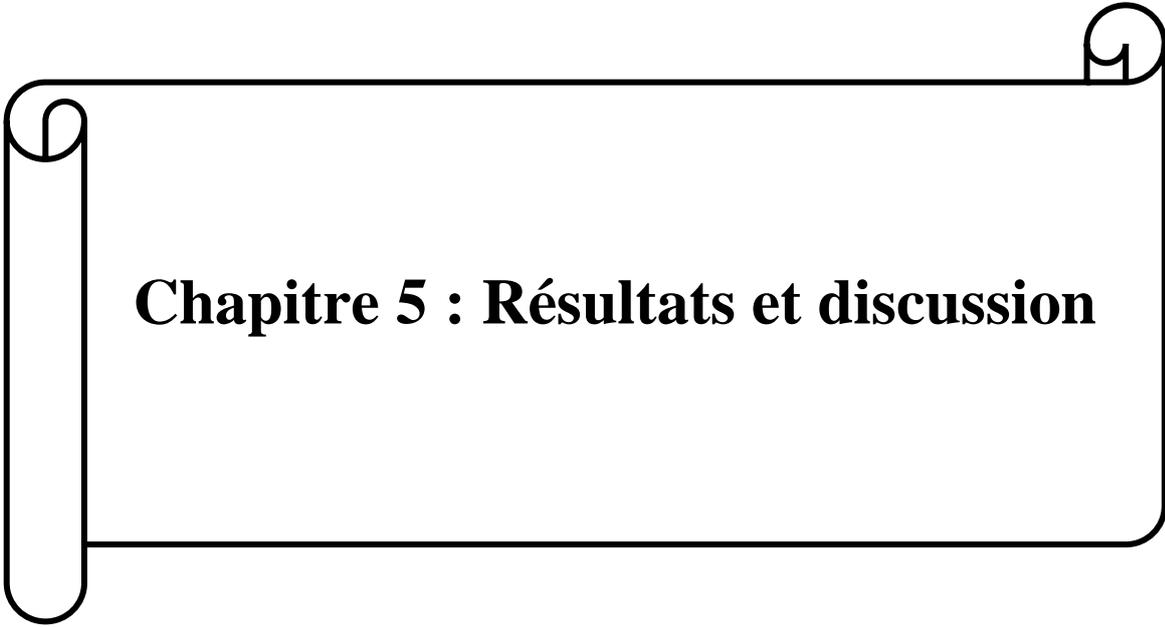
**Figure 35: A :** Technique de dilution décimale ; **B :** technique d'ensemencement en masse.



**Figure 36:** l'analyse microbiologique de la viande conservée.

### **IX.3.2. La lecture**

Une première lecture est effectuée après 24 h. Si la croissance n'est pas importante, les boîtes sont remises pour incubation jusqu'au terme des 48 h et 72h ; à ce moment le dénombrement est alors réalisé.



**Chapitre 5 : Résultats et discussion**

### I. Rendement d'extraction

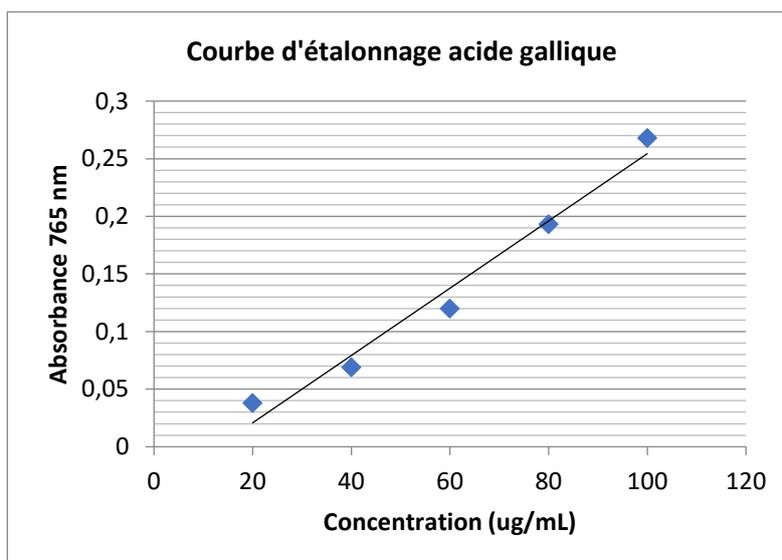
La préparation des extraits de pin d'Alep par macération en utilisant différents de solvants nous a permis de calculer le rendement d'extraction exprimé en pourcentages du rapport entre le poids du résidu sec et le poids de la matière sèche initiale représentée dans le tableau suivant.

**Tableau 5:** Rendements des extraits.

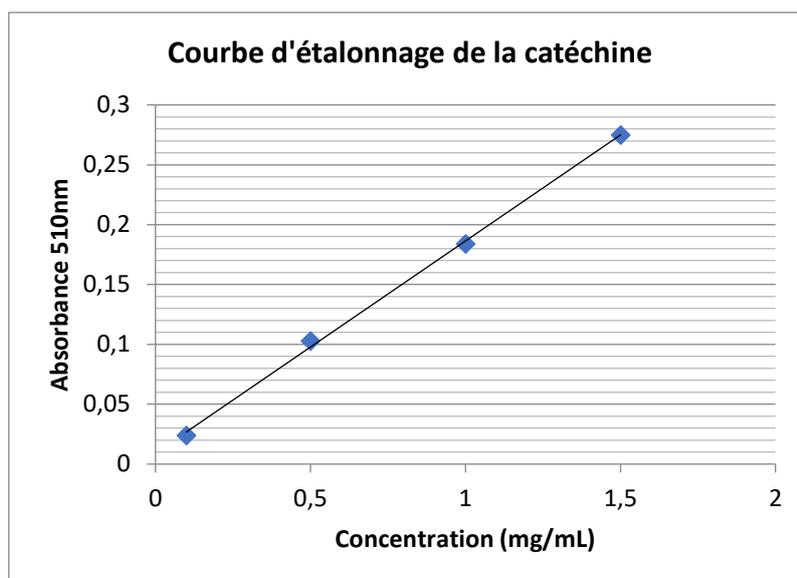
Les extraits	Rendement %
EM	9.2
EE	12.9
EMM	14.4

### II. Estimation de la teneur totale en polyphénols et flavonoïdes

La teneur totale en polyphénols (TTP) a été mesurée en milligrammes d'acide gallique équivalent par gramme de résidu sec (mg GAE/g RS) en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 37), tandis que la teneur en flavonoïdes totaux (TFT) a été mesurée en milligrammes catéchine équivalent par gramme de résidu sec (mg CE/g RS) en se référant aux courbes d'étalonnages de la catéchine (figure 38). Comme il est indiqué dans le tableau (06), les concentrations en TTP des extraits de pin d'Alep se sont avérées être de  $193.71 \pm 0.55$  mg et  $153.88 \pm 0.44$  mg GAE/g RS et  $149.06 \pm 0.43$  CE/g RS pour EE, EAM et EM respectivement. Alors que, les taux de TFT sont de pour,  $2.22 \pm 0.34$  et  $1.49 \pm 2.23$ ,  $0.74 \pm 0.11$  mg GAE/g RS, EE et EM, EAM respectivement.



**Figure 37:** Courbe d'étalonnage acide gallique.



**Figure 38:** Courbe d'étalonnage de la catéchine.

**Tableau 6:** Les résultats des rendements d'extraction, des taux de TTP et de TFT des différents extraits et huile essentielle de *P. halepensis*.

<i>Paramètres</i>	<i>Rendement d'extraction (%)</i>	<i>Polyphenols (mg GAE/g RS)</i>	<i>Flavonoïdes (mg CE/g RS)</i>
<i>EEM</i>	9.2%	153.88 ±0.44	0.74 ±0.12
<i>EE</i>	12.9	193.71±0.56	2.22±0.34
<i>EM</i>	14.4	149.06±0.43	1.49±0.23

### III. Résultat de l'activité antioxydant

La figure (39) et le tableau (07) montrent que l'extraits sont dotés d'une capacité significative à piéger le radical DPPH avec une concentration inhibitrice moyenne.

**Tableau 7:** Les concentrations inhibitrices moyennes des extraits.

<i>Paramètres</i>	<b>IC50</b>
<i>EEM</i>	2.95
<i>EE</i>	1.38
<i>EM</i>	3.32
<i>HE</i>	2.98

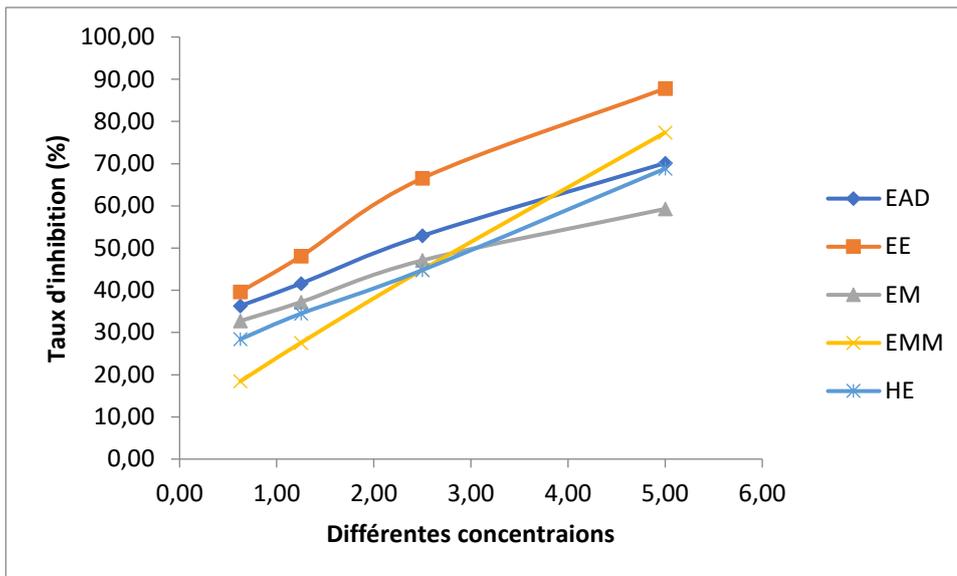


Figure 39: Les concentrations inhibitrices moyennes des extraits

IV. Résultats de l'activité antibactérienne

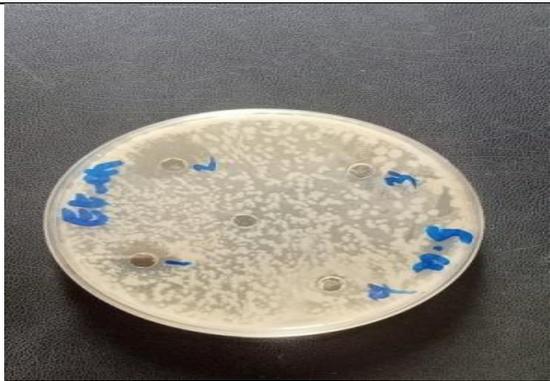
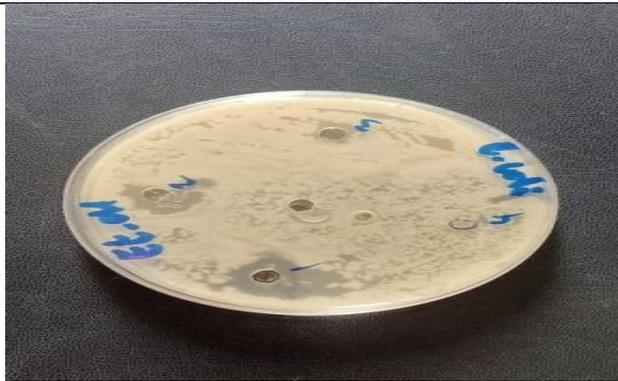
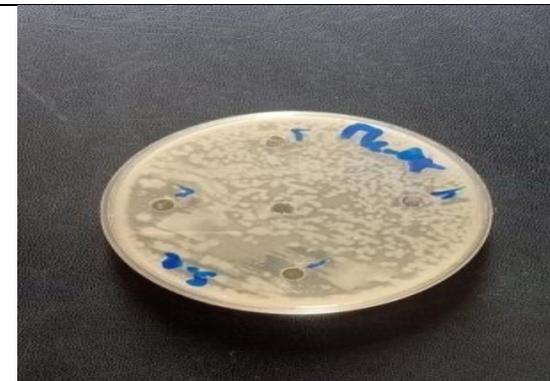
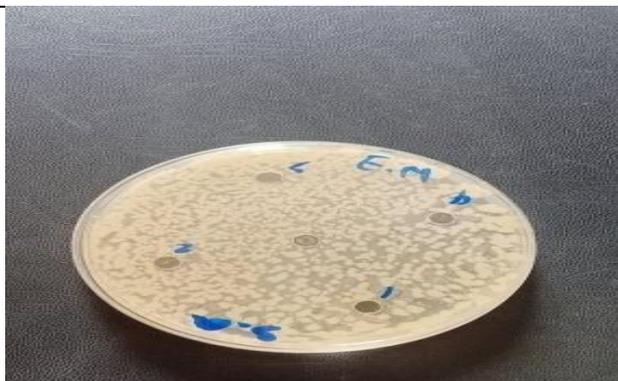
	
<p>(<i>S.aureus</i>) extrait EE</p>	<p>(<i>E.Coli</i>) extrait EE</p>
	
<p>(<i>S.aureus</i>) extrait EMM</p>	<p>(<i>E.Coli</i>) extrait EMM</p>
	
<p>(<i>S.aureus</i>) extrait EM</p>	<p>(<i>E.COLI</i>) extrait EM</p>



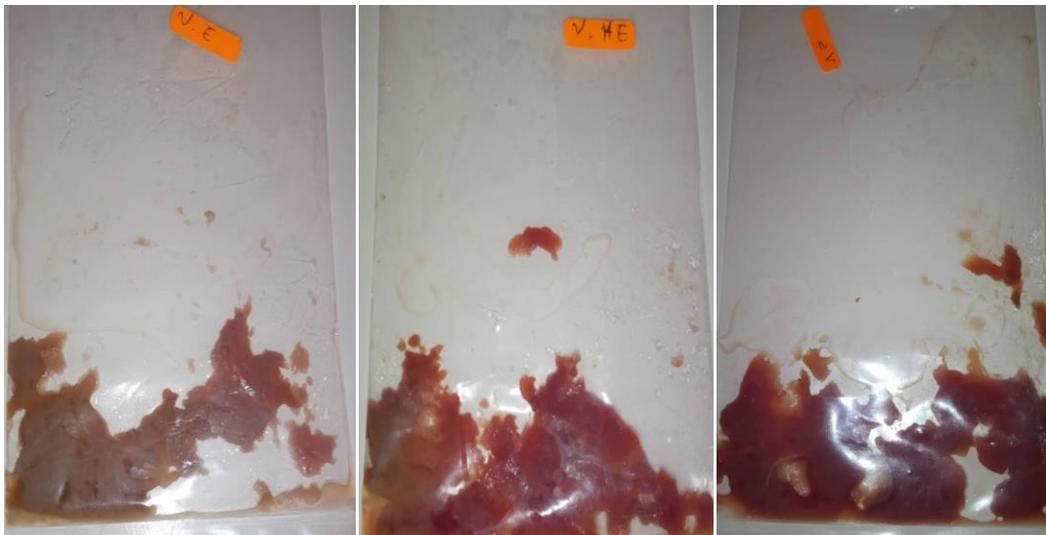
Tableau 8: Les zones d'inhibitions des extraits.

<i>Paramètres Extraits</i>	<b>Zones d'inhibition (mm)</b>	
	<i>E.Coli</i>	<i>S.A</i>
<i>EEM</i>	6	6
<i>EE</i>	16	22
<i>EM</i>	22	16
<i>HE</i>	16	18

V. Résultat de l'appréciation organoleptique



0 jours à la température ambiante.



4 jours à la température ambiante.

Figure 39: Stockage de viande en présence et en absence d'HE et de l'extrait (T° ambiante).

Tableau 9: La qualité organoleptique de la viande stockée en présence des traitements.

	Durée de conservation en jours			
	0		4	
	Couleur exsudat	odeur	Couleur exsudat	odeur
Témoin	Rouge vif -	normale	Rouge Pourpre	mauvaise (forte) -
Viande + extrait	Rouge vif -	normale	Rouge	mauvaise (faible) -

<b>Viande +</b>	<b>Rouge vif normale</b>	<b>Rouge mauvaise (faible)</b>
<b>H.E</b>	-	-

**VI. Résultat de L'utilisation des composés de *Pinus halepensis* Mill comme agents antimicrobiens**

L'activité antimicrobienne de l'extrait et H.E vis-à-vis les souches pathogènes communément associées à la putréfaction de viande rouge est évaluée qualitativement et quantitativement par la méthode de diffusion sur gélose.

Les figures suivantes montrent respectivement les résultats du développement des colonies sur les échantillons conservés à 8±2 °C en présence d'un extrait brut de Pin d'Alep et d'un huile essentiel de 24h ,48h, 72h.



**Figure 40:** Résultat de 24h.

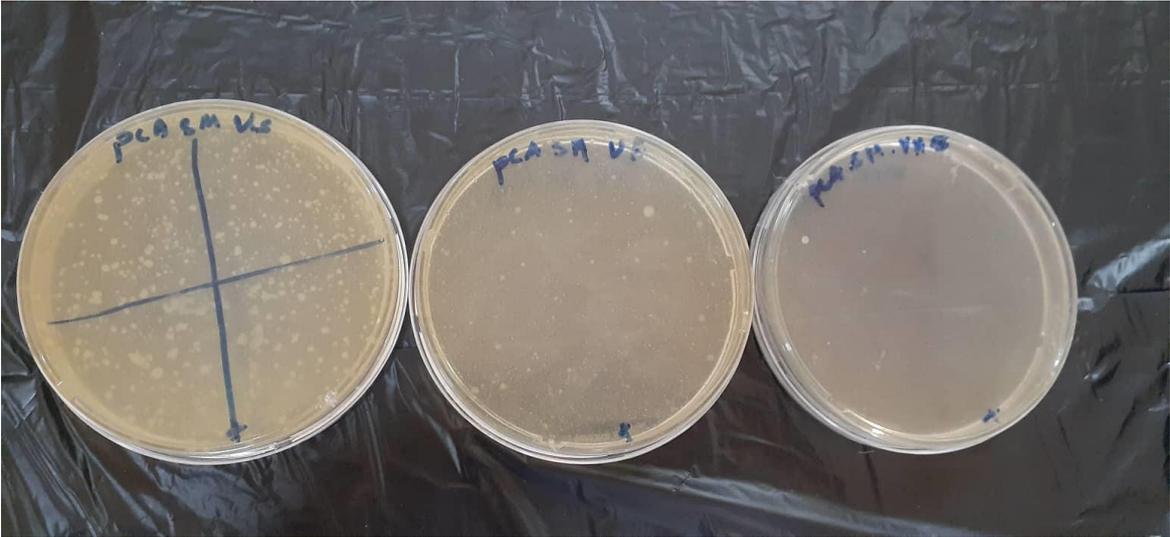


Figure 41: Résultat de 48h.

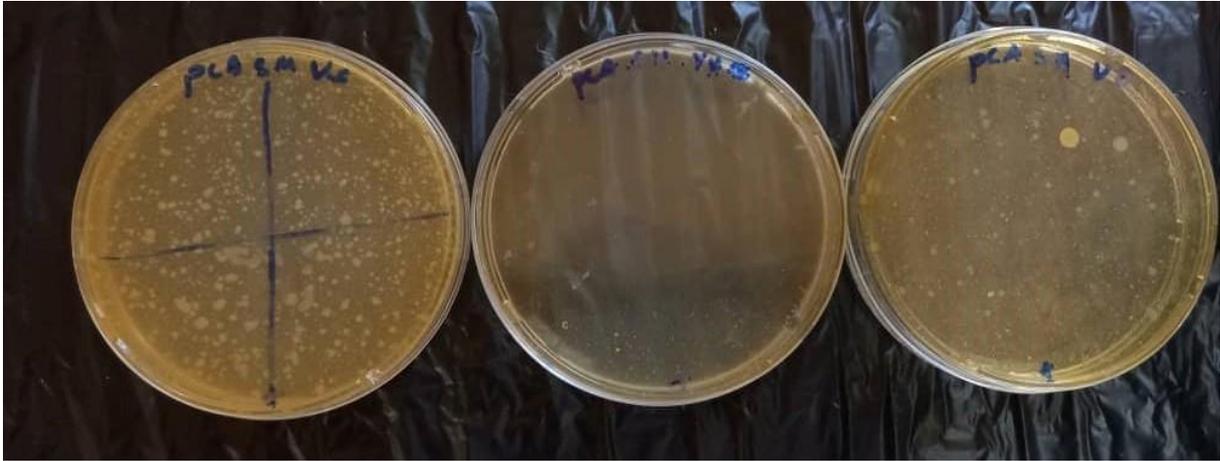


Figure 42: Résultat de 72h.

### Discussion

Les composés bioactifs d'origine végétale attirent de plus en plus l'attention des chercheurs en raison de leurs propriétés et leurs effets marqués dans la prévention de divers obstacles de conservation associés au stress oxydatif, les contaminations microbiologiques et pertes de la qualité sensorielle. Au cours des dernières années, l'identification et le développement de ces composés ou les extraits de différentes plantes sont devenus un domaine de recherche liée même à la santé et la médecine (**Dai et Mumper, 2010**).

Les résultats de rendement des extraits bruts à partir de 10g de matière végétale de *Pinus halepensis* en utilisant la méthode de macération, a permis d'obtenir des extraits bruts de couleur différentes selon le solvant utilisé (eau, éthanol, méthanol,) avec des rendements variables. En effet, le calcul du rendement par rapport au poids total de la matière sèche des graines et des feuilles de *Pinus halepensis* Mill, montre que l'extraction par macération à méthanol produit la plus grande quantité de masse extraite (14.4%) et un rendement moyen enregistré pour l'extrait éthanolique (12.9%) et un faible rendement pour l'extrait aqueux.

La différence de rendement entre les trois extraits est due à la nature du solvant utilisé, qui est totalement différente, et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre, puisque l'effet chimique des solvants sur la matière végétale.

Les résultats de l'étude phytochimique montrent que les teneurs en polyphénols varient considérablement entre les extraits; l'extrait éthanolique est la plus riche en polyphénols avec une concentration de 193.71mg EAG/g MS, l'extrait de méthanol a montré une valeur inférieure à l'extrait précédent 153.88 mg EAG/g MS, et enfin l'extrait aqueux avec 149.06 mg EAG/g MS.

Dans le dosage des flavonoïdes, l'extrait éthanolique semble le plus riche en flavonoïdes avec une concentration de 0.44 µg EQ/mg MS, suivi par l'extrait méthanolique 0.30 µg EQ/mg MS, puis l'extrait aqueux avec 0.15 µg EQ/mg, cette résultat comparable à l'étude menée par Kadri et ces collaborateurs (2014) sur les graines de *Pinus halepensis* (pin Algérien), révèle un taux de flavonoïde très faible dans l'extrait méthanolique.

Ces résultats de l'analyse phytochimique ont montré que les extraits avaient des niveaux significatifs en polyphénols, en flavonoïdes avec des valeurs légèrement plus élevé chez l'extrait éthanolique. Des travaux antérieurs ont rapporté que *P. halepensis* possède plusieurs molécules bioactives appartenant à des métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les terpenoïdes (**Benouadah et al., 2019 ; Kotroni et al., 2019**).

Les résultats obtenus de l'activité antiradicalaire ont révélé que l'extrait éthanolique présente une meilleure activité antiradicalaire au DPPH comparativement à celle l'extrait

aqueux (EM) et l'extrait méthanoliques (EM) avec des IC50 respectives de 1.38 mg/ml, et 2.95mg/ml, 2.98mg/ml, 3.32mg/ml. Les IC50 enregistrés à travers cette étude sont comparable au résultat de la thèse de **Mme Najoua SALHI (2020)**, par contre, dans l'étude mené par **kadri et al** les teneurs en polyphénol totaux dans l'extrait méthanolique sont de 3.71 mg EAG/ g élevé par rapport que l'extrait éthanolique (plus la valeur IC50 est importante, plus le pouvoir antiradicalaire est faible).

Les travaux de **Nigro (2016)** ont révélé une activité anti-radicalaire faible par rapport à notre étude (extrait aqueux de PPI) avec des IC50 de 61,46µg/ml pour l'extrait aqueux de feuilles de *Pinus halepensis*.

Ces résultats peuvent être expliqué par la présence des molécules antioxydants telles que les polyphénols, les flavonoïdes dans l'espèce étudiée et qui sont capables de réduire et décolorer le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène.

L'utilisation de l'éthanol comme solvant d'extraction présente plusieurs avantages : Sa polarité fait qu'il est utilisé comme solvant par excellence pour l'extraction des composés phénoliques ; d'autre part il est moins altérant que le méthanol, qui peut exercer un effet de méthanolyse sur les tannins, pouvant perturber la teneur réelle des extraits en ces composés (**Bruneton, 1999**). La macération aqueuse permet également une meilleure extraction des composés phénoliques d'autant plus qu'elle peut entraîner d'autres composés non phénoliques et permet de rester fidèle à l'utilisation traditionnelle de la plante.

Plusieurs auteurs ont également rapporté que la variation des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes peuvent être liés aux origines géographiques, et les paramètres d'extraction (**Servili et al., 2004**).

L'activité antibactérienne de *P. halepensis* a été déterminée contre deux souches (S.A et E.c) en utilisant un test de diffusion de l'agar. Les résultats ont révélé que l'huile essentielle de *P. halepensis* possède des effets inhibiteurs remarquable sur les microorganismes testés, dans les extraits Alcoolique (éthanol et méthanol) l'effet antibactérien est plus efficace que dans l'extrait aqueux.

Les résultats des tests d'activités antimicrobiennes montrent que *Staphylococcus aureus* est très sensible à l'extrait d'éthanol de *Pinus halepensis* Mill. Avec une zone d'inhibition de (22mm). Par rapport au *Escherichia coli* (16mm).

Les résultats ont révélé que l'huile essentielle de *P. halepensis* possède des effets inhibiteurs remarquable sur tous les microorganismes testés, l'effet antibactérien est probablement attribué à la richesse de cette huile essentielle en β-caryophyllène (**Dahham et al, 2015**).

Les études menées par ((**N. Haied et al**) est confirmé nos résultats sur l'activité antibactérienne dans lequel L'huile essentielle des aiguilles de *Pinus halepensis Mill.* Testée a été plus active vis-à-vis des bactéries Gram (+), *Staphylococcus aureus*, que sur les bactéries Gram (-), *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats menés par **GUEMIRI Hadjer, KAROUCHE Ibtissam 2017** montrent que L'activité antimicrobienne des différentes concentrations des extraits éthanoliques des graines de *Pinus halepensis Mill* ont montrées une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* (cas de l'extrait brut), *Escherichia coli*, SARM, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans*. L'extraction (macération) des composés bioactifs par l'utilisation de l'éthanol comme solvant donne des résultats positifs en termes d'activités antimicrobienne par rapport celle obtenues dans la méthode d'extraction utilisant de l'eau comme solvant. Cela est due fort probablement à des meilleurs rendements d'extraction des composés bioactifs obtenus pour l'éthanol par comparaison à ceux extrait avec de l'eau.

Les résultats de l'analyse organoleptique :

Nous avons remarqué une légère différence entre la couleur de la viande témoin et les deux autres échantillons additionnés de l'huile essentielle et l'extrait. C'était après 4 jours de stockage à la température ambiante.

Nous avons également remarqué l'apparition de forte mauvaise odeur après quatre jours de stockage à la température ambiante dans les échantillons témoin et une odeur acceptable pour les échantillons traités.

Selon **Esmer et al, 2011**, la présence d'huile essentielle peut stabiliser à la fois la couleur de la viande hachée et l'oxydation de sa matière grasse, elle peut également retarder la croissance des microorganismes présents

La perte de rougeur due à la formation de la métomyoglobine, la forme oxydée de la myoglobine (**Boles et Pegg, 2002 ; Esmer et al, 2011**).

La présence de la métomyoglobine se manifeste par des taches brunes à la surface de la viande (**Bouzidi, 2016**).

Les résultats de l'analyse microbiologique de la viande Après quatre jours de conservation à la température ambiante, nous avons remarqué une différence significative entre le nombre de ces microorganismes (colonies) présents dans les échantillons contenant l'huile essentielle et l'extrait par rapport à l'échantillon témoin (figure 40, 41, 42), dans les échantillons traités après 24h et 48h, nous pouvons dire que la présence de l'extrait et le huile essentiel dans les échantillons ralentit l'activité et le développement des micro-organismes présentent.

Bien que la présence d'huile essentielle retarde la croissance des microorganismes (**Esmer et al, 2011**), les résultats obtenus après 4 jours de stockage montrent clairement la régression de nombre de ces microorganismes dans les échantillons contenant l'huile essentielle et l'extrait en nombre plus important par rapport au témoin.

Ainsi, **Djenane et al, (2012)** ont traité les viandes hachées avec les extraits des menthes et lavandes. Les résultats obtenus ont montré une inhibition de prolifération des deux bactéries pathogènes (*E. Coli* O157: H7 et de *S. aureus*). De plus, ils ont constaté que l'extrait de lavande était le plus efficace pour inhiber à la fois les bactéries Gram-positives et Gram négatives, tandis que la menthe exerçait une inhibition plus élevée que sur *S. aureus* à Gram positif.

**Djenane et al., (2019)** ont appliqué l'extrait des feuilles d'olivier sur la viande hachée, les résultats obtenus montrent une nette régression de flore psychrotrophes totale durant la période de conservation par rapport au témoin. D'un point de vue microbiologique, ces résultats ont une signification très positive en termes de stabilité microbiologique et par la suite durée de conservation plus longue du produit durant la période de conservation.

Les résultats de notre étude ne peuvent pas comparer avec les littératures publiées. Elle est considérée comme la première menée sur la conservation de viande bovine en utilisant la plante de *Pinus halepensis Mill.*

### Conclusion

L'objectif de cette étude, réalisée sur la plante de *Pinus halepensis* Mill, était d'évaluer d'abord phytochimiquement sa composition chimique et son activité antioxydante par le biais de test d'inhibition du radical DPPH, ainsi que d'estimer le potentiel pouvoir antibactérien de ses extraits organiques et de son huile essentielle (HE) vis-à-vis de souches bactériennes pathogène à savoir : *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus*.

Ces tests préliminaires (in vitro) consistaient une base solide pour passer vers des tests in situ réalisés sur la viande bovine pour examiner la possibilité d'utilisation de ces extraits et huile essentielle comme additif naturel dans la conservation alimentaire.

L'extraction de l'HE par entraînement à la vapeur ainsi que l'extraction par macération des extraits organiques a permis d'enregistrer d'importants rendements estimés à 14.4, 12.9 et 9.2 % pour l'extraits méthanoïque, éthanoïque et aqueux respectivement.

Les tests phytochimiques confirment que *P. halepensis* est principalement riche en polyphénol et en flavonoïdes est constitué une source importante de molécules bioactifs responsables de plusieurs activités biologiques.

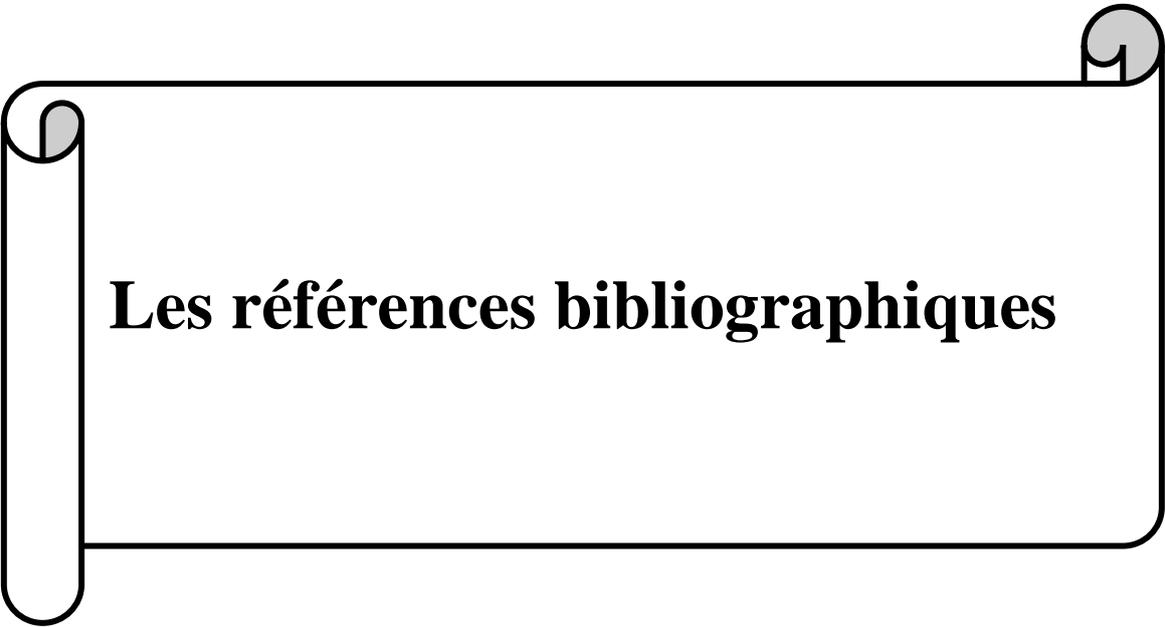
De même, l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits étudiés par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, montre que l'extrait éthanolique présente un pouvoir anti-radicalaire plus important que celui de l'extrait aqueux. L'activité importante exercée par l'extrait éthanolique s'expliquent probablement par sa richesse en polyphenols et en flavonoïdes.

Ce qui concerne l'activité antibactérienne, les extraits organiques utilisés ont permis d'enregistrer une importante activité inhibitrice contre les deux souches bactériennes testées à savoir : *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et *Escherichia Coli* (gram négatif).

L'étude in situ, a permis de constater par le biais d'analyse organoleptique, une légère différence entre la couleur de la viande témoin et les deux autres échantillons additionnés de l'huile essentielle et de l'extrait. Alors que, l'apparition de forte mauvaise odeur dans les témoins a diminué de manière significative dans les échantillons traités. Et après l'analyse microbiologique, les résultats suggèrent que le *Pinus halepensis* peut constituer un potentiel agent antimicrobien non négligeable pour la conservation de la viande.

Enfin, L'ensemble de ces résultats laisse entrevoir des perspectives de la recherche des formulations à base des huiles essentielles et des extraits de *Pinus halepensis* à la place de certains conservateurs ou antioxydants de synthèse dans le domaine de l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique, aussi l'huile essentielle de *Pinus halepensis*

pourrait être une nouvelle source potentielle tant qu'antimicrobien naturels appliqués dans les industries alimentaires.



## **Les références bibliographiques**

## A

- 1) A, LISTRAT, B. LEBRET, I. LOUVEAU, T. ASTRUC, M. BONNET, L. LEFAUCHEUR, J. BUGEON, 2015, Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viandes ou chairs, *NRA Production Animale.*, France, 28 (2), 125-136.
- 2) ABDESSADEK ETTABTI (2005) « La perception de la qualité de la viande rouge fraîche par la ménagère marocaine, p27 ».
- 3) Abi-Ayad M., Abi-Ayad F.Z., Lazzouni H.A., Rebiahi S.A., Ziani Cherif C., et Bessiere J.M., 2011. Chemical composition and antifungal activity of Aleppo pine essential oil, *Medicinal Plants Research*, 5(22), p (5433-5436).
- 4) Al-Bayati A.F., 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts, *Ethnopharmacology*, Vol. 116, 403-406, Alger, 2, pp .641.
- 5) Ammor S., Tauveron G., Dufour E., Chevallier I., (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility, 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*. vol. 17, 454-461.
- 6) Anja Muriel RAKOTONDRAMAVO, 05 Février 2019, Procédé innovant de stabilisation du jambon cuit combinant hautes pressions et biopréservation, Thèse de doctorat, ONIRIS, GEPEA UMR CNRS 6144.
- 7) ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail). 2011. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments.
- 8) Antoine COLLIGNAN et all , VALORISATION DES PRODUITS DE LA PECHE A OUVÉA ,1997, Département Amélioration des Méthodes pour l'Innovation Scientifique Cirad-amis )
- 9) ASPC (Agence De Sante Publique Canada). 2012. *Campylobacter coli*; fiche technique santé-sécurité: agents pathogènes. ASPC. <http://www.phacaspc.gc.ca/lab-bio/res/psdsftss/campylobacter-coli-fra>
- 10) Athmani N., et Masmoudi M, 2008. Etude de l'impact de *Bacillus thuringiensis* Kurstaki dans la lutte de la chenille processionnaire du pin d'Alep "*Thaumetopoea pityocampa* Schiff " au niveau de la forêt domaniale de Beni Oudjana (khenchela). Mémoire d'ingénieur d'état en écologie végétale et environnement. Univ Hadj lakhdar Batna., p (47)
- 11) AURAS, R., HARTE, B., SELKE, S.; 2006, Sorption of ethyl acetate and d-limonene in poly(lactide) polymers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 86, 648– 656p.
- 12) Axel Malgoire, Véronique Santé-Lhoutellier, Thierry Astruc, Marie-Pierre Ellies-Oury, 2020, Etat des lieux des emballages innovants en viande bovine, *Viandes & Produits Carnés*, pp 9.

## B

- 13) Baba-Aïssa F. (2000), *Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident*. EDAS Algérie.
- 14) Babulka P. *Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne ; phytothérapie*, 2007, Vol.5, PP 137-145.
- 15) BAILLY J.D., BRUGERE H., CHADRON H. (2012). *Microorganismes et Parasites des Viandes: les Connaître pour les Maîtriser de l'Éleveur au Consommateur* : 150.

- 16) Bauchart D., Chantelot F., et Gandemer G., (2008). Qualités nutritionnelles de la viande et des abats chez le bovin: Données récentes sur les principaux constituants d'intérêt nutritionnel. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 43, 1S29-1S39.
- 17) Bauchart, D., & Gandemer, G. (2010). Qualité nutritionnelle de la viande et des abats de bovin. In Muscle et viande de ruminants (QUAE : Synthèse ed. Versailles : Bauchart, D. & Picard, B.
- 18) Bax, M. L., Aubry L., Ferreira C., Daudin J. D., Gatellier P., Rémond D., & Santé.
- 19) Behih Y., et Ben Amrouche S, 2017. Screening phytochimique et analyse pédologique de la plante « Pinus halepensis Mill. » récoltée de trois régions (Ghilassa, Ksour, Ouacif). Mémoire Master en Phytopathologie. Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi Bordj Bou Arréridj., p (1-11).
- 20) Belitz H-D; Grosch W. & Schieberle P. (2009). Meat Food Chemistry, 12, 563-616.
- 21) Benkiki N. Etude phytochimique des plantes médicinales algérienne : Ruta montana, Matricaria pubescens et Hypericum perforatum – thèse de doctorat ; Université EL-Hadj- Lakhdar. Batna, 2006.
- 22) Benouadah, N., Aliouche, D., Pranovich, A., Willför, S., 2019. Chemical characterization of Pinus halepensis sapwood and heartwood. Wood Material Science & Engineering 14, 157–164.)
- 23) Bentouati A, 2006. Croissance, productivité et aménagement des forêts de pin d'Alep (Pinus halepensis M.) du massif de Ouled Yagoub (Khenchela-Aurès). Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques. Univ El hadj lakhdar Batna., p (4).
- 24) Bernard Prévosto, 2013, Le pin d'Alep en France: 17 fiches pour connaître et gérer, Éditions Quæ, 160 pp
- 25) Boles J.A., Pegg R.B. (2002) Montana State University and Saskatchewan Food Product Innovation Program, University of Saskatchewan.
- 26) BONNEFOY C., GUILLET F., LEYRAL G. et VERNES- BOURDAIS E. (2002). Population contaminant altérant la qualité sanitaire et marchande. In Microbiologie et Qualité dans les Industries Agroalimentaires. Collection Biosciences et Techniques, Série Sciences des Aliments : 248.
- 27) Bonnet, M, Gruffat, D., & Hocquette, J.F. (2010). Métabolisme lipidique des tissus musculaires et adipeux. In Muscle et viande de ruminants (QUAE : Synthèse ed.). Versailles : Bauchart, D. & Picard, B.
- 28) BOUKHALFA L, (2006). L'aviculture en Algérie. Journées Sur la Grippe Aviaire (Batna).
- 29) BOUKHATEM Mohamed Nadjib, FERHAT Amine, et KAMELI Abdelkrim, 2019, Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue Agrobiologia 9(2): 1653-1659, ISSN : 2170-1652
- 30) Bourgeois C. M., et Leveau J.V., (1991). Techniques d'analyses et contrôle dans les industries agro-alimentaires. 2ème Edition Lavoisier .p454
- 31) Bourgeois CM, Mescle JF, Zucca J. 1996. La microflore de la viande (336-345). In Microbiologie Alimentaire: Aspect Microbiologique de la Sécurité et de la Qualité des Aliments. Lavoisier Tec & Doc: Paris; 672 p.
- 32) Bourre J. M., (2011). Apports nutritifs des viandes bovines. Académie d'Agriculture de France. <http://www.academieagriculture.fr/mediatheque/seances/>
- 33) Bouzidi Nebila (2016) Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « Artemisia herba alba Asso », Thèse de Doctorat, UNIVERSITE Mustapha Stambouli de Mascara : 130 pages

- 34) Brakna et Tobbi, (2005), Approvisionnement d'une grande ville en viande rouge : cas de la ville d'Alger. Thèse de magister. INA. Alger. Pp 30-36
- 35) Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie–Plantes médicinales–. 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp 227–310.
- 36) Budde B.B., Hornbaek T., Jacobsen T., Barkholt V., Koch A.G., (2003), *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats, culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *International Journal of Food Microbiology*. vol. 83, 171-184
- 37) Burne A. 2012. *Clostridium botulinum*, Food Safety, FSA, Outbreak. <http://www.befoodsafe.org.uk>

## C

- 38) Cartier P, Moevi I. 2007. Le point sur la qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Département Techniques d'Élevage et qualité. Service Qualité des viandes. Compte rendu final n° 17 05 32 022, 70p.
- 39) CARTIER P. (2004). Points de repères en matière de qualité microbiologique viandes bovines, Institut de l'Élevage : 175.
- 40) Cartier P., (1990) : Méthodologie de contrôle de la qualité hygiénique d'un avant de bovins. *Viandes et Produits Carnés* 11 : 215-216.
- 41) Cassignol F. (2014). Palmarès des critères d'achat de viande des Français, [Dossier de presse]. 19p.
- 42) Cheikh Rouhou, S.; Hentati, B.; Besbes, Souhail et al, 2006, Composition chimique des graines de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) d'origine tunisienne et caractérisation de la fraction lipidique, Sfax, Tunisie .
- 43) Chougui N., (2015), technologie et qualité des viandes. Thèse de magister. Université Abderrahmane Mira de BEJAIA.
- 44) Chriki S., Renand G., Picard B., Micol D., Journaux L., Hocquette J.F. (2013). Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. *Livestock Science*, 155, 424–434.
- 45) Chuck J. 2013. *Campylobacter* Fact Sheet. Gass Weber Mullins LLC., <http://www.defendingfoodsafety.com/food-safety-law/common-food-borne-pathogens/campylobacter-1/>.
- 46) Coibion L., 2008. Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine: adaptation à la demande du consommateur. Mémoire pour l'obtention du grade de Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 97pp.
- 47) Coma, V., 2008, Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Sci.* 78, 90-103.)
- 48) Corry TEL. 2007. Spoilage organisms of red meat and poultry (101-122). In *Microbiological Analysis of Red Meat, Poultry and Eggs*, Mead GC (Ed). Woodhead publishing limited and CRC press LLC: Cambridge, England; 348p
- 49) Craplet C., (1966). La viande de bovins .Tome I .Ed Vignot frère, Paris p 7 486. 37•
- 50) Craplet C., et Craplet M J., (1979), Dictionnaire des aliments et de la nutrition. Ed LE HAMEDI .Paris .p 450-451.

- 51) Cuq J L., (2007), Microbiologie Alimentaire : Les relations microorganismes / aliments/consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4<sup>ème</sup> année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. P 2-16-17.

## D

- 52) Dahham SS, Tabana YM, Iqbal MA, Ahmed MB, Ezzat MO, Majid AS, et al. (2015). The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene  $\beta$ -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules* ; 20, pp.11808-11829
- 53) Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352
- 54) Darmaun, D. (2008). What is an essential amino acid in 2008? *Nutrition Clinique et Métabolisme* 22 (4), 142-150
- 55) Day G.S. et R. Wensley, (1988) "Assessing advantage: a framework for diagnosing competitive superiority". *Journal of marketing*, Vol. 52, pp. 1-20.
- 56) DENNAI N., KARRATI B. et EL YACHIOUI M. (2000). Bovins à l'abattoir : Une microbiologie fluctuante, 21 (6) : 191-196.
- 57) DGCCRF, juillet 2021, conservation des aliments : toutes les techniques, fiches pratique, pp4.
- 58) DIB A. L., Les putréfactions des viandes, I.S.V.K HIDAOA A5 (suite chapitre 3).
- 59) Djenane, D., Aïder, M., Yangüela, J., Idir, L., Gómez, D., & Roncalés, P. (2012). Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157: H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Science*, 92(4), 667-674
- 60) Djenane, D., Gómez, D., Yangüela, J., Roncalés, P., & Ariño, A. (2019). Olive Leaves Extract from Algerian Oleaster (*Olea europaea* var. *sylvestris*) on Microbiological Safety and Shelf-life Stability of Raw Halal Minced Beef during Display. *Foods*, 8(1), 10.
- 61) Djerrad, Kadik L, Djouahri A. (2015). Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Industrial Crops and Products*. 74, pp.440–449
- 62) DOYLE M. E. (2007). Microbial food spoilage. Losses and control strategies. A brief review of the Literature.
- 63) Dupin H., 1992. Alimentation et nutrition humaines. Paris, Esf Editeur, ISBN 710108925, 9782710108924, p.1183-1192.
- 64) Durand D., Savary-Auzeloux I., Ortigues-Marty I., Thomas E., Scislowski V.,• Peyron A., Bauchart D., (2006), Effet de la conservation de la viande bovine sur les processus de peroxydation lipidique et protéique. 11<sup>èmes</sup> JSMTV - Clermont Fd. p77.
- 65) Dzimba, F. E. J. M., Faria, J. D. F. & Walter, E. H. M. (2007) Testing the Sensory Acceptability of Biltong Formulated with Different Spices. *African Journal of Agricultural Research*, 2(11), 574-577.

## E

- 66) El Rommouz R. (2005). Etude des changements biochimiques post mortem dans le muscle des volailles- contribution au déterminisme de l'amplitude de la diminution du PH. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Ecole doctorale : S.E.V.A.B. P 3.

- 67) Eleftheria Kotroni, Eleftheria Simirioti, Stefanos Kikionis, Ioannis Sfiniadakis, Aggeliki Siamidi, Vangelis Karalis, Andreas Vitsos, Marilena Vlachou, Efstathia Ioannou, Vassilios Roussis et Michail Rallis, (2019), In Vivo Evaluation of the Anti-Inflammatory Activity of Electrospun Micro/Nanofibrous Patches Loaded with Pinus halepensis Bark Extract on Hairless Mice Skin, *Journal of Materials*, 12, pp. 2596.
- 68) Esmer OK, Irkin R, Degirmencioglu N, Degirmencioglu A, Kizilirmak O (2011) The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. *Meat Sci.* 88:221–6.
- 69) Euzeby JP. 2007. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Adresse URL, . Bailly JD, Brugere H, Chadron H. 2012. Microorganismes et Parasites des Viandes: les Connaître pour les Maîtriser de l'Éleveur au Consommateur. CIV, p150.

## F

- 70) Farkas, D. F. (2016). A Short History of Research and Development Efforts Leading to the Commercialization of High-Pressure Processing of Food. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas, & H. L. M. Lelieveld (Éds), *High Pressure Processing of Food* (p. 19-36). New York, NY: Springer New York.
- 71) Feiner G, 2006. Definitions of terms used in meat science and technology (46-71). In *Meat Products Handbook Practical Science and Technology*. Wood head publish inglimited and CRC Press LLC: Cambridge, England; 629p.
- 72) Feldhusen, F., Kirschner, T., Koch, R., Giese, W., & Wenzel, S. (1995). Influence on meat colour of spray-chilling the surface of pig carcasses. *Meat Science*, 40, 245–251
- 73) Feng P., (2001), *Escherichia coli*. In : Labbé R.G., García S. (Eds.), *Guide to food borne pathogens*. John Wiley and Sons: New York, p143-162.
- 74) Fernandes R. 2009. Chilled and frozen raw meat, poultry and their products (1-52). In *Microbiology Handbook Meat Products*. Leatherhead Publishing, Randalls Read, Leatherhead, surrey KT22 7RY, UK and Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park Milton Road: Cambridge; 297p.
- 75) Fidel Toldrà et al (2010), *Handbook of Meat processing*. P 236, 237, 238. .)
- 76) FOURNAUD J. (1982). Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière. *Hygiène et technique de la viande fraîche*, CNERNA - Commission « viande et produits carnés » : 109 - 131.
- 77) Fournaud J., & Jouve J.L., « Viande 2000. Défi microbiologique », *Filière des viandes*, 1990, 133-141.
- 78) Fournaud J., (1982), Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière : In *hygiène et technologie de la viande fraîche*. Edition du C.N.R.S, pages: 109-119. Of British beef carcasses sample dprior to chilling, *Meat Sci.*, 50, p265- 271.
- 79) Frank Devlieghere, Lieve Vermeiren, Johan Debevere ,(2004,) *New preservation technologies: Possibilities and limitation*, Department of Food Technology and Nutrition, Laboratory for Food Microbiology and Food Preservation, Ghent University, Coupure Links 653, Ghent 9000, Belgium,p 274.
- 80) FREDOT.E, 2007.*Connaissances des aliments Edition :techniques et documentation* Lavoisier.p397

## G

- 81)** Geay Y., Bauchart D., Hocquette J-F., Culioli J. (2002). Valeur diététique et qualités sensorielles des viandes des ruminants. Incidence de l'alimentation des animaux. INRA Productions Animales, 15, 37-52.
- 82)** GH Zhou , X.L. Xu ,Y. Liu 2010, Science de la viande 86 , Meat Science 86, pp 119–128
- 83)** Ghafir Y., et Daube G., (2007) : Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Ann. Méd. Vét., 151: 79-100. 122. Gill C.O., et Newt
- 84)** GOUDIABY. (2005). Contribution à l'étude de la contamination superficielle des carcasses ovines. Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales
- 85)** Guillemain N., Cassar-Malek I., Hocquette J. F., Jurie C., Micol D., Listrat A., Levéziel H., Renand G. and Picard B., (2009) : La maîtrise de la tendreté de la viande bovine: Identification de marqueurs biologiques. INRA Productions Animales 22 (4): 331- 344.
- 86)** Guillen, M. D., Sopelana, P., & Partearroyo, M. A. (1997). Food as a source of polycyclic aromatic carcinogens. Reviews on Environmental Health, 12(3), 133-146.
- 87)** Guiraud J.-P., (2003), Microbiologie alimentaire. Dunod – RIA. p696.
- 88)** Guiraud J.P., (2003). Microbiologie Alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris.pp. 90-292.

## H

- 89)** Hamrouni et al, 2020, Les principaux extractibles du pin d'alep tunisien: leur propriétés physico-chimique, activités biologique et application p146-167
- 90)** Hanitriniaina Mamitiana ANDRIANINA, 2016, Emballage et durée de conservation des aliments, thème de mémoire, université Antananarivo
- 91)** Hayes, J.E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M.N., O'Brien, N.M., Kerry, J.P. (2009). The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. Meat Science, 83 (2), 201-208.
- 92)** HEINZ G., HAUTZINGER P., 2007. Meat processing technology for small to medium scale producers. FAO regional office for Asia and the pacific Bangkok, 2007. ISBN: 978-974-7946-99-4.
- 93)** Henri Dupin, Alimentation et nutrition humaines, ESF, 1992, 1533 p. ([ISBN 2-7101-0892-5](#)), p. 748 à 751.
- 94)** <https://www.meat-me.fr/>
- 95)** Hu L, Kopecko DJ. 2003. Campylobacter Species (181-198). In International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker: New York; 688p.

## I

- 96)** Interbew., (2005). Le point sur l'alimentation des bovins et ovins et la qualité des viandes Institut de l'Élevage (I. MOËVI). p 80, 98, 99, 101.

## J

- 97) James SJ, James C. 2000. Microbiology of refrigerated meat (3-19). In Meat Refrigeration. Wood head publishing limited and CRC press LLC: Cambridge England; 347p.
- 98) JEANTET .R., CROGUENNEC. T.,SCHUCK P.& BRULE .G .(2006).Traitement de stabilisation des aliments in Science des aliments, vol 1.Edition .Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- 99) Jorgensen F, Bailey R, Williams S, Henderson P, Wareing DR, Bolton FJ, Frost JA, Ward L, Humphrey TJ. 2002. Prevalence and numbers of Salmonella and Campylobacter spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. Int. J. Food Microbiol., 76: 151-164.
- 100) Jouve J.L., « Microbiologie alimentaire et filière viande », Viandes et Produits Carnés, 11, 1990, 207-213
- 101) Judd W.S., Campbell C.S., Kellog E.A., Stevens P. (2002). Relation phylogenetique entre les principaux groups de trachiophytes à l'exclusion des angiospermes «Spermatophytes non angiospermes ». In. «Botanique système ». Ed. De Boeck. Paris. ISBN :2-7445-0123-9.152
- 102) Julie Quaranta,2007, Etude de la fermentation d'une viande maigre après un traitement de Déshydratation Imprégnation par Immersion, Rapport de Stage en entreprise, Institut National Supérieur de Formation Agroalimentaire.

## K

- 103) Kadari A, 2012, Etude exploratoire des acides gras polyinsaturés des aiguilles de pin.Mémoire Master en chimie bio-organique et thérapeutique. Univ Abou Bekr Belkaid, Tlemcen., p (6-9).
- 104) KADIK B., (1987). Contribution à l'étude du pin d'Alep (Pinus halepensis Mill) en Algérie : Ecologie, Dendrométrie, Morphologie. Office des publications universitaires (Alger). 585p
- 105) Kadri, N., Khettal, B., Adjebli, A., Cresteil, T., Yahiaoui-Zaidi, R., Barragan- Montero, V. and Montero, J.L. (2014). Antiangiogenic activity of neutral lipids ,glycolipids , and phospholipids fraction of pinus halepensis Mill. Seeds. Industrial Crops and products. 54. 6-12)
- 106) Kalilou, S. (1997). Transformation traditionnelle de la viande en kilichi au Niger, optimisation des procédés (Thèse de Doctorat). Ecole nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, Montpellier, France, 137.
- 107) Kleih, U. (1995). Economic aspects of dried meat production and marketing in Nigeria. Report on a visit to Nigeria to study economic aspects of dried meat production and marketing, 35.
- 108) Kotroni, E., Simirioti, E., Kikionis, S., Sfiniadakis, I., Siamidi, A., Karalis, V., Vitsos, A., Vlachou, M., Ioannou, E., Roussis, V., 2019. In Vivo Evaluation of the AntiInflammatory Activity of Electrospun Micro/Nanofibrous Patches Loaded with Pinus halepensis Bark Extract on Hairless Mice Skin. Materials 12, 2596.).
- 109) Kraft K., Hobbs C. (2004) Pocket Guide to Herbal Medicine, Thieme, Stuttgart, New York. p16.
- 110) Krauss H., Weber A., Appel M., Enders B., Isenberg h.D., Schiefer H.G., Slenczka W., Von Graevenitz A., Zahner H., (2003) ,Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans. ASM Press: Washington, p456.

- 111) Kunkel D. 2004. Microscopy Inc. In What is *Yersinia enterocolitica*? EHA Consulting Group, Inc. Consulté le 09 Mai 2013 à l'adresse : <http://www.ehagroup.com/resources/pathogens/yersiniaenterocolitica>.

## L

- 112) L.M.Baryshnikova,etal.Biodegradation of Oil Products by Individual Degrading Strains and their Associations in Liquid Media,AppliedBiochemisty and Microbiology Volume 37,P463-468. [40].
- 113) Laleg A,2017. Contribution à l'étude de la productivité du pin d'Alep dans la forêt de Zariffet (Wilaya de Tlemcen). Mémoire Master en Foresterie. Univ Abou Bekr Belkaid, Tlemcen., p (4-11).
- 114) Larpent .J P., (1997).Microbiologie alimentaire, Technique de laboratoire. Editions Lavoisier, p 860-870.
- 115) Latifou et al., J. Appl. Biosci. 2017 Étude de la contamination de surface des carcasses de bovins dans la zone d'abattage de Kandi, Nord du Bénin, Journal of Applied Biosciences 114: 11388-11392, ISSN 1997-5902
- 116) Lawrie RA, Ledward DA. 2006. The spoilage of meat by infecting organism (157- 188). In Lawrie's Meat Science (7th edition). Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Cambridge CB1 6AH: England, Abington; 442p.
- 117) Lecerf J-M. (2014). La place de la viande dans la nutrition humaine. Viandes & Produits Carnés, VPC-2014-30-6-5.
- 118) Leistner, L. (1985). Hurdle technology applied to meat products intermediate moisture foods. In D. Simatos & J. L. Multon (Eds.), Properties of Water in Foods (309-329). Dordrecht, Pays-Bas : Martinus Nijhoff Publishers.
- 119) Letreuch-Belarouci N, (1991). Les reboisements en Algérie et leurs perspectives d'avenir. OPU, Alger, 2, pp .641.
- 120) LÜcke F.-K., (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Science.vol. 56, 105-115.

## M

- 121) M. Vennetier, C. Ripert, F. Brochiéro, Cyrille Rathgeber, O. Chandieux, et al;2010, Évaluation de la croissance du pin d'Alep en région méditerranéenne française. Revue forestière française, AgroParisTech, 2010 (5), 11 p.
- 122) Matthew JA, Carr J. 2012. Staphylococcus aureus. CDC Public Health Image Library. Consulté le 21 Avril 2013 à l'adresse: [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus\\_aureus\\_01 .jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_01.jpg).
- 123) Mc Millin, KW, Huang, NY, Ho, CP et Smith, BS (1999). Qualité et durée de conservation de la viande en emballage prêt à l'emploi sous atmosphère modifiée. Dans YL Xiong, F. Shahidi et CT)
- 124) Mead C. 2007. Microbiological Analysis of Red Meat, Poultry and Eggs. Published Woodhead Limited and CRC press, ambridge CB21 6AH, LLC: England; 335p.
- 125) Meziti Hicham, Hamama Bouriche, Seoussen Kada, Ibrahim Demirtas, Murat Kizil, Abderrahmane Senator, (2019), Phytochemical analysis, and antioxidant, anti-hemolytic and

Geno protective effects of *Quercus ilex* L. and *Pinus halepensis* Mill. methanolic extracts, *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 7 (4), pp.260-272.).

- 126)** Meziti, H. (2008). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Malva parviflora* L. Thèse de magistère. Département de Biologie. Université de FERHAT Abbas (Setif).
- 127)** Micol D., Jurie C., Hocquette J.-F. (2010). Qualités sensorielles de la viande bovine Impacts des facteurs d'élevage ? In : Bauchard D., Picard B., *Muscle et viande de ruminant*. Paris : QUAE, pp. 163-169.
- 128)** Mousset A. 2011. Salmonelles : émergence de multi-résistantes. *Procès Alimentaire, Magasine de l'industrie agroalimentaire*.
- 129)** Multon J L., (1984), Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro – alimentaires .3em Edition .p 3, 35,133-138.

## N

- 130)** Nahal I, (1962). Le pin d'Alep. Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Annales de l'école Nationale des Eaux et Forêts* .19 (4), pp.477-688
- 131)** NamA-M.,2014 : Contribution de la RMN 13C a l'analyse des huiles végétales, huiles essentielles et résines (*Olea europaea*, *Pinus halepensis* et *Cedrus atlantica*). *Chimie analytique*. Université Pascal Paoli, 2014. Français. <NNT : 377>.<tel-00978825>.177 pages
- 132)** NDIAYE M. L. (2002). Contribution à l'étude de la contamination microbiologique de la viande des volailles. Mémoire : Physique appliquée à la biologie. Dakar : 23.
- 133)** Nigro, H. (2016). Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits de • *Pinus halpensis*. Doctoral dissertation.
- 134)** Nina Sadou, Ratiba Seridi,Abdelghani Djahoudi,Youcef HadeF,2015,Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill, du Nord est Algérien, Annaba, Algérie.Synthèse30: 33-39
- 135)** NUBEL, 2017. Table belge de composition des aliments (6<sup>ème</sup> édition).

## O

- 136)** Ockerman, H. W., & Basu, L. (2004). Carcass chilling and boning. In J. Werner Klinth (Ed.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (pp. 144–149). Oxford: Elsevier
- 137)** OMS 2015, Cancérogénicité de la consommation de viande rouge et de viande transformée. 26Octobre 2015.

## P

- 138)** Pascal Chillet, LA PASTEURISATION, Opérations unitaires en génie biologique2, biologie technique, Collection dirigée par Joël Cnokaert – IA IPR Biochimie – Génie biologique Françoise Guillet – IGEN Biotechnologies et secteur médico-social, pp19 , CNDP CRDP.
- 139)** Pascal. Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé N° d'ordre : 406.Pp 11-23.
- 140)** Pierre QUEZEL . et Marcel BARBERO, ( 3 juille 1992)le pin d'Alep et les espèces voisines: répartition et caractères écologiques , , generaux, sa dynamique récente en France méditerranéenne
- 141)** Pole Aquimer, (2010). Le fumage du viande. Procédé de transformation et conservation, Technologie, p 2.3.9.10.11)

- 142)** Promeyrat A., (2013) : Analyse et modélisation des mécanismes à l'origine des modifications des protéines lors du chauffage du tissu musculaire. Thèse En vue de l'obtention du grade de docteur d'université en sciences des aliments. Université Blaise Pascal. Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé N° d'ordre : 406.Pp 11-23.
- 143)** Pseudomonas Genome Database: improved comparative analysis and population genomics capability for Pseudomonas genomes. *Nucleic Acids Res.*, 39: 596- 600.

## Q

- 144)** Quezel pierre . Et Marcel BARBERO, ( 3 juillet 1992)le pin d'Alep et les espèces voisines: répartition et caractères écologiques , , generaux, sa dynamique récente en France méditerranéenne

## R

- 145)** Reichl, F.X., (2004), Guide pratique de toxicologie, trad. Robert Perraud et Eduard Krahe, 2ème éd., De Boeck, Bruxelles, 368 p.
- 146)** Rémond D., Peyron M. A., et Savary-Auzeloux, I. (2010). Viande et nutrition protéique. In *Muscle et viande de ruminants*. Versailles: Bauchart, D. & Picard, B. (QUAE :Synthèse ed., pp. 255-266).
- 147)** RENAND G., HAVY A., TURIN F., 2008. Caractérisation des aptitudes bouchères et qualités de la viande de trois systèmes de production de viande bovine à partir des races rustiques françaises Salers, Aubrac et Gasconne. *INRA Prod. Anim.*, 15 (3), 171-183.
- 148)** Robin-Browner.M., Hartland E.L., Miliotis M.D., Bier J.W. (Ed.) (2003), *Yersinia species*. In: *International handbook of food borne pathogens*. Marcel Dekker: New York, p323-355.
- 149)** Romain J., 2006 . *Science des aliments, biochimie, microbiologie procédés, produits : ROSSET .P.ANNIE BEAUFORT.,MARIE CORNU.,POUMEYREL.G.,2002.La chaine du froid en Agroalimentaire 1p.)*
- 150)** Rosset R, Lameloise P, Dumont B. 1984. Microbiologie de la viande (131-189). In *Les Viandes*. SOCOA : Paris ; 645p.
- 151)** ROSSET R., ROUSSEL-CIQUARD N., (1982) : Conséquences hygiéniques des flores microbiennes contaminant la viande : la putréfaction. In : *Hyg. et Tech de la viande fraîche*, Paris : éd CNRS, pp 137-139.
- 152)** ROSSET R., ROUSSEL-CIQUARD N., (1985) : Les méthodes de stabilisation de la flore microbienne : la congélation. In : *Hyg. et Tech de la viande fraîche*, Paris : éd CNRS, pp 169-175.

## S

- 153)** SALIFOU,C.F.A ,BOKO, K.C , AHOUNOU, G.S ,TOUGAN P.U , KASSA, S.K , HOUAGA,I , FAROUGOU,S , MENSAH, G.A , A, CLINQUART et YOUSSAO, A.K.I, Juin 2013, Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(3): 1351-1369 ISSN 1991-8631
- 154)** Sandri I.G., Zacaria J., Fracaro F., Delamare A.P.L. et Echeverrigaray S., 2007. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against food borne pathogens and spoiling bacteria, *Food Chemistry*, Vol. 103, 823-828.

- 155)** Scheffler T.L., Gerrard D.E., (2007). Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Science*, 77, 7-16.
- 156)** Seigue A., (1985). *Le foret circumméditerranéen et ses problèmes*. Ed Maisonneuve et Larose, paris,502p
- 157)** Servili, M., Selvaggini, R, Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G., Morozzi, G., (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of chromatography*. 1054, p.113.)
- 158)** SUDHAKAR G., BHANDARE., PATURKAR A.M., WASKAR V.S. and ZENDE R.J. (2009). Bacteriological screening of environmental sources of contamination in an abattoir and the meat shops in Mumbai, India, 2(3): 277-287.

## T

- 159)** Talbi Sarra, 2019, Contribution à l'étude du dépérissement du pin d'Alep *Pinus halepensis* Mill. (Symptôme, cause et traitement) cas de la forêt de Draa El-Aoud à Mecheria (Wilaya de Naâma)
- 160)** Terlouw C., Bourguet C., Cassar-Malek I., Deiss V., Lerbret B., Lefevre F. et Picard B., (2012). Stress à l'abattage et qualités des viandes : Les liens se confirment. *Viandes et Produits Carnés*, Numéro Hors série 135-142.
- 161)** TESFAY K., BERIHUN A., HABTAMU T., ABRHA B. (2014). Assessment of Bacteriological. Quality of Sold Meat in the Butcher Shops of Adigrat, Tigray, Ethiopia. *Applied Journal of Hygiene*, 3 (3): 38-44. Tlemcen., p (4-11). Tlemcen., p (6-9).
- 162)** TOME D., 2008. Qualité nutritionnelle des protéines de la viande. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, Vol 43, N°HS1 - mai 2008, pp. 40-45.
- 163)** Touraille, C. (1994). Effect of muscle characters on organoleptic traits in meat. *Rencontres Recherches Ruminants*, 1, 169-175.

## U

- 164)** Ulmer K., Herrmann K., Fischer A., (2004). Meat products from camel meat. In: Farah Z., Fischer A. (Eds). *Milk and meat from the camel*. Vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zurich, ETH Zentrum, Zurich, 137-228.

## V

- 165)** Vangelis Karalis, Andreas Vitsos, Marilena Vlachou, Efstathia Ioannou, Vassilios Roussis et
- 166)** Veiseth. E, Shackelford S.D; Weeler T.L; Koohmaraei. M, (2001), Comparaison of myofibril fragmentation index from fresh and frozen pork and lamb *langissimus.j* ; *Anim ; Sci* 79, 904-906.
- 167)** Ventura Lucas M. R., (2002) "The perception of traditional sausage products by the consumers". *New Medit*, Vol., n02.
- 168)** Vierling E., (2008). *Aliments et boissons : filières et produits*. France : Editions Doin.

## W

- 169)** Wang. L, C. L. Waller, (2006), Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, Trends in Food Science & Technology, 17, pp. 300 – 312.
- 170)** Winsor GL, Lam DK, Fleming L, Lo R, Whiteside MD, Yu NY, Hancock RE, Brinkman FS. 2011.

## Y

- 171)** Yacouba, I. (2010). Analyse des techniques traditionnelles de transformation de la viande en Kilichi dans la commune urbaine de Madaoua (république du Niger), 51.
- 172)** Yasmina Sultanbawa (2015) Plant Extracts as Natural Antimicrobials Oils in « Microbial Food Safety AND Preservation Techniques» edited by V. Ravishankar Rai and Jamuna A. Bai. Taylor & Francis Group, an informa business, Boca Raton: 373-382.

## Z

- 173)** Zarai Z., Kadri A., Ben Chobba I., Ben Mansour R., Bekir A., Mejdoub A. et Gharsallah N., 2011. The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of Marrubium vulgare L. essential oil grown in Tunisia, Lipids in Health and Disease, Vol.10, 161.
- 174)** Zeithmal Valarie. A, (1988)"Consumer perception of price, quality, and value: a means - end model and synthesis of evidence" . Journal of marketing, vol. 52, Pp 2-22
- 175)** Ziane R., 2007. Physiologie. Chapitre Le muscle et son fonctionnement, page,(4.) 1ère édition. [caratome.free.fr/Formations/FCun/Physio5.pdf](http://caratome.free.fr/Formations/FCun/Physio5.pdf). IN ZGHILET P5.