

N° Ref :

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Étude de l'effet de l'addition de l'extrait de myrte
pour la bioconservation du lait bovin**

Présenté par :

- DJEBLI Amira
- BENSLIMANE Amira
- BENHAMADA Aya

Devant le jury composé de :

Président : Dr. KENNOUCHE Salah (M.C.B)

Examinatrice : Dr. BOUCHEKRIT Moufida (M.C.A)

Promoteur : Dr. BOUTELLAA Saber (M.C.A)

Année Universitaire : 2022/2023



Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et le miséricordieux, qui nous a aidé et nous a donné la force, le courage et la patience pour accomplir ce travail.

En préambule à ce mémoire, nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

*Nous tenons à remercier sincèrement **Dr Saber Boutellaa**, qui en tant que encadreur et directeur de mémoire, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, pour son encouragement, ses conseils précieux, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer, et **Mr Salah Kennouche**, Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire et d'avoir accepté présider le jury, Nos remerciements pour **Mme Bouhekrit Moufida** pour son aide, ses conseils avisés et précieux. Nous tenons à remercier Mademoiselle **Benfadel Randa** pour son aide et son encouragement, et **Mr Abdelhafid Boubendir** qui nous fait le grand soutien d'évaluer ce travail. Un merci tout particulier à nos familles qui nous ont soutenu et encouragée depuis toujours.*





Dédicace

C'est avec grande plaisir que je dédie ce travail :

*A mes chers parents **Noureddine** et **Hafida**, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études. Votre présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. A mes très chères sœurs **Amani**, **Lamis** et ma cousine **Dr Djouhaina** aussi à mes chers frères, pour leur appui, leurs encouragements permanents et leur soutien tout au long de mon parcours universitaire. Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible. Merci d'être toujours là pour moi. A ma chère amie **Amira**. A **Nawel** et **Douaa** et tous mes amis de promotion de 2ème année Master BIOCHIMIE APPLIQUEE. A tous mes enseignants du long d'études universitaires, Je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite.*

Amira Dj



Dédicace

Avec toute ma gratitude et de tout mon cœur, je dédie ce modeste travail :

*À mes parents, **Foudil** et **Hassina**, pour tout leur amour, leur soutien et leurs sacrifices tout au long de mon parcours universitaire, et particulièrement cette année, pour chaque mot qui m'a poussé à mettre en œuvre mon projet. Il n'y a pas de mots pour décrire à quel point je vous aime et à quel point je vous remercie tous les deux.*

*A ma seul sœur **Douaa**, qui m'a toujours soutenue et motivée. Merci, fleur de mon cœur.*

*A mes trois frères **Hassan**, **Wael** et **Sami**, pour m'avoir apporté tout leur soutien, leur force et leur amour.*

*A tous mes amis, chacun en son nom, à tout votre amour. A ma chère amie dans ce métier, **Amira**. A tous mes amis et à tous ceux qui me connaissent.*

*À la plus belle des filles, **Randa**, qui m'a soutenu tout au long de la réalisation de ce travail.*

Enfin, je dédie ce travail à tous ceux qui me connaissent et qui ont eu une journée de soutien pour moi. Merci beaucoup

Amira



Dédicace

Je dédie ce travail : A mes parents, Mes sœurs, mes frères, mes amis, et a ceux, qui me sont chers.

AYA

Table des matières

Liste des abréviations.....	1
Liste des figures	1
Liste des tableaux	1
Introduction	1
Partie Bibliographique	1
Chapitre I	2
Description de la plante en étude	2
1. Généralités sur les Myrtacées.....	4
2. Genre <i>Myrtus</i>	4
3. Description botanique de <i>Myrtus communis</i>	4
4. Répartition géographique du myrte commun	6
5. Composés phénoliques de <i>Myrtus communis</i> L.....	7
6. Domaine d'utilisation	12
6.1. Application traditionnelle	12
6.2. Utilisation industrielle	13
7. Activités biologiques.....	13
7.1. Activité antibactérienne	13
7.2. Activité antivirale.....	18
7.3. Activité antioxydante	18
8. Utilisation de Myrte dans la bioconservation des aliments.....	19
8.1. Bioconservation	19
8.2. Bioconservation des aliments par Myrte	19
Chapitre II	21
Lait cru de vache et Méthodes de conservation	21
1. Définition du lait.....	21
2. Importance nutritionnelle du lait.....	21
3. Composition du lait de la vache	22
4. Propriétés physico-chimiques du lait :	22
5. Place du lait dans l'alimentation humaine	23
6. Qualité du lait cru.....	23

6.1 Qualité Organoleptique	23
6.2 Qualité microbiologique	24
7. Méthodes de conservation du lait.....	28
7.1 Méthodes thermiques	28
7.2 Méthodes de refroidissements.....	29
7.3 Bioconservateurs	29
8. Hygiène générale de la production du lait.....	30
9. Evolution de croissance bactérienne	30
9.1 Courbe de croissance bactérienne	31
9.2 Paramètres de croissance bactérienne	33
Partie.....	34
Expérimentale	34
Chapitre III.....	35
Matériel et Méthodes	35
Matériel et Méthodes	34
1. Matériel végétal	34
1.1 <i>Myrtus communis</i>	34
1.2. Préparation de matériel végétal.....	34
2. Etalonnage d'acide gallique.....	37
3. Dosage des polyphénols.....	37
3.1. Principe	37
3.2. Mode opératoire	37
4. Dosage des flavonoïdes	38
4.1. Principe	38
4.2. Mode opératoire	38
5. Evaluation de l'activité antibactérienne	39
5.1 Préparation des milieux de culture	39
5.2. Préparation des disques.....	40
5.3. Micro- organismes utilisés.....	40
5.4. Méthode de diffusion en milieu.....	41
5.5. Lecture des résultats	41

6. Suivie de la cinétique de croissance bactérienne des FTAM du lait cru bovin	41
6.1. Échantillonnage du lait	42
6.1.1 Site de prélèvement	42
6.1.2 La Vache d'étude	42
6.1.3 Prélèvement	43
6.2.1 Préparation d'une solution mère	43
6.2.2 Préparation des dilutions décimales	44
6.3. Dénombrement de la flore totale mésophile (FTAM)	44
Chapitre IV	46
Résultats et discussion	46
Résultats et discussion	46
1. Aspect et rendement d'extraction	46
2. Teneur en composés phénoliques totaux et flavonoïdes	46
3. Activité antibactérienne	50
4. Evolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré	56
4.1. Cinétique de croissance de la flore totale aérobie mésophile	56
4.2. Détermination des paramètres cinétiques de la croissance bactérienne	59
Conclusion	65
Références bibliographiques	70
Résumé	85

Liste des abréviations

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

APG : Angiosperm Phylogeny web site.

ATB : Antibiotique.

BL : Bactéries Lactiques.

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

E.hydroéthanolique : Extrait hydroéthanolique.

EM : Extrait méthanolique.

EtOH ; Ethanol.

F.C : Folin Ciocalteu.

FTAM : Flore Totale aérobie Mésophile.

G : Le temps de génération.

GMH : Gélose Mueller Hinton.

GN : Gélose nutritive.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane.

Lag : Temps de latence.

M. communis : *Myrtus communis*.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaCO₃ : Carbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

UFC : Unité formant colonie.

X : Densité cellulaire.

X₀ : Densité cellulaire initiale.

X_{min} et X_{max} : Densités cellulaires minimales et maximales.

ZI : Zone d'Inhibition.

μ_{max} : Taux de croissance maximale.

Liste des figures

Figure 01 : Distribution géographique de Myrte dans l'Algérie	6
Figure 02 : Composition globale et minérale du lait de vache en (g/l)	22
Figure 03 : Courbe de croissance généralisée d'une culture bactérienne	31
Figure 04 : Phases principales des croissances bactériennes et les paramètres qui les caractérisent.....	32
Figure 05 : Feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.....	35
Figure 06 : Protocole de préparation d'extrait hydroéthanolique de <i>M.communis</i>	36
Figure 07 : Site de prélèvement.....	39
Figure 08 : Préparation de milieu de culture Gélose nutritive.	39
Figure 09 : Préparation de milieu de culture Gélose Mueller-Hinton.....	40
Figure 10 : Préparation de l'eau physiologique.	40
Figure 11 : Ajout d'extrait Myrtus au lait.....	43
Figure 12 : Préparation des séries de dilutions.....	44
Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	47
Figure 14 : Teneur en composés phénolique totaux et flavonoïdes d'extrait de <i>M. communis</i>	48
Figure 15 : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes.	50
Figure 16 : Photos représentant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne de <i>M. communis</i>	52
Figure 17 : Flore totale sur gélose nutritive.	57
Figure 18 : Evolution de la croissance microbienne de la flore totale cultivable du lait cru stocké à 4°C additionné de l'extrait de <i>M. communis</i> à C1=10 mg/mL (model de Baranyi et Roberts) avec et sans modalisation.	58
Figure 19 : Evolution de la croissance microbienne de la flore totale cultivable du lait cru stocké à 4°C additionné de l'extrait de <i>M. communis</i> à C2=5 mg/mL (model de Baranyi et Roberts) avec et sans modalisation.....	58
Figure 20 : Evolution de la croissance microbienne de la flore totale cultivable du lait cru stocké à 4°C additionné de l'extrait de <i>M. communis</i> à C3=2,5 mg/mL (model de Baranyi et Roberts) avec et sans modalisation.....	58

Figure 21 : Effet de l'ajout d'extrait de <i>M. communis</i> au lait cru stocké à 4°C sur le temps de génération (G).	60
Figure 22 : Effet de l'ajout d'extrait de <i>M. communis</i> au lait cru stocké à 4°C sur la vitesse maximale de croissance μ max.....	60
Figure 23 : Effet de l'ajout d'extrait de <i>M. communis</i> au lait cru stocké à 4°C sur le Niveau maximal de croissance X max.....	60

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification phylogénétique de <i>Myrtus communis</i> L.	5
Tableau 02 : Classes de composés d'extraits de <i>Myrtus communis</i> L leurs bioactivités et leur contenu dans différentes parties de la plante.....	8
Tableau 03 : Diamètre moyen (mm) des zones d'inhibitions des extraits éthanolique, aqueux et méthanoliques de <i>Myrtus communis</i> pour certaines régions.	16
Tableau 04 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits éthanolique, aqueux et méthanoliques de <i>Myrtus communis</i> pour certaines régions.	17
Tableau 05 : Propriétés physico-chimiques du lait de vache	22
Tableau 06 : Qualité organoleptique du lait.....	24
Tableau 07 : Teneurs en composés phénoliques totaux et flavonoïdes dans l'extrait.	47
Tableau 08 : Activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de <i>M.communis</i>	51
Tableau 09 : Valeurs des paramètres de croissance bactériennes de la flore totale de lait (obtenu par Modèle Baranyi et Roberts de données de comptage moyen de bactéries viables totales).	59

Introduction

Introduction

Actuellement, la conservation et la sécurité des aliments sont la principale préoccupation des consommateurs et des producteurs d'aliments (**Devi et al., 2015**). La conservation des aliments est largement liée à la qualité et à la sécurité du produit alimentaire. C'est un enjeu crucial pour prévenir les maladies d'origine alimentaire, qui sont graves et coûteuses. Les aliments sont également conservés en ajoutant des conservateurs chimiques (**Nath et al., 2014**). Ces techniques traditionnelles de conservation peuvent représenter des risques pour la santé, altérer la sensorialité des aliments et entraîner la perte de certains éléments nutritifs. Ainsi, les techniques de bio-conservation semblent plus pratiques pour améliorer la qualité et la sécurité des aliments. En effet, la recherche d'agents antimicrobiens naturels ayant une activité antimicrobienne significative a reçu une attention considérable pour améliorer la qualité et la durée de conservation d'un produit alimentaire (**Lin & Pan, 2017**). L'application des LAB et/ou de leurs métabolites pour prolonger la durée de conservation des aliments est connue sous le nom de bio-conservation des aliments (**Khalil et al., 2021**).

Le lait est une denrée essentielle pour l'alimentation humaine et un fluide biologique obtenu à partir de mammifères, principalement des vaches laitières. Comme il s'agit d'un aliment complet qui contient les principaux nutriments nécessaires au développement, Les pays doivent donc assurer une production adéquate et prendre toutes les mesures appropriées pour nourrir et soutenir leurs troupeaux (**Kacimi El Hassani, 2013**). Traditionnellement, le lait de vache a été considéré comme un aliment de base dans de nombreux régimes alimentaires. Le lait est une boisson saine et la consommation de produits laitiers est associée à la qualité globale de l'alimentation. Le lait fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels tels que des minéraux, des vitamines et des protéines faciles à digérer avec des profils d'acides aminés équilibrés, et est donc important pour soutenir la fonction globale du corps. Avec les céréales, les viandes, les légumes et les fruits, les produits laitiers sont considérés comme des aliments riches en nutriments, c'est-à-dire qu'ils fournissent de nombreux nutriments avec une teneur énergétique relativement faible et qu'ils sont pertinents pour la santé tout au long du cycle de vie (**Steijns, 2008**).

Les méthodes de conservation vont de la conservation cryogénique telle que la réfrigération et la congélation aux méthodes de conservation par la chaleur telles que la pasteurisation, la stérilisation et la conservation avec certains produits chimiques. C'est la

journée de la conservation moderne des techniques telles que la bioconservation, Cette dernière est une technique de conservation des aliments dans laquelle le potentiel antimicrobien d'organismes naturels et de leurs métabolites est exploité. Il est capable d'harmoniser et de rationaliser les normes de sécurité nécessaires avec les moyens traditionnels de conservation et la demande moderne de la sécurité et de la qualité des aliments. Les techniques de bioconservation de divers aliments reposent principalement sur la qualité des systèmes antimicrobiens biologiques tels que les bactéries lactiques (BL) et/ou leurs bactériocines, bactériophages et enzymes codées bactériophages. Ils sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire pour obtenir une texture et une saveur typiques des produits alimentaires. Ils sont utiles pour maintenir la qualité et la sécurité des aliments et sont des bio-conservateurs courants dans le monde industrialisé (**Singh, 2018**).

Plusieurs méthodes de conservation ont été développées pour assurer la sécurité microbienne des aliments, ainsi que les valeurs nutritionnelles et les caractéristiques sensorielles des aliments. Ces procédés ont parfois des effets indésirables sur les aspects nutritionnels et/ou organoleptiques des aliments ; les conservateurs synthétiques sont bien connus pour causer des problèmes de santé tels que des réactions allergiques : les nitrates, les benzoates, les sulfites, les sorbates, le formaldéhyde et les antioxydants phénoliques en sont de bons exemples (**Pisoschi et al., 2018**). L'utilisation de conservateurs alimentaires antimicrobiens naturels - la bioconservation - pourrait garantir la sécurité et la qualité des aliments en tant qu'alternative à d'autres systèmes de conservation tels que les systèmes chimiques ou thermiques (**Gyawali et al., 2014**). La bioconservation utilise des conservateurs naturels contre un nombre élevé de micro-organismes pathogènes liés à l'alimentation ; ces conservateurs sont obtenus à partir d'animaux, de plantes, de bactéries, ainsi que de champignons, d'algues et de virus (**Quinto et al., 2019**).

Les herbes et les épices contiennent la plupart des antimicrobiens dérivés de plantes (**Negi et al., 2012**) Ces composés ont différentes configurations structurales, ayant différentes actions antimicrobiennes contre les agents pathogènes d'origine alimentaire (**Savoia et al., 2012**). L'intérêt croissant pour l'utilisation d'extraits antimicrobiens dérivés de plantes est dû à la nécessité de réduire l'utilisation d'additifs synthétiques dans les aliments (**Mendonca et al., 2018**) . La capacité antioxydante rejoint généralement les caractéristiques antimicrobiennes de ces produits naturels ; les deux propriétés réunies dans une seule molécule rendent le composé encore plus efficace (**Pisoschi et al., 2018**).

Myrtus communis L., connu sous le nom de myrte, est un arbuste aromatique à fleurs qui pousse dans la région méditerranéenne (Aleksic et Knezevic, 2014). Le myrte a été largement utilisé dans les industries pharmaceutiques et alimentaires en raison de sa forte teneur en ingrédients bioactifs (Ghafouri et al., 2018). Cette plante possède également des propriétés astringentes, anti-inflammatoires, anti-hémorroïdaires, anti-maladies de la peau, anti-douleur, anti-infertilité, antibactériennes, antifongiques, antioxydantes. Selon la littérature, les feuilles broyées de cette plante sont ajoutées au beurre ou à la pommade à l'huile (Sisay et al., 2017). La décoction de feuilles de myrte était mélangée à du lait de chèvre et chauffée sur du charbon de bois. Les feuilles de myrte sont utilisées comme boisson courante, comme le thé vert (Hayedeh et al., 2023).

Dans ce contexte, Ce travail en cours sur la recherche de nouvelles substances naturelles d'origine végétale à activité antibactérienne ont été adaptés en évaluant l'effet antibactérien d'extrait de *Myrtus communis* (extraits hydroéthanoliques) contre les bactéries pathogènes. Nous étudions la possibilité d'utiliser cet extrait comme conservateur naturel du lait cru de vache.

Pour atteindre cet objectif, nous avons divisé le travail en deux parties. Le premier chapitre décrit des notions essentielles à la compréhension de nos travaux (informations importantes sur les espèces étudiées, activité antimicrobienne et bioconservation). Le chapitre 2 contient des informations sur le lait cru de vache. La deuxième partie est réservée aux études expérimentales et est divisée en deux chapitres. Le premier chapitre présente les méthodes et techniques utilisées pour mener à bien cette tâche, et le deuxième chapitre consiste en une analyse des résultats obtenus et une discussion de ceux-ci.

Partie Bibliographique

Chapitre I

Description de la plante en étude

1. Généralités sur les Myrtacées

La famille des Myrtacées comprend environ 140 genres et plus de 3.000 espèces dont un grand nombre est aromatique. L'aspect général des plantes de cette famille va du petit arbuste à l'arbre de très grande taille (jusqu'à 120 mètres de haut pour certains eucalyptus). C'est l'une des espèces aromatiques et médicinales les plus importantes des Myrtacées avec une haute teneur en huile essentielle dans ses glandes à feuilles, fleurs et fruits (**Fadil et al., 2017**). Traditionnellement, les feuilles et les baies de *Myrtus communis*, dont les anthocyanes, les flavonoïdes et les acides gras sont les principaux composés phytochimiques des baies, étaient largement utilisées dans les aliments pour aromatiser, et comme décoction ou infusion pour traiter plusieurs maladies humaines (**Yangui et al., 2021**). Toutes les espèces sont boisées et contiennent des huiles essentielles ou aromatiques, les feuilles sont sempervirentes, simples et disposées de manière alternée ou opposée. Les fleurs sont composées de 5 pétales, mais certaines espèces en sont dépourvues. Les étamines sont généralement très voyantes avec des couleurs vives (**Saint vectorian, 2021**).

2. Genre Myrtus

Environ 100 espèces (Afrique du nord, Europe, Amérique, Antilles, Nouvelle-Zélande). Plantes ligneuses à feuilles opposées, entières. Fleurs blanches ou roses, solitaires et axillaires, ou en cymes axillaires, pauciflores. 4-5 sépales, 4-5 pétales, étalés. Étamines nombreuses, dépassant les pétales, à filet bien distinct du connectif. Ovaire infère à 2-3 loges, imparfaitement séparées. Fruit en baie à nombreuses graines (**Migliore, 2011**).

Le genre *Myrtus* appartenant à la grande famille des Myrtaceae est le seul genre qui soit localisé aussi bien en Méditerranée qu'au Sahara, représenté par deux taxons, lesquels, *myrtus communis* a une distribution méditerranéenne, puisqu'il s'étend en Macaronésie (Açores et Madère), mais aussi en zone irano-touaranie, et même en Asie et le myrte de Nivelle, *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Qui s'éloigne des rives de la méditerranée de 1000 km. Il est réparti uniquement au Sahara retrouvé en Algérie méridionale (Hoggar, Tassili N'Ajjer, Tassili N'Immidir et Tefedest) et au Tchad (Tibesti) (**Migliore et al., 2012**).

3. Description botanique de *Myrtus communis*

Le myrte est une plante typique des maquis secs et ensoleillés de l'île de beauté, la Corse. On le retrouve éventuellement au Maroc et au sud de la Turquie.

Myrtus communis fait naturellement un arbuste aux branches et au feuillage dense, dressé, haut. Il préfère pousser dans le bois, le maquis et au bord des chemins, est un arbuste diploïde typique de la flore méditerranéenne ($2n = 2x = 22$) (Messaoud *et al.*, 2011). Il mesure de 1.8 à 2.4 m de hauteur (Aleksic *et al.*, 2014). C'est un arbrisseau à tige assez régulière, toujours vert, à écorce rousse, exhalant par toutes ses parties un parfum très frais, fort agréable (González-Varo *et al.*, 2009).

Ses feuilles sont opposées et aromatique, mesurent 2 à 5 cm. Chaque feuille possède un grand nombre de cavités sécrétoires qui sont situées sur l'épiderme et réparties aussi dans tous les organes floraux (Kalachanis *et al.*, 2005). Les fleurs s'épanouissent longuement en été, isolées à l'aisselle des feuilles. Elles sont petites, larges de 1 à 2 centimètres, Cette fleur bien blanche ou rose et lumineuse. Le fruit est une baie ovale, de couleur noir-bleuâtre ou blanche, avec une chair blanche âpre et astringente sous la peau. Les lobes libres des sépales sont devenus bleus et se sont repliés vers l'intérieur. (Kalachanis *et al.*, 2015).

Nous allons nous référer à la classification APG, qui est une classification botanique des Angiospermes (Angiosperm Phylogeny web site) elle est basée sur des études moléculaires. Des séquences de fragments d'ADN sont comparées permettant de mettre en évidence des parentés génétiques. La plus récente des classifications établies par le groupe Angiosperms Phylogeny Group est la classification APG III datant de 2009, Cette classification est basée sur deux gènes chloroplastiques et un gène nucléaire de ribosome (Tableau 01).

Tableau 01 : Classification phylogénétique de *Myrtus communis* L (Benoît Bock *et al.*,).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Clade	- Dicotylédones vraies - Eudicotylédones supérieurs - Rosidées - Eurosidées ou Malvidées
Classe	magnoliopsida
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacées
Genre	Myrtus
Espèce	<i>Myrtus comminus</i> L

4. Répartition géographique du myrte commun

Le myrte commun est distribué spontanément dans toutes les régions circumméditerranéennes, d'Amérique du sud, du Nord-Ouest de l'Himalaya, de l'Australie et du Nord-Ouest de l'Inde (**Wahid, 2013**). Et même, peut-être, en Asie. La distribution horizontale très large de cette espèce peut être expliquée par le résultat de l'interaction des variations de différents facteurs du milieu, et la variabilité génétique au sein des populations de l'espèce en pleine évolution. Cette herbe pousse spontanément Iran, Espagne, France, Grèce, Turquie, Algérie, Maroc, Croatie et Monténégro (**Verica Aleksic et al., 2013**).

L'Algérie est un pays doté d'un patrimoine floristique très diversifié, particulièrement dans le domaine des plantes aromatiques. Un exemple illustratif de l'importance de la richesse de la flore est le myrte commun, une espèce phare répartie sur tout le pourtour méditerranéen en nord-est d'Algérie, parfois dans des zones reculées, il est commun dans les maquis et les forêts du Littoral et pousse spontanément sur l'Atlas tellien et les régions côtières d'Alger, de Constantine, Msila, Annaba, Jijel, Mila, Elkala, Tlemcen et Skikda. Il existe aussi un autre espèce c'est le *Myrtus nivellei* est considéré comme une espèce de désert se trouve dans le Hoggar et le Tassili (**Quézel et Santa., 1963**) (**Figure 01**).

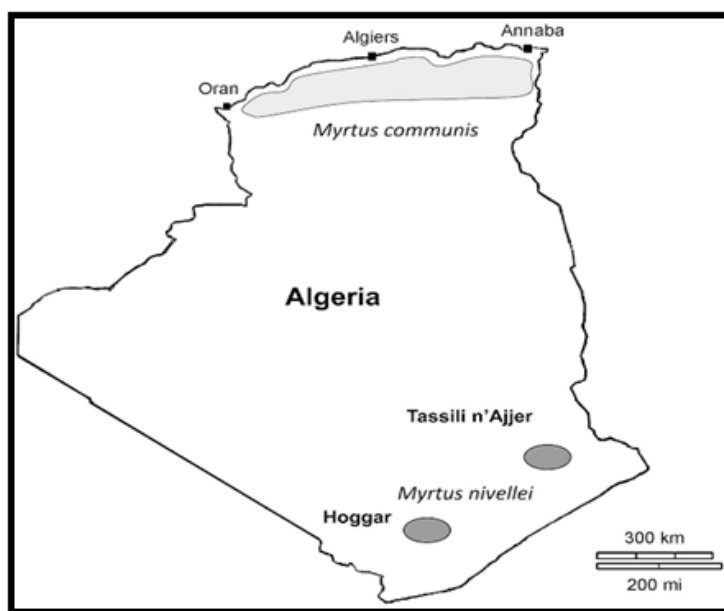


Figure 01 : Distribution géographique de Myrte dans l'Algérie (**Bouzabata et al., 2017**).

5. Composés phénoliques de *Myrtus communis* L.

Le profil des extraits de *M. communis* L. constitue des composés polyphénoliques, qui sont regroupés en trois grandes classes chimiques : les acides phénoliques, les tanins et les flavonoïdes (tableau 2). Les acides phénoliques les composants des extraits de *M. communis* L. sont l'acide gallique, caféique, syringique, vanillique et férulique (**Aidi Wannes et al., 2010**).

Les flavonoïdes présents dans les extraits de myrte sont la myricétine, la quercétine, la catéchine et leurs dérivés. Certains des dérivés de la myricétine et de la quercétine (flavonols) présents dans les extraits de myrte sont la myricétine-3-d-galactoside, la myricétine-3-d-rahmnoside, la quercétine-3-rutinoside, la quercétine-3-d-rahmnoside, quercetin-3-D-galactoside et les dérivés de la catéchine (flavanols) (**Aidi Wannes et al., 2010**).

La composition des extraits peut varier considérablement en fonction de l'organe végétal utilisé pour l'extraction (**Tuberoso et al., 2010**).

Amensour et al. (2009) ont montré que les extraits de feuilles contiennent une quantité significativement plus élevée de composés phénoliques totaux que les extraits de baies.

Yoshimura et al. (2008) ont identifié dix composés phénoliques de la feuille de myrte, dont quatre tanins hydrolysables (oenothéine B, eugéniflorine D2, tellimagrandines I et tellimagrandines II), deux composés polyphénoliques apparentés (acide gallique et acide quinique 3,5-di-O-gallate), et quatre flavonols (myricétine 3-O- β -d-xyloside, myricétine 3-O- β -d galactoside, myricétine 3-O- β -d-galactoside 6-O-gallate et myricétine 3-O- α -l-rhamnoside).

La teneur en phénols totaux, en tanins, en flavonoïdes et en proanthocyanidines varie selon les parties du myrte. Selon **Aidi Wannes et al., (2010)**, la feuille et la fleur sont particulièrement riches en tanins totaux. Étant donné que les proanthocyanidines sont faiblement présentés, les auteurs ont suggéré que les tanins des feuilles et des fleurs appartiennent à la classe des tanins hydrolysés. Cependant, ils ont estimé que la tige de myrte est pauvre en tanins et moyennement riche en flavonoïdes (catéchine). Les flavonols et les flavanols dans les feuilles de *M. communis* L. sont détectés en quantités relativement importantes (**Aidi Wannes et al., 2010**).

À l'exception des parties de la plante de myrte, la composition finale de l'extrait dépend également du solvant d'extraction utilisé pour la préparation de l'extrait, principalement en raison de sa polarité (**Lapornik et al., 2005**). Les solvants les plus couramment utilisés pour la préparation de l'extrait de myrte sont l'eau, l'alcool (méthanol ou éthanol), l'acétate d'éthyle, l'éther diéthylique et le chloroforme. **Tuberoso et al., (2010)** ont prouvé que les extraits d'éthanol et d'eau présentaient une quantité plus élevée de composés extraits par rapport aux extraits d'acétate d'éthyle, mais les activités antiradicalaires et antioxydants les plus élevées ont été trouvées dans les extraits d'éthanol et d'acétate d'éthyle. Selon eux, les extraits d'éthanol ont la plus haute teneur en composés phénoliques. De plus, leurs résultats ont montré une corrélation hautement significative entre la quantité de phénols totaux et les activités antiradicalaires ou antioxydants des extraits de feuilles de myrte. Les baies du myrte contiennent 74,1% de gras insaturés acides gras et 25,7% d'acides gras saturés, qui sont principalement 72,1% d'acide oléique et 15,7 % d'acide palmitique (**Ghasemi et al., 2011**).

Selon cela, il est important de comparer et d'explorer la variance de la composition en phénol de divers extraits de myrte, car cette répartition hétérogène des substances bioactives entraîne la variabilité de leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes potentielles (**Verica Aleksic et al., 2013**) (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Classes de composés d'extraits de *Myrtus communis* L, leurs bioactivités et leur contenu dans différentes parties de la plante.

Origine de la plante	Classe chimique	Partie de la plante étudiée (Nature de l'extrait)	Composés major	Bioactivité	Références
Nord Est de la Tunisie	Acide phénolique	Feuille (Aqueux)	Acide gallique	Antioxydant, antimutagène, antitumoral, antibactérien	Aleksic v <i>et al.</i> , 2014, Aidi Wannes <i>et al.</i> , 2010, Othman <i>et al.</i> , 2007, Shan <i>et al.</i> , 2007.
		Tige (Aqueux)	Acide caffeique		
		Fleurs (Aqueux)	Acide syringique		
		Baies (Aqueux)	Acide vanillique		
			Acide ferulique		
	Tannins	Feuille (MeOH 80%)	Gallotannins	Antibactérien, anticancéreux, antiviral, inhibiteur de la	Aleksic v <i>et al.</i> , 2014, Aidi Wannes <i>et al.</i> , 2010. Funatogawa <i>et al.</i> , 2004,

				peroxydation lipidique	Yokozawa <i>et al.</i>, 1994. Aleksic v <i>et al.</i>, 2014, Aidi Wannes <i>et al.</i>, 2010, Montoro <i>et al.</i>, 2006, Fine 2000, Okuda 2005.
		Tige (MeOH80%)	Malvidin-3-O-arabinosid		
		Fleurs (MeOH 80%)	Petunidine-3-O-arabinoside		
		Baies (MeOH 80%)	Delphinidine-3-O-arabinoside		
			Peonidine-3-O-glucoside		
			Cyanidine-3-O-glucoside		
			Malvidine-3-O-glucoside		
			Petunidine-3-O-glucoside		
	Flavonoïdes	Feuille (EtOH80%)	Catechine	Antibactérien, antiviral,	Aleksic v <i>et al.</i>, 2014, Montoro <i>et al.</i>, 2006, Harborne et Williams 2000.

		Tige (EtOH80%)	Quercetine-3-d- rahmnoside	antioxydant, anti-inflammatoire, anti-allergique, antithrombotique, vasodilatateur,	
		Fleurs (EtOH80%)	Quercetine-3-d- galactoside		
		Baies (EtOH80%)	Quercetine		
			Myricetine-3-O- ramnoside		
			Myricetine-3-O- galactoside		
			Myricetine		

6. Domaine d'utilisation

6.1. Application traditionnelle

Le myrte est utilisé depuis l'Antiquité comme épice, ainsi que à des fins médicinales et de préparation alimentaire. Le myrte en tant qu'épice ne trouve pas une large application en raison de son amertume, malgré son odeur agréable. Le goût est très intense, assez désagréable et fortement amer, son application culinaire est donc limitée à la région d'origine, comme l'Italie (**Gortzi et al., 2008**).

En Turquie, les feuilles de myrte ainsi que les fruits ont été utilisés comme médicament antiseptique dans les villages. De même, dans la médecine populaire italienne, le fruit de cette plante est utilisé dans le traitement de nombreux types de maladies infectieuses, les feuilles sont utilisées comme antiseptique et agent anti-inflammatoire, ainsi qu'un bain de bouche, pour le traitement de la candidose (**Gortzi et al., 2008**). En général, en médecine traditionnelle, une décoction de feuilles et de fruits est utilisée par voie orale pour le traitement des maux de ventre, hypoglycémie, dysbiose, toux, constipation, manque d'appétit, ainsi qu'à l'extérieur pour les plaies guérison (**Serce et al., 2010**). Ils sont considérés comme un remède de santé pour l'asthme, l'eczéma, le psoriasis, la diarrhée, les troubles gastro-intestinaux et les infections urinaires (**Ziyyat et al., 1997**).

En Tunisie, le myrte est utilisé dans le Nord du pays où les fruits sont recommandés pour soulager l'ulcère et les douleurs gastriques. Le même décocté est préconisé en gargarisme pour traiter les gingivites. La décoction de fleurs est proposée pour arrêter les diarrhées aiguës et comme traitement de la toux et des rhinites (**Goetz et al., 2012**).

En Algérie, le myrte est utilisé comme remède contre les affections des voies respiratoires et des voies urinaires. Les préparations à base de cette plante sont préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies (**Goetz et al., 2012**).

Au Maroc, l'infusion et la décoction sont utilisées comme remèdes des affections respiratoires et des diarrhées. Le décocté concentré est donné aux femmes dans les hémorragies de la délivrance. Le fruit est mâché contre les gingivites et les aphtes (**Goetz et al., 2012**).

6.2. Utilisation industrielle

De nos jours, le myrte est devenu un produit qui pourrait être qualifié d'identitaire. Il va permettre dans différents domaines, que ce soit l'alimentation ou la cosmétique, de donner un caractère identitaire au produit. C'est pour ces raisons que l'on retrouve en plus de la traditionnelle liqueur de myrte, des cosmétiques à base de myrte, mais également des produits alimentaires tels que pâtés, bières, etc.... aromatisés au myrte (**Franceschini et al., 2016**).

Cependant, certaines parties de la plante sont utilisées dans l'industrie alimentaire, par aromatiser les viandes et les sauces (**Chalchat et al., 1998**), et ses baies et les feuilles sont surtout employées pour la formulation industrielle de sucreries liqueurs aux propriétés digestives annoncées (**Clark et al., 1996**).

Ses feuilles sont très parfumées et ont été largement utilisées dans les industries de la parfumerie et de la cosmétique, notamment au Portugal ainsi qu'en Turquie. Il est traditionnellement utilisé comme antiseptique, désinfectant et hypoglycémiant (**Elfellah et al., 1984**).

7. Activités biologiques

Les activités biologiques des extraits et des huiles essentielles de myrte ont fait l'objet de divers travaux.

7.1. Activité antibactérienne

Selon **Abdulqawi et al., (2021)**, ont mené une étude dans laquelle ont montré que la plupart des concentrations pour les extraits méthanolique et aqueux de *M. communis* (feuilles) a montré différents degrés d'activité antibactérienne contre la plupart des souches bactériennes testées. Le diamètre des zones d'inhibition augmente avec augmentation des concentrations des extraits (Tableau 3).

Alizadeh et al., (2016), ont montré que l'extrait au méthanol de *M. communis* a un effet d'inhibition plus grande par rapport à l'extrait aqueux, Les disques contenant 20 mg/ml d'extrait méthanolique ont montré les zones moyennes les plus élevées de Inhibition contre *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli* et *S. flexneri*, tandis que les disques contenant 5 mg/ml montraient les zones inhibitrices les plus basses. L'extrait méthanolique de *M. communis* a montré les zones d'inhibition les plus élevées ($20 \pm 0,28$ mm) à 20,0 mg/ml sur *S. epidermidis*.

L'extrait aqueux de *M. communis* a montré les zones d'inhibition les plus élevées ($18 \pm 0,28$ mm) à 20 mg/ml sur *S. epidermidis*.

Alyousef et al., (2019), ont étudié un test de diffusion sur disque dans lequel a été réalisé pour le test d'activité antibactérienne. Cultures bactériennes de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ATCC 43300 et *Escherichia coli* ATCC 35218 ont été inoculés dans bouillon nutritif et incubé à 37 °C pendant 24 h. Les résultats ont révélé que l'extrait aqueux présente des activités d'inhibition contre *Staphylococcus aureus* par contre pour *E. coli* n'y a pas d'activité d'inhibition.

Raeiszadeh et al., (2018) ont mené une étude dans laquelle ont montré que l'extrait éthanolique de *M. communis* a montré une activité antibactérienne contre les bactéries gram-positives, *S. aureus* et *B. subtilis* étaient plus sensibles à l'EM que *S. epidermidis* et *M. luteus*. L'EM à la concentration de 8000 µg/mL a exercé la plus grande zone d'inhibition de croissance ($30,1 \pm 1,2$ mm) contre *S. aureus* alors qu'il provoquait la plus petite zone d'inhibition ($10,0 \pm 0,6$ mm) à une concentration de 500 µg/mL contre *S. epidermidis*. De plus, ses gammes de CMI pour les souches gram-positives ont été signalées à partir de 125 µg/mL pour *S. aureus* et *B. subtilis* à plus de 1000 µg/mL pour *S. epidermidis* et 4000 µg/mL pour *M. luteus*.

Dans l'étude de **Messaoud et al., (2012)**, les infusions de myrte ont présenté une activité antimicrobienne substantielle contre les bactéries : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Shigella flexneri*. Les inhibitions les plus fortes ont été obtenues contre *P. mirabilis* et *S. flexneri*. L'activité antimicrobienne de l'extrait hydro-alcoolique de baies de *Myrtus communis* L. a été étudiée contre six souches de *Listeria monocytogenes* par **Serio et al en 2014**. L'extrait a affecté la dynamique de croissance de la bactérie en réduisant la croissance cellulaire.

Taheri et al., (2013) ont étudié l'effet antibactérien de l'extrait hydro-alcoolique de *Myrtus communis* sur des bactéries pathogènes. Cette étude a montré que l'extrait de feuilles de *Myrtus communis* a un effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholerae*.

Mert et al., (2008), ont étudié les activités antimicrobiennes de n-hexane, de méthanol, d'éthanol, d'acétate d'éthyle et d'extraits aqueux de feuilles de *M. communis* L. contre *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *E. faecalis* et *P.*

aeruginosa en tant que bactéries et *Candida albi* en tant que *champignons* de type *levure* par la méthode de diffusion par disque. Résultats ont montré que tous les extraits inhibaient la croissance de *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. typhimurium* et *P. aeruginosa*. La croissance d'*E. coli* n'a été inhibée que par l'extrait au méthanol. Aucun de les extraits testés ont montré une activité contre *E. cloacae*, *E. faecalis* et *C. albicans*. **Le tableau 03** présente les zones d'inhibitions des extraits éthanolique, aqueux et méthanoliques de *Myrtus communis* pour certaines régions. Et **le tableau 04** présente La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits éthanolique, aqueux et méthanoliques de *Myrtus communis* pour les mêmes précédente régions.

Tableau 03 : Diamètre moyen (mm) des zones d'inhibitions des extraits éthanolique, aqueux et méthanoliques de *Myrtus communis* pour certaines régions.

Origine	Extrait	Concentration (mg/ ml)	ZI (mm)								Référence
			Gram positive				Gram négative				
			<i>E faecalis</i>	<i>S aureus</i>	<i>S epidermidis</i>	<i>B cereus</i>	<i>E coli</i>	<i>P aeruginosa</i>	<i>S typhi</i>	<i>Sh flexineri</i>	
Yamen	MeOH 50%	10	-	20.3±0.60	-	-	20.3±0.79	22.5±0.60	-	-	Abdulqawi <i>et al.</i> , 2021
	Aqueux	10	-	22.2±0.31	-	-	20.1±0.52	20.0±0.46	-	-	
Saoudi	EtOH 71%	0.4	9±1.2	25	15±1	-	-	-	-	-	Mir <i>et al.</i> , 2020
Ethiopia	Hydro MeOH 80%	20	-	25.5 ±0.76	-	-	16.83±1.87	20.50±0.50	15.83±0.93	23.83±0.93	Sisay <i>et al.</i> , 2019
Saoudi	Aqueux 70%	0.2	-	13	-	-	-	-	-	-	Alyousef <i>et al.</i> , 2019
Iran Tehran	MeOH 70%	100	7.6	-	-	-	-	-	-	-	Raof <i>et al.</i> , 2019
Iran	EtOH 80%	8	-	30.1 ± 1.2	19.7 ± 0.8	-	-	-	-	-	Raeiszadeh <i>et al.</i> , 2018
Maroc	EtOH	0,25	-	-	-	-	20.16±0.76	-	-	-	Douhri <i>et al.</i> , 2017
Iran	MeOH 80%	20	19,70±0,28	-	20,00±0,28	-	14,00±0,58	-	-	13,60±0,57	Alizadeh bahbahani <i>et al.</i> , 2016
	Aqueux	20	17,30±0,28	-	18,00±0,28	-	12,30±0,25	-	-	12,00±0,50	
Tlemcen	Aqueux 60%	0.2	-	10±0.07	-	10.5± 0.01	9.5±0.02	-	8.5±0.03	10±0.1	Meddah <i>et al.</i> , 2016
Maroc	MeOH	25	-	25±0.29	-	-	13±1.2	17±0.72	-	-	Bouyahya <i>et al.</i> , 2016
	EtOH	25	-	28±0.46	-	-	12±0.8	15±0.60	-	-	
	n- hexane	25	-	29±0.31	-	-	17± 0.12	21±0.77	-	-	

Tableau 04 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits éthanolique, aqueux et méthanoliques de *Myrtus communis* pour certaines régions.

Origine	Extrait	CMI (mg/ml)								Référence
		Gram positive				Gram négative				
		E faecalis	S aureus	S epiderm idis	B cereus	E coli	P aerugino sa	S typhi	Sh flexineri	
Yamen	MeOH 50%	-	0, 781	-	-	1,563	0,781	-	-	Abdulqawi et al., 2021
	Aqueux 50%	-	0, 781	-	-	1,563	0,781	-	-	
Est de l’Arabie Saoudi	EtOH 70%	0,078	0.0097	0,0048	-	-	-	-	-	Mir et al., 2020
	MeOH 70%	0,78	-	-	-	-	-	-	-	Raooft et al., 2019
Saoudi Arabie Al Qassim	Aqueux 70%		-	-	-	0,0025	-	-	-	Alyousef et al., 2019
Iran Haji Abad	EtOH 80%	-	0.125	1	-	4	8	-	-	Raeiszadeh et al., 2018
Ethiopia Addis Ababa	Hydro-MeOH 80%	-	0,80	-	-	0,16	0,80	0,032	0,16	Sisay et al., 2017
Algérie Tlemcen	Aqueux 60%	-	50	-	-	100	-	100	-	Meddah et al., 2016
Iran	MeOH 80%	16	-	8	-	-	-	-	-	Alizadeh et al., 2016
	Aqueux	8	-	4	-	64	-	-	-	
Nord-ouest de maroc	MeOH	-	0,5	-	-	>8	0,5	-	-	Bouyahya et al., 2016
	EtOH	-	0,5	-	-	>8	4	-	-	
	n-Hexane	-	0,25	-	-	4	0,25	-	-	

7.2. Activité antivirale

En raison de phénomènes synergiques, le mélange complexe d'huiles essentielles montre généralement une activité antivirale plus élevée que les composés individuels. Plusieurs composés phytochimiques ont des effets antiviraux complémentaires et se chevauchant, qui comprennent l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique viral ou l'inhibition d'autres étapes de la multiplication virale (Aleksic *et al.*, 2014).

Azimi et Hasheminasab, (2020), ont montré dans leur étude que *Myrtus communis* est un agent antiviral puissant qui peut être utile en particulier au stade précoce de la pneumonie COVID-19, d'autre part, sa propriété anti-inflammatoire peut réduire la tempête de cytokines. L'extrait de *Myrtus communis* peut être recommandé pour la pneumonie, en particulier lorsqu'elle est accompagnée de toux et de diarrhée.

Astani *et al.*, (2011), ont montré que le β -caryophyllène et l'oxyde de caryophyllène ont une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex de type 1 HSV-1. Ces deux composés représentent respectivement 1.0 et 0.3% de l'huile essentiel de myrte de Corse.

7.3. Activité antioxydante

Selon Messaoud *et al.*, (2012), les propriétés antioxydantes des infusions des feuilles de myrte tunisien ont été évaluées par mesure de l'activité de piégeage des radicaux libres (DPPH). Les infusions de myrte ont montré un nettoyage radical notable en fonction de la concentration. La plus grande activité a été démontrée par les infusions préparées pendant 10 et 15 min. L'activité antioxydante des extraits végétaux est généralement dépendante de la teneur totale en phénols et les composés actifs de leurs éléments essentiels. Les mêmes chercheurs ont montré que les composés phénoliques sont certainement responsables d'un tel effet antioxydant des infusions de feuilles de myrte.

Benchikh et ses collaborateurs., (2018), étudient l'activité antioxydant de l'extrait de méthanol et de ses fractions. Le plus haut les composés phénoliques totaux, les tanins et les favonoïdes pourraient être obtenus par extraction de méthanol, d'eau et d'acétate d'éthyle, respectivement. L'activité inhibitrice la plus accrue de l'oxydation du β -carotène/acide linoléique a été induite par le chloroforme (93,95 %) et des extraits d'acétate d'éthyle (90,29 %), respectivement. L'extrait d'acétate d'éthyle a montré une excellente activité antioxydante en utilisant l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline 6-sulfonique (ABTS) et le 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl (DPPH) anti-radicalaire (IC₅₀ = 0,004 mg/ml). Au contraire,

l'extrait aqueux a montré une activité élevée dans le test de piégeage des radicaux hydroxyles (IC50 = 0,08 mg/ml) et pouvoir réducteur (CE50 = 0,03 mg/ml).

Cheikh et al., (2020), évalué l'activité antioxydant de l'alginate biofilms nanocomposites contenant de la sépiolite modifiée avec polyphénols de l'extrait de baies de myrte. Les résultats ont montré que l'incorporation de différentes concentrations de l'extrait de baies de myrte a amélioré les pouvoirs antioxydants en la méthode ABTS comparée à celle de la norme Trolox Pour les flm par rapport au flm témoin Alg/Sep.

8. Utilisation de Myrte dans la bioconservation des aliments

8.1. Bioconservation

La bioconservation, ou biopréservation, est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des micro-organismes, appelés encore cultures protectrices, ou à leurs métabolites naturels. Elle est comme toute autre méthode de conservation, doit permettre de maîtriser la croissance de flores pathogènes ou d'altération, tout en préservant les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit au cours de sa durée de vie. Il existe différentes voies permettant la biopréservation des aliments. Certaines de ces substances issues du métabolisme bactérien peuvent également être directement ajoutées pour maîtriser le développement de flores indésirables (**Zagorec et al., 2013**).

8.2. Bioconservation des aliments par Myrte

Le myrte (*Myrtus communis* L.) est une épice largement utilisée qui trouve de nombreuses applications dans les industries de la parfumerie, de l'agroalimentaire et de la pharmacie. Huiles essentielles et bio des extraits au solvant de feuilles et de tiges ont été dosés pour leur activités antimicrobiennes contre les agents pathogènes d'origine alimentaire et clinique et les bactéries responsables de la détérioration des aliments, y compris *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Campylobacter jejuni*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* et certaines moisissures et levures (**Sumbul et al., 2011**).

Des études ont montrés l'utilisation de myrte lyophilisé afin d'éviter l'utilisation de solvants dans nourriture. Cependant, la poudre de myrte avait une couleur verdâtre qui pourrait affecter négativement l'apparence de la viande. L'extrait eau-éthanol de myrte utilisé

in vitro les tests a montré une excellente activité antimicrobienne contre différents biotypes d'altération de la viande de *B. thermosphacta* et *P. fragi* tandis que l'extrait de myrte lyophilisé ajouté à la viande hachée à différentes concentrations réduit la charge microbienne finale montrant une meilleure efficacité contre *B. thermosphacta*. Dans en particulier, la graisse pourrait former une couche protectrice autour des bactéries les protégeant des agents antimicrobiens (**Annalisa et al., 2014**).

D'autres études ont montrés les effets du fruit entier appauvri de *Myrtus communis* L., un sous-produit de la production commerciale d'alcool, sur les caractéristiques de production de lait et les métabolites sanguins donnés aux brebis. Aucun effet sur la composition, la production de lait et la coagulation propriétés ont été observées. Cependant, l'urée du lait a diminué avec l'épuisement croissant du fruit de myrte de l'alimentation. Ces résultats indiquent que l'épuisement de myrtle berry a un effet bénéfique sur l'utilisation de l'azote alimentaire. De plus, l'urée sanguine et le nombre de protéines sanguines ont été réduits par l'apport alimentaire de baies de myrte épuisées, tandis que les paramètres hépatiques, rénaux et hématologiques n'ont pas été affectés. Peut être utilisé dans l'alimentation des brebis laitières sans affecter la production de lait et les niveaux de santé (**Nudda et al., 2023**).

Chapitre II

Lait cru de vache et Méthodes de conservation

1. Définition du lait

La première définition du lait apparaît en 1908, au Congrès international de la Répression des Fraudes de Paris. Le mot « lait » a été défini comme : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (**Noblet, 2012**).

Selon Gemrcn (2009), le lait cru définit comme le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40 °C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent. Ce lait n'a donc subi aucun traitement autre que la réfrigération mécanique immédiate après la traite à la ferme. Le lait est un aliment de couleur blanchâtre produit par les cellules sécrétrices des glandes mammaires des mammifères femelles. Le lait sécrété dans les premiers jours après la parturition s'appelle le colostrum (**Vilian, 2010**).

2. Importance nutritionnelle du lait

La perception des consommateurs sur l'importance réelle d'une alimentation équilibrée et saine mode de vie sur la prévention des maladies, le maintien de la santé et la promotion de la longévité a entraîné le développement d'études multiples et de plus en plus approfondies. Nourriture, des ingrédients alimentaires, et même des molécules bioactives aux propriétés bénéfiques pour la santé présenter un forte demande de la part des consommateurs du monde entier. Tandis que les produits laitiers font partie des groupes alimentaires les plus testés et les plus sélectionnés vers l'incorporation d'ingrédients alimentaires à des fins fonctionnelles. Crème de lait, yaourt, kéfir, lait en poudre, lait concentré, ricotta, beurre, caséine, lait fermenté les boissons, les laits maternisés, le colostrum, le fromage et les glaces sont les plus courants produits laitiers traditionnels considérés comme des aliments fonctionnels (**Martins et al., 2019**).

Dans ce contexte, l'industrie laitière a pris une position ferme, développant de nouvelles les produits laitiers qui procurent la « santé » en tirant parti des avantages fonctionnels naturels du lait ou en utilisant le lait et les produits laitiers comme véhicule pour obtenir de tels avantages. Dans l'esprit de la plupart des consommateurs, les produits laitiers sont bons pour la santé et sans danger pour la consommation, en particulier pour les enfants, faisant des produits laitiers l'un des moyens les plus efficaces de fournir des fonctionnalités par le biais des aliments (**Ortiz et al., 2017**).

3. Composition du lait de la vache

L'eau est le principal composant du lait, le reste étant constitué de matières grasses, de lactose et de protéines (caséine et lactosérum), contient également de plus petites quantités de minéraux, de protéines sanguines spécifiques, d'enzymes et de petits intermédiaires de la synthèse mammaire (Robinson,2002). **Figure 02** : présent la composition globale et minérale du lait de vache en (g/l).

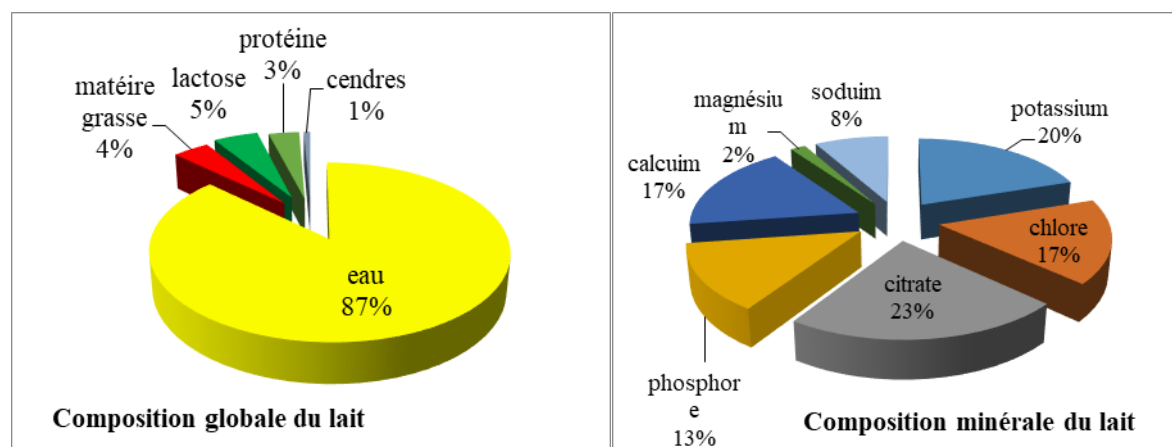


Figure 02 : Composition globale et minérale du lait de vache en (g/l) (Jeantet et al., 2008).

4. Propriétés physico-chimiques du lait :

Le lait présente des caractéristiques liées à sa nature biologique, à savoir : variabilité, complexité, hétérogénéité et altérabilité (FAO, 1995). Le **tableau 05** présenté ses propriétés :

Tableau 05 : Propriétés physico-chimiques du lait de vache (Leymarios, 2010).

Propriétés	Valeur moyenne
Densité du lait à 20°C	1.028–1.034
Densité du écrémé	1.035-1.036
Densité de matière grasse	0.92-0.94
Point de congélation	-0.55°C
PH	6.6-6.8
Acidité titrable	14-17°D
Activité de l'eau à 20°C	0.99

5. Place du lait dans l'alimentation humaine

Franworth et Mainville (2010) évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé.

Il peut être ajouté au régime sous plusieurs formes. Le lait et les œufs sont les seuls aliments complets connus à l'état naturel du fait qu'ils contiennent des quantités significatives de quelques 55 nutriments essentiels à la vie. Au regard de son contenu en énergie métabolique, le lait est considéré comme un aliment de forte densité nutritionnelle. Le lait n'est cependant pas un aliment parfait, car il ne contient pas à l'état naturel de fibres et son contenu en certains nutriments, dont le fer et la vitamine D, demeure relativement faible. Le lait et les produits laitiers constituent un des quatre grands groupes alimentaires d'une saine alimentation. Le lait est un aliment liquide, mais sa teneur en matière sèche (10 à 14 %) est proche de celle de nombreux aliments solides. Le caractère essentiel de sa composition est son harmonie qui fait de lui un aliment de valeur nutritionnelle inestimable, particulièrement pour le jeune enfant. Le lait contient la plupart des éléments nécessaires à l'édification des tissus de l'organisme. Les protéines du lait ont une valeur nutritive élevée, en particulier la lactoglobuline et la lactalbumine, riche en acides aminés soufrés. Le lait représente également une excellente source de calcium, de phosphore, de riboflavine et relativement riche en thiamine et en vitamine A. Cependant, il est pauvre en fer, cuivre, acide ascorbique et en vitamine D (**Yobouet, 2016**).

La valeur énergétique du lait est de 700 kcal/litre. La haute valeur nutritionnelle des protéines de lait repose sur sa haute digestibilité et une composition particulièrement équilibrée en acides aminés essentiels. Pour les nouveau-nés, les protéines du lait sont une source de protéines adaptée pour répondre aux besoins de croissance néonatale (**Derby, 2007**). En moyenne, le lait de vache représente 5 % des matières grasses totales et 7 % des acides saturés chez les enfants, respectivement 1,7 % et 3 % chez les adultes (**Noblet, 2012**).

6. Qualité du lait cru

6.1 Qualité Organoleptique

C'est un produit hautement nutritif pour l'alimentation humaine. Mais les conditions d'élevage en particulier l'alimentation, l'hygiène de la traite et la manutention des laits crus influencent leur qualité nutritionnelle et microbiologique (**Seme et al., 2015**). Le **tableau 07** donne la qualité organoleptique :

Tableau 06 : Qualité organoleptique du lait (Grosch ,2014).

Odeur	Grâce à La présence de la matière grasse dans le lait, il y a une odeur aigre due à l'acidification par l'acide lactique.
Saveur	Le lait contient du lactose, il a donc une saveur légèrement sucrée.
Couleur	La couleur du lait est blanche opaque, plus ou moins jaunâtre, ce qui est principalement dû à la graisse, aux pigments de carotène (ingéré principalement pendant le pâturage).
Texture	L'homogénéisation du lait divise et émulsionne si finement les globules gras que la crème la séparation ne se produit pas même après une longue debout.

6.2 Qualité microbiologique

Par nature, le lait est un milieu de croissance naturel pour les micro-organismes **(Robinson, 2002)**. Le lait collecté après la traite contient toujours des micro-organismes dont le nombre et les types varient considérablement **(FOA, 1985)**. Les micro-organismes du lait sont divisés en deux classes principales selon leur importance. Flore originelle et flore de contamination, et cette dernière est divisée en flore altération et flore pathogène.

6.2.1 Flore originelle

En général, le lait doit contenir moins de 5 000 UFC/ml lorsqu'il est prélevé sur des animaux sains et recueilli dans des conditions stériles **(Vignola, 2002)**.

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ ml). Ce sont essentiellement des bactéries saprophytes du sein et des canaux galactophores. Non seulement les microcoques, mais aussi les streptocoques (*Lactococcus* et *Lactobacillus*) sont inclus. Dans le lait des animaux malades, il existe d'autres micro-organismes qui sont généralement pathogènes et nocifs pour la santé et peuvent être des agents responsables de mammites **(Guiraud, 1998)**.

- **Bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques comprennent différents genres avec certaines caractéristiques communes, c'est-à-dire Gram positif, faible GC, aérotolérant, non mobile, non sporulant et des bactéries strictement fermentaires qui produisent de l'acide lactique comme principal produit métabolique final de la fermentation des glucides (**Pujato et Mercanti, 2019**). Les principales distinctions sont : *Lactococcus*, *Leuconostocs*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *thermophiles*, *mésophiles* et *thermophiles* et *Enterococcus* (**Axelsson, 2004**).

6.2.2 Flore contamination du lait

La flore contaminant est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération qui est capable de causer des défauts sensoriels ou de réduire la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez les consommateurs de lait (**Vignola, 2002**).

a. La flore d'altération

La flore d'altération peut causer des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture du lait entraînant la réduction de sa durée de vie. Parfois, certains microorganismes nuisibles du lait peuvent aussi être pathogènes. Les principaux genres identifiés sont *Pseudomonas* sp, *Proteus* sp, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les bactéries sporulées telles que *Bacillus* sp, et *Clostridium* sp, et certaines moisissures et levures. Quatre groupes de bactéries d'altération sont généralement présents dans le lait cru : les producteurs d'acide lactique, d'acide propionique, d'acide butyrique et d'enzymes de dégradation principalement les protéases et les lipases.

Des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent aussi être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade. Il peut s'agir des agents des mammites (*Streptocoque pyogène*, *Corynebactéries pyogènes*, *Staphylococcus aureus*) et des germes d'infection générale tels que *Salmonella*, *Brucella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium*, *Bacillus anthracis* et quelque virus. Ainsi, hormis les maladies de la mamelle, l'ensemencement du lait se fait pour l'essentiel au cours des diverses manipulations dont il est l'objet à partir de la traite (**Yobouet, 2016**).

- **Bactéries psychrotrophes du lait**

Les bactéries psychrotrophes du lait sont des microorganismes très importants dans l'industrie laitière en raison de leur faculté à pouvoir croître en 0 et 4°C. Cette plage de températures correspond à celle recommandée pour la conservation du lait. Les principaux microorganismes psychrotrophes du lait sont : *Alcaligenes*, *Pseudomonas* (bactéries d'altération), *Bacillus* (bactérie sporulée pouvant être nuisible ou pathogène), *Clostridium* (semblable à *Bacillus*), *Listeria monocytogenes* (pathogène), *Yersinia enterocolitica* (pathogène), Levures (microorganismes nuisibles et fermentaires), Moisissures (microorganismes aérobies stricts), Certaines souches de bactéries lactiques (acidification du lait au froid) (Vignola, 2002).

b. Flore pathogène

Ce sont des micro-organismes présentant un danger pour le consommateur c'est le cas de : *Mycobacterium bovis*, *Bacillus cereus* et des espèces des genres *Brucella*, *Salmonella* et *Listeria* et en particulier *listeria monocytogenes* qu'est un agent de toxi-infection (Yobouet, 2016).

- ***Listeria monocytogenes***

Les *Listeria* sont des bactéries Gram positives ubiquistes non-sporulantes. Dans les essais de culture traditionnelle, il est très difficile de détecter et d'énumérer *L. monocytogenes* dans les aliments surtout quand celle-ci est largement surpassée en nombre par les autres *Listeria spp.* spécialement *L. innocua*. Par conséquent, la détection de *Listeria spp.* est souvent utilisée comme indication de la présence de *L. monocytogenes* (Boubendir et al., 2011). Les mesures d'hygiène restent un élément de choix pour minimiser le risque *Listeria* lors de la consommation des produits alimentaires. Cependant, il faut noter que la qualité bactériologique du lait cru peut être un élément déterminant dans l'élimination de ce risque (Boubendir et al., 2012).

- ***Salmonella***

Les *Salmonella* appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les salmonelles peuvent croître sur les milieux de base par exemple, sur la gélose Mac Conckey. Pathogènes chez l'homme et les animaux % GC environ 50-52, les salmonelles s'identifient selon les sérotypes. La contamination des produits alimentaires peut être originelle (animaux malades)

ou provenir de manipulateurs malades ou porteurs sains du germe. On retrouve les *salmonelles* surtout dans les produits d'origine animale (œufs, lait, viandes, volaille, charcuterie, poisson), l'eau polluée et les produits consommés crus. Les salmonelles produisent deux types de toxine (entérotoxine et cytotoxine). *S. typhi* et *S. paratyphi* A, B et C provoquent des maladies infectieuses appelées respectivement fièvre typhoïde et paratyphoïde, la dose infectante est de l'ordre de 10⁵ germes (Boubendir, 2023).

c. Sources de Contamination bactérienne du lait

Le lait recueilli après la traite contient toujours des microorganismes dont le nombre et les espèces auxquels ils appartiennent sont très variables. La présence inévitable de ces germes est due à des contaminations d'origine intra-mammaire et extra-mammaire (Yobouet, 2016).

- **Contamination intra-mammaire**

À la sortie de la mamelle, le lait, même qu'il provienne d'un animal sain et que la traite soit effectuée dans les conditions rigoureuses d'hygiène, contient habituellement une centaine à quelques milliers de bactéries par millilitre. Il s'agit de germes banaux appartenant le plus souvent aux genres *Corynebacterium* et *Micrococcus* et parfois de germes pathogènes. Ils proviennent du milieu extérieur d'où ils pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon. Ils sont entraînés avec le lait au moment de la mulsion (Yobouet, 2016).

- **Contamination extra-mammaire**

La contamination extra-mammaire est constituée par des germes pathogènes infectant l'animal. Ils parviennent dans la mamelle par la circulation sanguine. C'est, par exemple, le cas pour les agents de la brucellose et de la tuberculose. Au cours des opérations de traite, le lait reçoit un second apport de microorganismes d'espèces variées dont le nombre est habituellement très supérieur à celui dû à la contamination d'origine intra-mammaire. Les sources de contamination du lait peuvent être de nature diverse. Le nombre et les types de microorganismes trouvés dans le lait reflètent ainsi les conditions hygiéniques de la traite et de l'étable. Les ustensiles en contact avec le lait et la machine à traire mal nettoyée sont notamment à l'origine de la très forte charge microbienne des laits.

L'homme contamine le lait pendant la traite, la manipulation, la collecte, le traitement, le transport et l'entreposage du lait (FAO, 2011). La majorité des microorganismes dans le lait

proviennent des surfaces, des aliments, de l'air, de l'eau, du sol, des ustensiles et des équipements utilisés pour la traite (seaux à traire, machines à traire) et l'entreposage (bidons, cuves, tanks). L'augmentation du nombre de bactéries, pendant le transport du lait, est surtout due à la contamination par des véhicules insuffisamment nettoyés et désinfectés (**Frank et Hassan, 2002**).

7. Méthodes de conservation du lait

7.1 Méthodes thermiques

Le lait ne peut pas être bu pur car sa composition offre un environnement favorable à la croissance des micro-organismes, donc il doit faire l'objet d'un traitement thermique. **En 1991, Ferron et ses collaborateurs**, disent que le traitement thermique du lait permet, en fonction de son intensité, de détruire les flores banales, pathogènes ou sporulées contaminants et donc de répondre à divers critères d'épuration d'ordres hygiénique ou technologique. Il a été aussi proposé pour accroître le rendement fromager.

a. Pasteurisation

La pasteurisation vise à éliminer toutes les formes végétatives des micro-organismes. Il existe trois types de traitement pour les agents pathogènes du lait : **basse pasteurisation** (62-65°C/30 minutes), qui permet il ne peut être exécuté que par lots et est abandonné dans les fermes laitières, **haute pasteurisation** (71-72°C/ 15-40 secondes), lait réservé de qualité sanitaire. D'un point de vue organoleptique et nutritionnel, une forte pasteurisation a peu d'effet au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite, mais la peroxydase reste active, et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles, et **pasteurisation rapide** (85-90°C/ 1-2 secondes), qui est réalisé avec du lait cru de qualité moyenne. Les phosphatases et peroxydases sont perturbées (**Jeantet et al., 2008**).

b. Stérilisation

Selon **Jeantet et ses collaborateurs (2008)**, La stérilisation destinée à éliminer tous les micro-organismes, trophozoïtes ou non sporulation. Le lait est moins nutritif et moins organoleptique que le lait de vache pasteurisé et stérilisé par deux façons : **Stérilisation conventionnelle** : C'est-à-dire le lait est pré-stérilisé (130-140°C / 3-4 sec) (après homogénéisation pour le lait gras). Puis 70 ~ il est mis en bouteille à 80°C avant de subir une seconde stérilisation en autoclave (115°C / 15-20 minutes), et **Stérilisation UHT ultra haute**

température : Le lait est traité à (135-150°C / 1-6 secondes). Ce traitement préserve mieux les propriétés nutritionnelles et organoleptiques originelles du lait.

7.2 Méthodes de refroidissements

Le refroidissement permet une méthode pour bien conserver un lait trait dans de bonnes conditions.

La réfrigération est une technique de semi-conservation dans laquelle les aliments sont placés dans des récipients à une température d'environ +5°C. Cette température retarde la croissance des mésophiles, alors qu'aux températures de réfrigération, le traitement n'affecte pas la croissance des bactéries psychrophiles, qui se développent à la température de réfrigération (**Gosta, 1995**). Tandis que, la congélation comme il s'agit d'un processus physique destiné à un stockage réfrigéré plus long à des températures inférieures à 0°C, il est très important que le lait à réfrigérer soit de qualité hygiénique. Le but de l'application de froid est souvent d'inhiber, de retarder ou d'arrêter les réactions enzymatiques d'une part et d'inhiber la croissance microbienne d'autre part (**Gosta, 1995**).

7.3 Bioconservateurs

Les aliments d'origine animale ou végétale sont des écosystèmes complexes, riches en nutriments, avec des caractéristiques physico-chimiques permettant la croissance microbienne lors de traitement et du stockage. La bioconservation est une approche durable pour améliorer la sécurité alimentaire et maintenir ou prolonger la durée de conservation des aliments (**Shelf-life**) (**Borges et al., 2022**) ; Aujourd'hui, l'utilisation d'additifs naturels dans la matrice alimentaire a augmenté. Les composés antimicrobiens naturels comprennent les peptides, les bactériocines, les bactériophages, les extraits de plantes, les huiles essentielles et les composés fermentés qui peuvent être utilisés comme alternatives aux antimicrobiens chimiques. Les Peptides de lait. La lactoferricine (une glycoprotéine liant le fer de 80 kDa), la kappacine et la k-casécidine sont des peptides antimicrobiens des protéines du lait. La lactoferrine (sous forme de GRAS) est une glycoprotéine liant le fer avec un effet antimicrobien sur les deux types de bactéries, telles que Salmonella et E. coli, et les champignons (**Amiri et al., 2021**). Les LAB et leurs métabolites antimicrobiens comme la Nisine présentent un potentiel d'utilisation comme alternative aux additifs largement utilisés car ils répondent aux exigences des consommateurs et garantissent la sécurité du produit. De plus, ils aident à prolonger la durée de conservation, à contrôler la croissance des micro-organismes d'altération et

pathogènes et à fournir de meilleures caractéristiques sensorielles aux produits (**Barcenilla et al., 2022**) Les extraits de plantes et les huiles essentielles contiennent des terpènes, des flavonoïdes, des aldéhydes et des composés phénoliques qui provoquent des effets antimicrobiens (**Amiri et al., 2021**). Les herbes des zones arides peuvent être exploitées dans l'alimentation animale en raison de leur activité bioactif pour la production de lait avec des caractéristiques de sécurité améliorées et une durée de conservation prolongée (**Boubendir et al., 2016**).

Récemment, des enseignants-chercheurs (**Serrer et al., 2023**) du Laboratoire des Sciences Naturelles et des Matériaux du Centre Universitaire Abd El Hafid Boussouf- Mila ont mené une étude pour évaluer l'effet de l'ajout d'extraits aqueux de romarin et d'origan au lait cru de vache sur la dynamique de la croissance microbienne lors de la réfrigération du lait. Les extraits aqueux de feuilles de plantes ont été préparés et additionnés d'échantillons de lait à différentes concentrations : 0, 0,25, 0,5, 0,75 et 1 mg mL⁻¹ pour le romarin et 0, 1,25, 2,5, 3,75, 5 mg mL⁻¹ pour l'origan. L'évolution de la croissance microbienne a été suivie à intervalles réguliers pendant dix jours de stockage réfrigéré à 4 °C. La supplémentation des deux extraits de plantes au lait réfrigéré a généré une prolongation de la durée de la phase de latence et une croissance microbienne limitée.

8. Hygiène générale de la production du lait

Le lait est une denrée fragile dont la destinée industrielle (lait, beurre, fromage) selon sa qualité. La production d'un lait de qualité n'exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel ; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d'hygiène tout au long du circuit de sa production notamment à la traite (**Benhedane, 2012**).

9. Evolution de croissance bactérienne

Lorsqu'il est placé dans un milieu frais (croissance), les bactéries produisent d'abord des formulations spécifiques et enfin Changer d'environnement ; cela entraîne une latence croissante de la multiplication taux constant (les multiplications sont exponentielles ou quasi exponentielles). Les carences en nutriments ralentissent la croissance puis s'arrêtent (**Flandrois, 1997**).

9.1 Courbe de croissance bactérienne

La distinction est courante depuis que **Buchanan** l'a décrite pour la première fois en **1918**. Plusieurs étapes dans la croissance des cultures bactériennes. Ces stades sont caractérisés par des niveaux ou des fluctuations spécifiques du taux de croissance de la culture. Par une certaine valeur ou variation de la vitesse de propagation de la culture. Sept phases consécutives sont classiquement reconnues **Figure 03** :

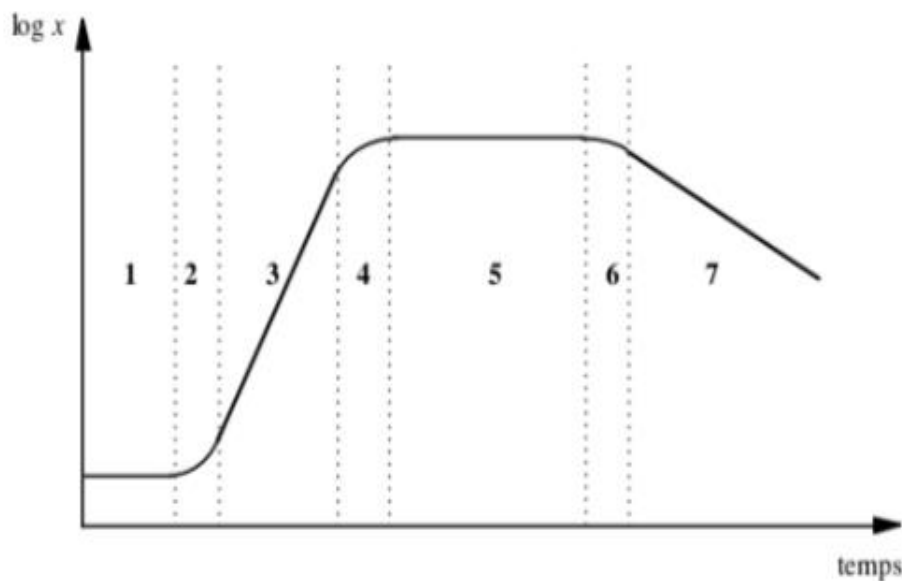


Figure 03 : Courbe de croissance généralisée d'une culture bactérienne (**Buchanan, 1918**).

1. Phase de latence : Il se caractérise par un taux de croissance nul. Cette étape correspond à l'étape d'adaptation de la bactérie au nouveau milieu de croissance. La durée de cette période dépend de la nature du milieu hôte, de l'état physiologique des cellules inoculées, et éventuellement de la taille de l'inoculum.

2. Une phase de taux de croissance augmentant plus ou moins rapidement de zéro à maximum.

3. Phase exponentielle : un stade ou un stade de croissance à un taux maximum constant croissance exponentielle. Le tracé de l'évolution logarithmique de la concentration ou de la biomasse bactérienne en fonction du temps la montre sous la forme d'une fraction linéaire. Pour une bactérie donnée, cette valeur de vitesse de croissance maximale dépend des propriétés du milieu.

4. Une phase dans laquelle le taux de croissance ralentit jusqu'à zéro.

5. **Phase stationnaire maximale ou phase stationnaire** simple correspondant à retard de croissance. La culture atteint alors une densité maximale. Le ralentissement et l'arrêt ultérieur de la croissance sont dus à l'épuisement des nutriments ou à d'autres changements dans les propriétés du milieu, le rendant impropre à la croissance microbienne.

6. **Début de la corruption** Vitesse de croissance de la culture, etc.

Les bactéries consistent principalement en **une phase de latence** suivie **d'une phase exponentielle** puis **d'une phase stationnaire**. Les microbiologistes utilisent généralement les paramètres suivants pour caractériser ces différentes étapes : densité cellulaire initiale (x_0), temps de latence (lag), taux de réussite maximal (μ_{max}) ou temps de génération (T_g) et densité maximale atteinte (X_{max}) **Figure 04** :

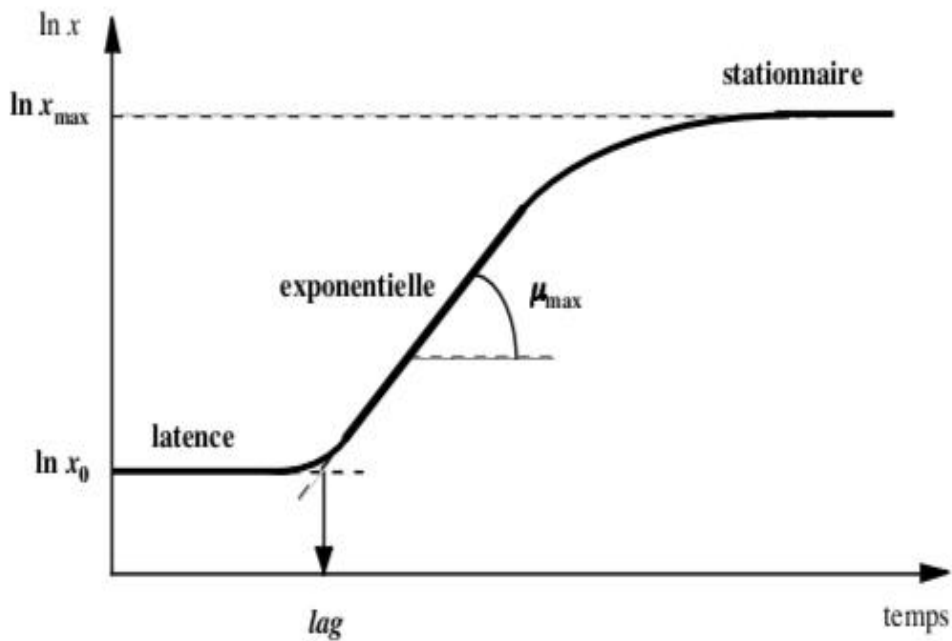


Figure 04 : les phases principales des croissances bactériennes et les paramètres qui les caractérisent (**Augustin, 2005**).

9.2 Paramètres de croissance bactérienne

1. Temps de génération (G) : Le temps de génération est le temps entre deux divisions successives, soit le temps nécessaire pour que le nombre de bactéries augmente. Toutes les cellules ne se développent pas au même rythme dans une communauté bactérienne. Le temps de génération dépend de l'espèce considérée et des conditions d'élevage **(FOA, 1985)**.

2. Taux de croissance ($\mu_{\max}$) : Le taux de croissance est le nombre de divisions par unité de temps, l'inverse du temps de génération **(FOA, 1985)**. Correspond à la pente exponentielle **(Augustin, 2005)**.

3. Temps de latence (lag) : C'est l'intersection de la droite correspondant à la phase exponentielle et de la droite horizontale passant par la concentration initiale (x_0) **(Augustin, 2005)**.

4. La densité cellulaire (X) : La biomasse de la culture bactérienne est montrée. On l'appelle la concentration microbienne initiale (X_0) au début de la phase exponentielle et on l'appelle aussi la valeur maximale ($X_{\max}$) à la fin de cette phase **(Augustin, 2005)**.

Partie

Expérimentale

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Matériel et Méthodes

L'ensemble des manipulations expérimentales ont été réalisées dans les laboratoires de Biologie du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf de Mila.

Le but de ce travail était de prolonger la durée de conservation du lait réfrigéré en le complétant avec diverses concentrations d'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis* et en réduisant la charge microbienne finale du lait, prolongeant ainsi la phase de latence (courbe de croissance bactérienne) jusqu'à la procrastination. Comptez ensuite les bactéries présentes dans le lait depuis plusieurs jours. Une croissance bactérienne est observée dans le lait supplémenté en extrait par rapport au lait témoin (sans supplémentation).

Diverses étapes ont été franchies dans cette étude pour atteindre ses objectifs.

- Collecte de lait cru et de plantes de la région de Mila.
- Préparation d'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis*.
- Fait l'activité antibactérienne.
- Ajout de différentes concentrations d'extrait de lait cru.
- Suivi de la dynamique de croissance microbienne.
- Calcul des paramètres de croissance dynamique.

Ces travaux ont débuté le 3 Décembre 2022. Les expériences ont été réalisées au niveau du laboratoire de la Faculté des Sciences et Sciences de la Vie du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf à Mila.

1. Matériel végétal

1.1 *Myrtus communis*

La cueillette de cette plante a été effectuée durant le mois de décembre 2022 (dans la région de Hamala wilaya de Mila nord-est de l'Algérie (36°37'15.61"Nlt., 6°17'2.64"E long.et 241m d'altitude), zone sub-humide.

1.2. Préparation de matériel végétal

1.2.1. Séchage

Les feuilles du Myrte sont séchées à l'ombre sur du papier propre à l'aire libre, non exposée à l'humidité, sans recourir à un traitement thermique pour réduire la perte de

composants actifs. Ils sont ensuite stockés dans des sacs en papier propre jusqu'à leur utilisation.

1.2.2 Broyage

À l'aide d'un moulin électronique, les feuilles du Myrte sèches sont broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui est conditionnée dans un bocal en verre propre et sec (**Figure 05**).



Figure 05 : Feuilles de *Myrtus communis* L.

1.2.3. Préparation de l'extrait hydroéthanolique de Myrtus

L'extrait hydroéthanolique a été préparé par ajout 150ml d'un mélange 50/50 (v/v) à 93g de poudre de plante *M. communis* pendant 72 heures, puis filtrée 4 fois sur papier filtre standard, le filtrat a été concentré sous pression réduite à l'aide d'un rotavapor pour éliminer toute trace d'éthanol, l'extrait a été placé dans une étuve à 40°C en boîtes de Pétri jusqu'à évaporation totale (15 jours), et après l'extrait sec a été gratté avec une spatule suivi d'un léger broyage manuel au mortier pour obtenir un très fin poudre qui a été pesée et stockée dans un petit bocal en verre bien ombragé et hermétiquement fermé (**Figure 06**), le rendement obtenu est : 20,729% calculé selon la loi : **Rd= M'/M ×100**

Rd: rendement exprimé en %.

M': masse en grammes de l'extrait sec résultats en gramme (g).

M: masse de la matière végétale à traiter en gramme (g).

- Les étapes de préparation de l'extrait hydroéthanolique sont les suivantes :

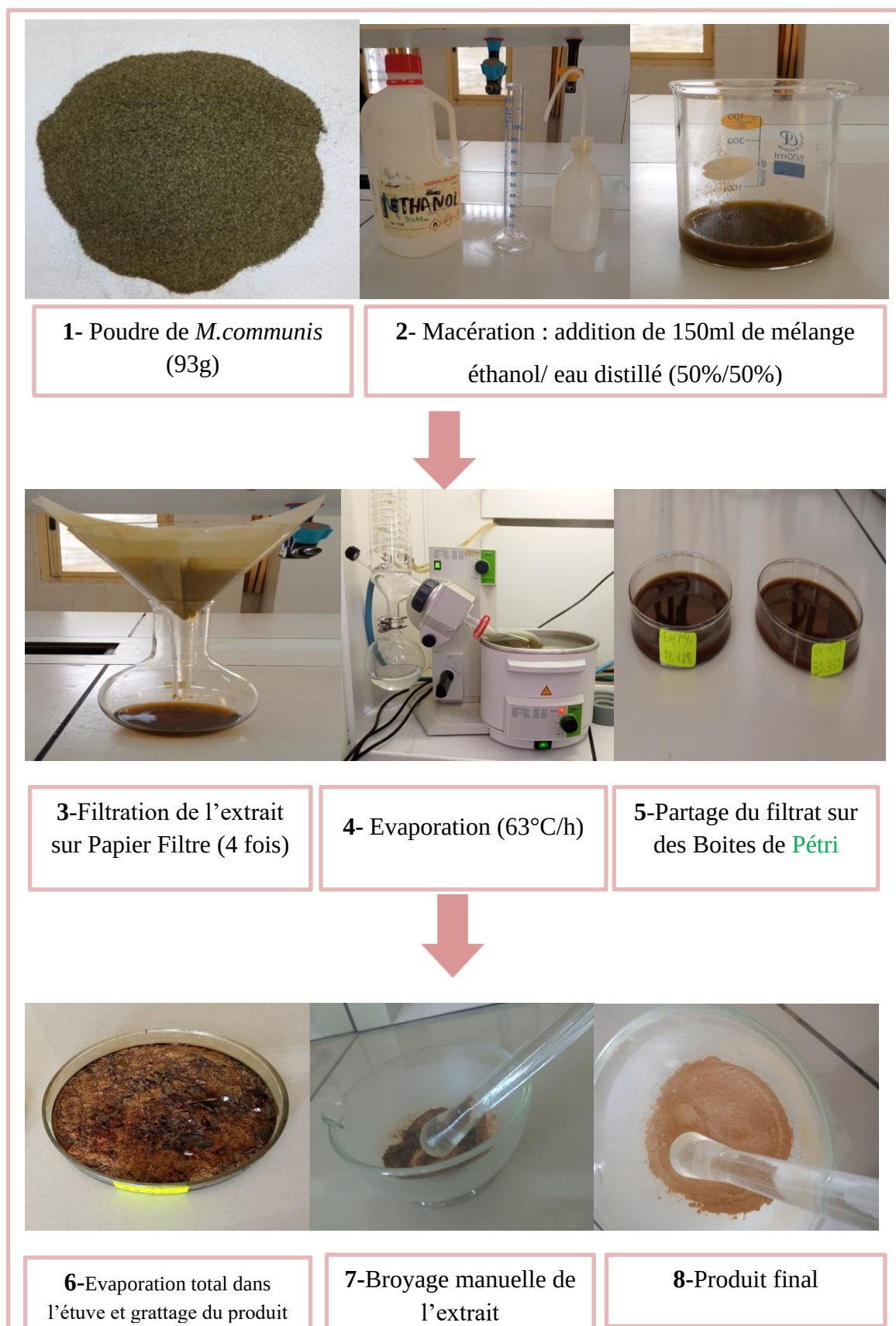


Figure 06 : Protocole de préparation d'extrait hydroéthanolique de *M.communis*.

2. Etalonnage d'acide gallique

D'abord, on prépare une solution d'acide gallique que à une concentration (1mg/ml), puis on prend 1ml et on dilué en ajoutant 9ml de méthanol pour obtenir la concentration requise par les concentrations suivantes : 80, 40, 20, 10, 5 µg/ml. Après cela, on prépare 5 tubes et on met en ordre un volume de méthanol (1900,1800,1600,1200,400 µl) puis on ajoute l'arrangement est une solution d'acide gallique 100µg/ml (100,200,400,800,1600 µl) puis on fait 2 séries de dilutions ,enveloppez d'abord les tubes dans du papier d'aluminium puis prélevez 0,5ml d'acide gallique dans chaque tube et ajouter 2,5 folin, 2ml NaCO₃ et le témoin, changer l'acide gallique avec 0,5ml méthanol après les avoir placés pendant 90 min dans l'incubation et lu l'absorption à 760 nm contre le blanc dans un spectrophotomètre.

3. Dosage des polyphénols

La teneur en phénols totaux a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu suivant le protocole appliqué en 2007 par Mata et ces collaborateur.

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrie. Ayant une absorbance maximale à 760 nm.

3.1. Principe

Le réactif de folin- ciocateu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et hosphomolibdique, il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungestion et de molybdène (**Singeleton et Rossi, 1965**).

Une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) du standard de référence (acide gallique) a été établie. Les résultats sont exprimés en µg EAG/mg d'extrait.

La coloration bleu dont l'intensité et proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne maximum d'absorption à 760 nm.

3.2. Mode opératoire

Pour obtenir une concentration de 0,25 mg/ml on a besoin d'une solution mère 1mg/ml, on prend 0,5 de cette solution et on l'a rajoute 1,5 ml de méthanol, on obtient un volume de 2ml avec une concentration 0,25. On devisé ces 2ml sur 4 tubes chacun de 0,5 ml. Puis préparer 3 tube en 0,5 ml d'extrait de myrte et 2,5ml folin et 2ml NaCO₃, le blanc de méthanol à la place de la solution d'extrait de myrte puis on port les Tube à 37°C pendant

90min à l'abri de la lumière l'absorbance est mesurée à 760nm contre le blanc. La concentration des polyphénols totaux contenus dans les extraits de myrte ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage.

4. Dosage des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de Trichlorure d'Aluminium, celle-ci est la plus employée, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) est réalisée à partir d'une série de solution de quercétine de différentes concentrations soumis aux analyses de leur absorbance. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

La coloration jaune dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés flavonoïdes présents dans le milieu donne maximum d'absorption à 430 nm.

4.1. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, ils forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Fer et aluminium). Ceci traduit que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux Atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Swain et al ,1959).

4.2. Mode opératoire

Tout d'abord, nous préparons l'extrait Myrtus (10mg d'extrait +10ml MeOH) Nous préparons 1ml et mélangeons avec 1ml de solution AlCl_3 (2% dans le méthanol). En utilisant les mêmes conditions nous préparons le contrôle (Témoin) avec le méthanol à la place d'extrait de Myrtus, toutes les mesures ont été réalisées en triplicata après les avoir placés pendant 15 minutes dans l'incubateur à température ambiante et nous avons lu l'absorbance à 430 nm contre le blanc dans un spectrophotomètre.

4.2.1 Etalonnage de quercétine

Une solution mère de quercétine est préparée par dissolution de 10mg dans 10 ml de méthanol, ensuite des dilutions sont préparées à partir de celle-ci dans un volume final de 2ml. Dans des tubes à essai, 1 ml de trichlorure d'aluminium est ajoutée à 1ml de chaque dilution avec une agitation. Après 15 min d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante, les

absorbances de la couleur jaune résultantes sont lues dans un spectromètre UV visible à 430nm. Les résultats sont rapportés à un courbe étalon et exprimés en équivalent de quercétine. Le blanc est préparé de la même manière sauf l'extrait est remplacé par le solvant. Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

5. Evaluation de l'activité antibactérienne

5.1 Préparation des milieux de culture

5.1.1 Gélose nutritive (GN)

Un milieu de culture dans la masse riche en éléments nutritive utilisé pour les micro-organismes peu exigeants, il est impliqué dans plusieurs méthodes d'analyses.

D'après la fiche technique de boîte de gélose la concentration pondérale est de 28g/L. On a posé 28g de la poudre, dissoudre la poudre dans un litre d'eau distillée et le barreau mantique sur une plaque chauffante agitatrice. Ensuite verser le milieu dans des flacons en verre et stériliser immédiatement en autoclave pendant 10 min à 121°C (**Figure 07**).



Figure 07 : Préparation de milieu de culture Gélose nutritive.

5.1.2 Gélose Mueller-Hinton (GMH)

GMH est un milieu standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries peu exigeantes. On a met 35g de poudre de GMH dissout dans un litre de l'eau distillée sur une plaque chauffante agitatrice, Puis verser le milieu dans des flacons en verre et le stériliser immédiatement en autoclave pendant 10 min à 121°C (**Figure 08**).



Figure 08 : Préparation de milieu de culture Gélose Mueller-Hinton.

5.1.3 Eau physiologique

Dissoudre 9g de NaCl dans un litre d'eau distillée sur une plaque agitatrice pendant 2 min, Puis par une pipette graduée de 10 ml prendre 9ml de l'eau physiologique sur des tubes avués, Après dans un autoclave stériliser l'eau physiologique dans les tubes (**Figure 09**).

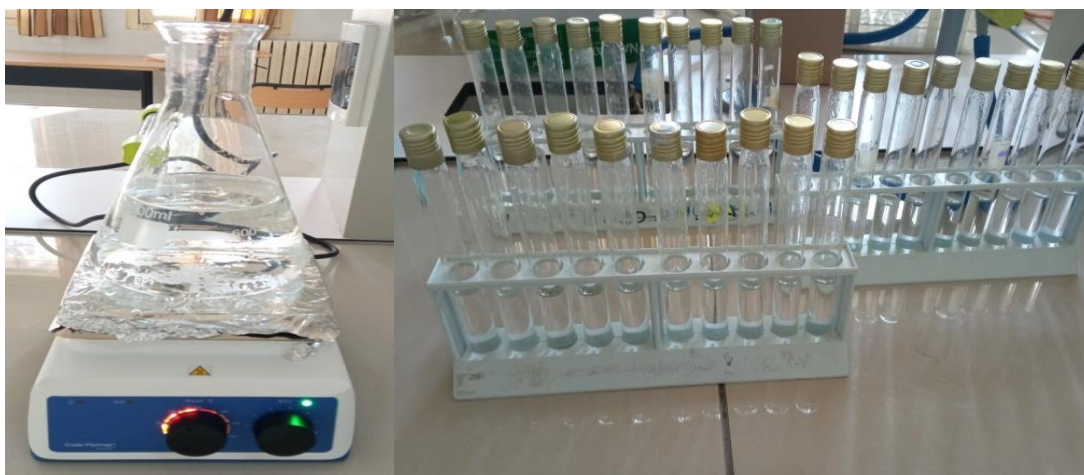


Figure 09 : Préparation de l'eau physiologique.

5.2. Préparation des disques

Après séchage de gélose on a met des disques de papier filtre de 6mm de diamètre, ensuite nous avons surmonté notre extrait et DMSO.

5.3. Micro- organismes utilisés

Les extraits de *Myrtus communis* L. ont été testés contre des bactéries pathogènes de référence :

- *Escherichia coli* ATCC25922: C'est une bactérie à Gram négatif, commensale du tube digestif de l'homme et de l'animal (**Kaper et al., 2004**).
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 : Ce sont des bacilles à Gram négatif il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques (**Percival, 2004**).
- *Streptococcus aureus* ATCC25923 et ATCC2856: Ce sont des Gram positif, responsable d'intoxication alimentaire, d'infections localisées suppurées (**Percival, 2004**).
- *Enterococcus faecalis* ATCC29212 et ATCC49532 : Provoquent toute une gamme d'infections, dont des endocardites, des infections urinaires, des prostatites, des infections intra-abdominales.

5.4. Méthode de diffusion en milieu

On a préparé des colonies jeunes de bactéries de 24h puis une suspension bactérienne a été réalisée dans l'eau physiologique stérile, on a mesuré la DO de cette suspension jusqu'à avoir la même DO de 0,5 Mc Ferland (une suspension de 0,08 à 0,1 lue à une longueur d'onde de 625nm. Des bactéries ont été ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Muller Hinton (le milieu MH) à la présence de Bec bunsen puis déposée les disques à la surface de gélose à des points bien définis à la fin ajouter 10ul d'extrait (DMSO+ l'extrait de *Myrtus*) sur les disques à des concentrations différentes. Les boîtes ont été laissées pendant 30min à 1h à température ambiante pour une rediffusion des substances, incubées à 37°C à l'étuve pendant 24h (**Singleton et Rossi, 1965**).

5.5. Lecture des résultats

Après incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition circulaire transparente autour du disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. L'activité antibactérienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.

6. Suivi de la cinétique de croissance bactérienne des FTAM du lait cru bovin

Le 26 Mars 2023 est le jour zéro des travaux expérimentaux de traitement de lait, le concept de se travailler est de suivre la croissance bactérienne de flore totale de lait supplémentées en extrait hydroéthanolique de *M. communis* et de les stocker à 4°C à

intervalles réguliers 0, 2, 4, 6, 8 jours, l'expérience a été menée dans des conditions hautement stériles avec un bec bunsen.

6.1. Échantillonnage du lait

6.1.1 Site de prélèvement

Les échantillons de lait cru ont été prélevés dans une ferme située à Lemkalfa, commune de Mila, Nord Est de l'Algérie (487 m d'altitude) (**Figure 10**).



Figure 10 : site de prélèvement.

6.1.2 La Vache d'étude

Race	Montbéliarde
Robe	Pie rouge
Age	2 Ans
Santé	• Suivi régulière par un vétérinaire • Vaccination à jour
La Traite	Deux fois par jour
Production laitière	13 Litres
Alimentation	• Alimentation à base de foin et de pâturage • Accès à de l'eau propre en permanence • Complément alimentaire en granulé pour la production laitière

6.1.3 Prélèvement

Les prélèvements ont été collectés dans un flacon stérile de 1L d'une façon aseptique au moment de l'échantillonnage, les extrémités des trayons ont été nettoyées, les 3 premiers jets ont été éliminés et les échantillons de lait cru ont été prélevés des quatre mamelles dans un flacon puis acheminés immédiatement dans une glacière vers le laboratoire de la Faculté des sciences centre universitaire-Mila. Dès leur arrivée au laboratoire, les échantillons ont fait l'objet d'une série d'analyses microbiologique et physico-chimiques.

6.2. Préparation des concentrations de l'extrait ajouté au lait

6.2.1 Préparation d'une solution mère

- Mesure 3,5g d'extrait de Myrte et dissoudre dans 35ml d'eau distillée avec une agitation manuel.
- Puis ajouter l'extrait préparé au lait en concentration différents.
- Sur le Vortex bien agiter le flacon mère du lait puis répartition 100 ml ; 97,5 ml ; 95 ml, 90 ml dans des flacons stérilises identifiés respectivement C1=10 mg/ml (10ml SM + 90 ml Lait) et C2=5 mg/ml et C3= 2,5 mg/ml et un témoin de *M.communis* passer chaque flacon à travers la flamme bleu de Bec Bunsen avant et après l'ajout de lait, l'échantillon sont ensuite conservés à de 4°C pendant 8 jours (**Figure 11**).



Figure 11 : Ajout de l'extrait Myrtus au lait.

6.2.2 Préparation des dilutions décimales

Après l'agitation des flacons au vortex on prélève à l'aide d'une micropipette avec l'embout stérile 1ml du lait agitée et nous ajoutons 9ml de l'eau physiologique contenus dans un tube à essai, puis on agite sur vortex puis on procède à des dilutions successives jusqu'à 10^{-5} (Figure 12).



Figure 12 : préparation des séries de dilutions.

6.3. Dénombrement de la flore totale mésophile (FTAM)

Le dénombrement a été réalisé sur gélose nutritive. Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel et permet d'en suivre l'évolution. Le nombre des germes « totaux » pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition du produit.

6.3.1. Mode opératoire

Préparer et identifier une série de répétitions de 02 boîtes de Pétri pour chaque série de dilution c'est-à dire 10 boîtes au total, coder soigneusement et clairement les boîtes pour chaque dilution.ensemencer des boîtes par 1 ml de chaque dilution (10^{-1} jusqu' à 10^{-5}). Ajouter 15 à 20 ml de milieu de gélose nutritive. Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires. Après solidification, les boîtes sont retournées puis incubées à 37°C pendant 48 heures, après cette durée, on dénombre toutes les colonies.

6.3.2. Détermination du nombre UFC/ml

Les colonies ont été comptées pour chaque dilution pour déterminer d'UFC/ ml en utilisant la formule suivante : En cas d'une seule boîte exploitable : $C_n = (\text{nombre d'UFC comptées} / \text{volume d'inculum déposé}) \times \text{facteur de dilution}$ En cas de deux boîtes exploitables : $C_n = (\text{la somme de nombre d'UFC comptées} / 1,1 \times \text{volume d'inculum déposé}) \times \text{facteur de dilution (le moins fort)}$ Avec intervalle des boîtes exploitables entre [30-300].

6.4. Analyse biomathématiques

Les résultats d'analyse des données statistiques obtenus dans ce travail ont été réalisés pour :

- ✓ Logiciel « origin2022b »
- ✓ Site « Combase » par le « modèle Baranyi et Roberts »
- ✓ Logiciel tableur « Excel ».

Chapitre IV

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Aspect et rendement d'extraction

L'extrait récupéré après macération hydroalcoolique (EtOH 50%) est pesé pour déterminer le poids résultant. Le rendement est déterminé par rapport à 93g du matériel végétal sec de feuilles de *Myrtus communis*. On a obtenu des résultats d'extrait brut sec, montrant que le rendement est important de 20.73%.

L'extrait obtenu est de couleur vert foncé, non visqueux avec un goût amer mordant et une odeur très forte (odeur de henné).

Dans notre étude, le rendement obtenu à partir de l'extraction par macération à froide avec l'éthanol (Hydroéthanolique) des parties aériennes de *Myrtus communis*. **Sisay et al (2019)** aboutit à un rendement de 16.33 % d'extrait hydrométhanolique, comparant avec le rendement de notre extrait (20,73%), notre résultats sont supérieurs à leurs résultats. Dans le travail de **Belmimoun (2016)**, un extrait éthanolique a été préparé à partir des feuilles de *M. communis*, le rendement en extrait brut est de (10%) Cela indique qu'il est plus faible par rapport à notre rendement.

D'autre étude réalisée par (**Bouchenak et al., 2020**), qui travaillaient sur l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* L. poussant spontanément dans la Wilaya de Boumerdes, leurs rendements sont compris entre 30,6% pour l'extrait méthanolique et 4,4% pour l'extrait éthanolique, elles sont très loin de nos résultats.

En comparant nos résultats avec ceux de (**Meddah et al., 2016**), qui travaillaient sur l'extrait aqueux de *Myrtus communis* L, leur rendement atteint de 24.65%, donc c'est supérieure de nos résultats. Cette différence peut être expliquée par le diamètre des particules de la matière végétale, le mode de séchage et le solvant d'extraction. En effet, selon **Chaouch (2014)**, les teneurs en extraits sec varient non seulement d'une plante à une autre, mais également en fonction des paramètres de l'extraction des polyphénols : la température, la taille des particules et les solvants d'extraction.

2. Teneur en composés phénoliques totaux et flavonoïdes

L'analyse quantitative des extraits par des dosages spectrophotométriques, a pour objectif la détermination de la teneur de quelques composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec l'acide gallique. Le contenu phénolique total de nos extraits a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage ($y = 0,0079x + 0,0455$, $R^2 = 0,9978$) (figure 13)

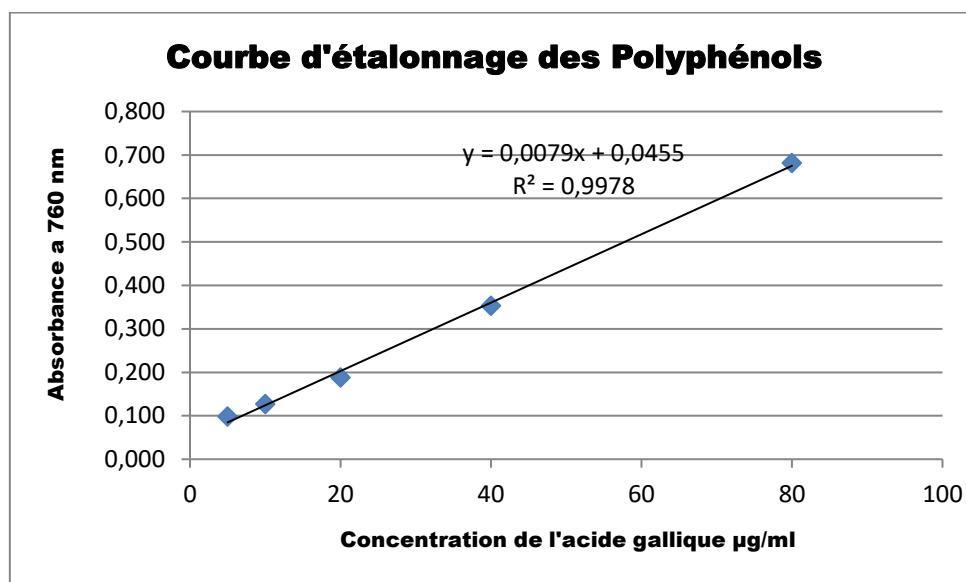


Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Tableau 07 : Teneurs en composés phénoliques totaux et flavonoïdes dans l'extrait.

Extrait testé	Teneurs en phénols totaux (µg Eq AG/mg d'extrait)	Teneurs en flavonoïdes totaux (µg EQ/mg d'extrait)
E.hydroéthanolique de <i>M.communis</i>	690,29 ± 8,80	18,79 ± 1,60

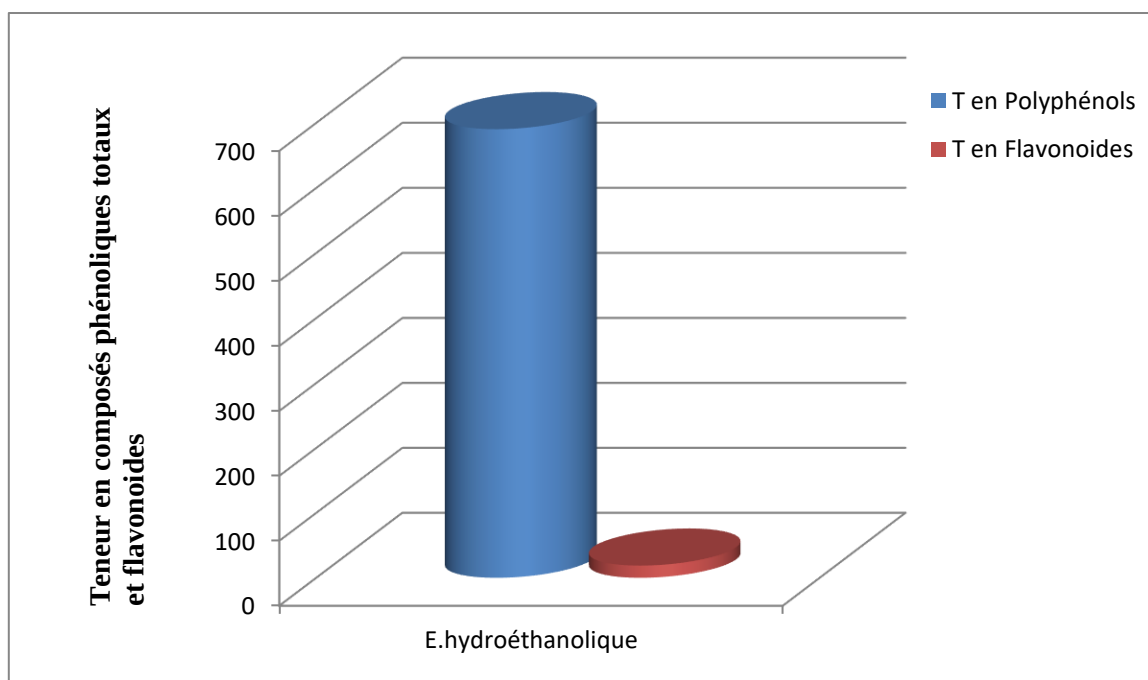


Figure 14 : Teneur en composés phénolique totaux et flavonoïdes d'extrait de *M. communis*.

A la première lecture des résultats (**Figure 14**), nous constatons que les teneurs en polyphénols des extraits varient selon l'espèce et selon le type de solvant employé. En effet, la teneur est constatée dans l'extrait Hydroéthanolique de plante *Myrtus communis* ($690,29 \pm 8,80 \mu\text{g Eq AG/mg d'extrait}$). Donc *M. communis* est très riche en Polyphénols totaux. Si on compare nos résultats avec d'autres travaux, on remarque que notre résultat est six fois supérieur à les résultats obtenus par **Meddah et ses collaborateurs (2016)**, qui ont montré que les taux de polyphénols d'extrait aqueux de *M.communis* d'Algérie (Tlemcen) atteinte $121,23 \pm 0,77 \text{ mg EAG/g}$, Dans les résultat de **Raeiszadeh et al., (2018)** la teneur en polyphénols totaux d'extrait éthanolique de *M. communis* de Iran (Haji abad) est ($264.86 \pm 4.19 \text{ mg GAE/g}$).

D'autre part, La teneur en polyphénols totaux des résultats d'extrait éthanolique de *M. communis* de tlemcen de **Belmimoun, (2016)**, est de $143,45 \pm 1,23 \text{ mg GAE/g}$. Elle est inférieure et plus loin à notre résultat. Tandis que d'autres travaux réalisés sur le *M. communis* de Maroc dont les teneurs en polyphénols allant de ($126,41 \pm 1,03 \text{ mg EAG/g d'extrait}$) (**Bouyahya et al., 2016**). Sont aussi plus loin à notre résultat.

En comparant nos résultats avec ceux de (**Douhri et al., 2017**), qui travaillaient sur l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* de Maroc, La teneur en polyphénols totaux atteinte de ($134.92 \pm 0.48 \text{ mg EAG/g d'extrait}$). Nos résultats sont largement supérieurs de ceux obtenus

par **Benchikh et al., (2018)**, dont le taux des polyphénols est de l'ordre de 86.93 ± 0.68 mg EAG/g pour l'extrait aqueux et 149.25 ± 3.11 mg EAG/g pour l'extrait méthanolique du *Myrtus communis* L. récolté dans la wilaya de Jijel.

❖ Teneur des flavonoïdes totaux

La courbe d'étalonnage montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations utilisées (figure 15). Les analyses quantitatives des données ont été déterminées suite à une régression linéaire de la courbe ($y = 0,044x - 0,0976$) et le coefficient de corrélation ($R^2 = 0,999$) de la courbe d'étalonnage exprimée en μg équivalent quercétine par mg d'extrait de *Myrtus communis* (μg EQ/mg d'extrait).

D'après les résultats obtenus, l'extrait de *M. communis* contient une teneur en flavonoïdes de $18,79 \pm 1,60$ μg EQ/mg d'extrait hydroéthanolique qui est semblable avec celle de (**Bouyahya et al., 2016**) d'extrait éthanolique avec ($18,41 \pm 0,43$ mg EQ /g d'extrait).

Nos résultats sont proches de ceux obtenus par **Snoussi et ses collaborateurs (2021)** qui ont montré que la teneur la plus élevée en flavonoïdes dans le myrte réside dans l'extrait éthanolique de Tunis est de avec une valeur entre 11.3 à 28.2 mg QE/g d'extrait.

La teneur de notre extrait est largement supérieur de ceux obtenus par **Benchikh et al., (2018)** dont le taux de flavonoïde est de l'ordre de $3,02 \pm 0,02$ mg EQ/g pour l'extrait aqueux mais inférieur à 26.38 ± 0.13 mg EQ/g pour l'extrait méthanolique du *Myrtus communis* L. récolté dans la wilaya de Jijel.

Nos valeurs obtenus sont supérieures avec les résultats obtenus par **Belmimoun et al., (2016)**, sont $8,50 \pm 0,342$ mg EQ /g d'extrait éthanolique.

Par rapport aux résultats d'autres travaux comme ceux de **Meddah et al., (2016)**, qui ont obtenu des teneurs de $7,256 \pm 0,57$ mg EQ/g d'extrait aqueux de *M communis*, notre résultat est largement supérieur ($18,79 \pm 1,60$ μg EQ/mg d'extrait hydroéthanolique).

D'autre part, Notre résultat est comparable avec celles de **Belmimoun et al., (2016)**, sont ($22,423 \pm 0,12$ mg EQ /g) d'extrait méthanolique.

La variation du teneur en composés phénolique totaux et flavonoïdes de la plante *Myrtus communis* par plusieurs auteurs en raison de la différence de méthode d'extraction utilisé (macération, décoction...), aussi à la différence dans la concentration de rendement obtenue (rendement fort contient un teneur très important en CPT et Flavo), d'autre part l'origine de

la plante utilisé et les facteurs climatiques sont considérés comme un facteur plus important dans cette variation (Figure 15).

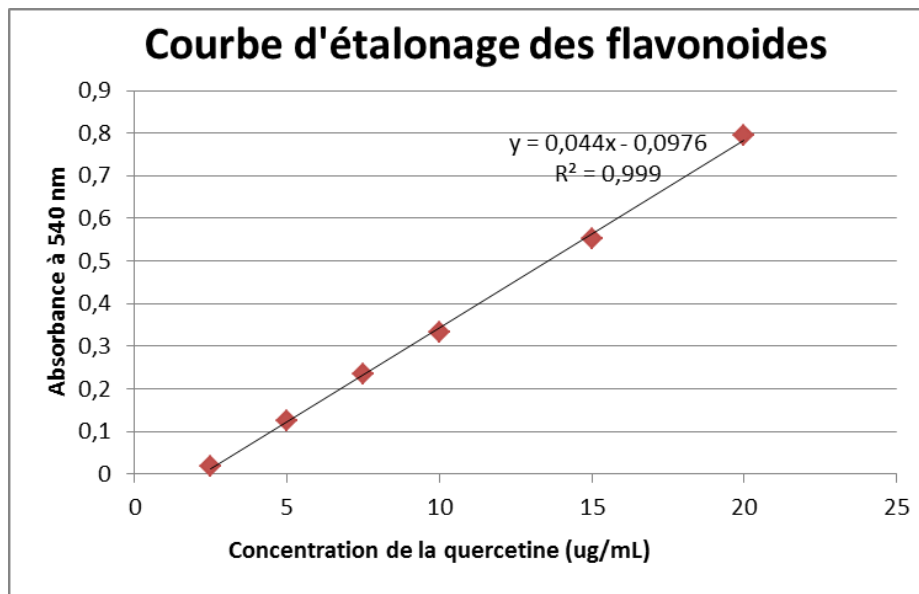


Figure 15 : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes.

3. Activité antibactérienne

Face au problème de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été mené sur le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes. Notre objectif est de mettre en évidence par la technique de diffusion sur disques en papier une éventuelle activité antibactérienne des extraits de plante médicinale : *Myrtus communis* contre six souches bactériennes : *Escherichia coli* ATCC25922, *Sataphylococcus aureus* ATCC25923, *Sataphylococcus aureus* ATCC2856, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Enterococcus faecalis* ATCC29212 et *Enterococcus faecalis* ATCC49532.

L'antibiogramme a pour but de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques. Cette sensibilité est exprimée par l'apparition de zone d'inhibition autour des disques. La mesure de celles-ci est présentée dans le **tableau 08** et la **figure 16** qui représentent les résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de *M. communis* a cinq concentration : 40 ; 20 ; 10 ; 5 ; 2,5 mg/ml sur les six souches bactériennes, l'utilisation de l'extrait hydroéthanolique de *M. communis* et l'utilisation de l'antibiotique de gentamicine (Annexe 3).

Tableau 08 : Activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de *M.communis*.

Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne (mm)					
	Concentrations d'extrait mg/ml					Résultats de l'ATB
	40	20	10	5	2,5	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC2856	17,73±0,873	15,25±0,368	11,68±0,647	9,50±1,255	8,25±1,056	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	17,37±0,970	14,02±0,556	12,82±1,113	10,19±0,612	7,26±1,452	21,99± 0,177
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC49532	22,79±3,528	16,55±1,345	13,03±0,626	10,16±0,654	11,42±2,385	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29912	-	-	-	-	-	17,05± 0,445
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	8,25±0,500	7,75±0,500	6,88±0,250	-	-	20,5± 0,707
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	-	-	-	-	21,51± 0,509

(-): Aucune zone d'inhibition

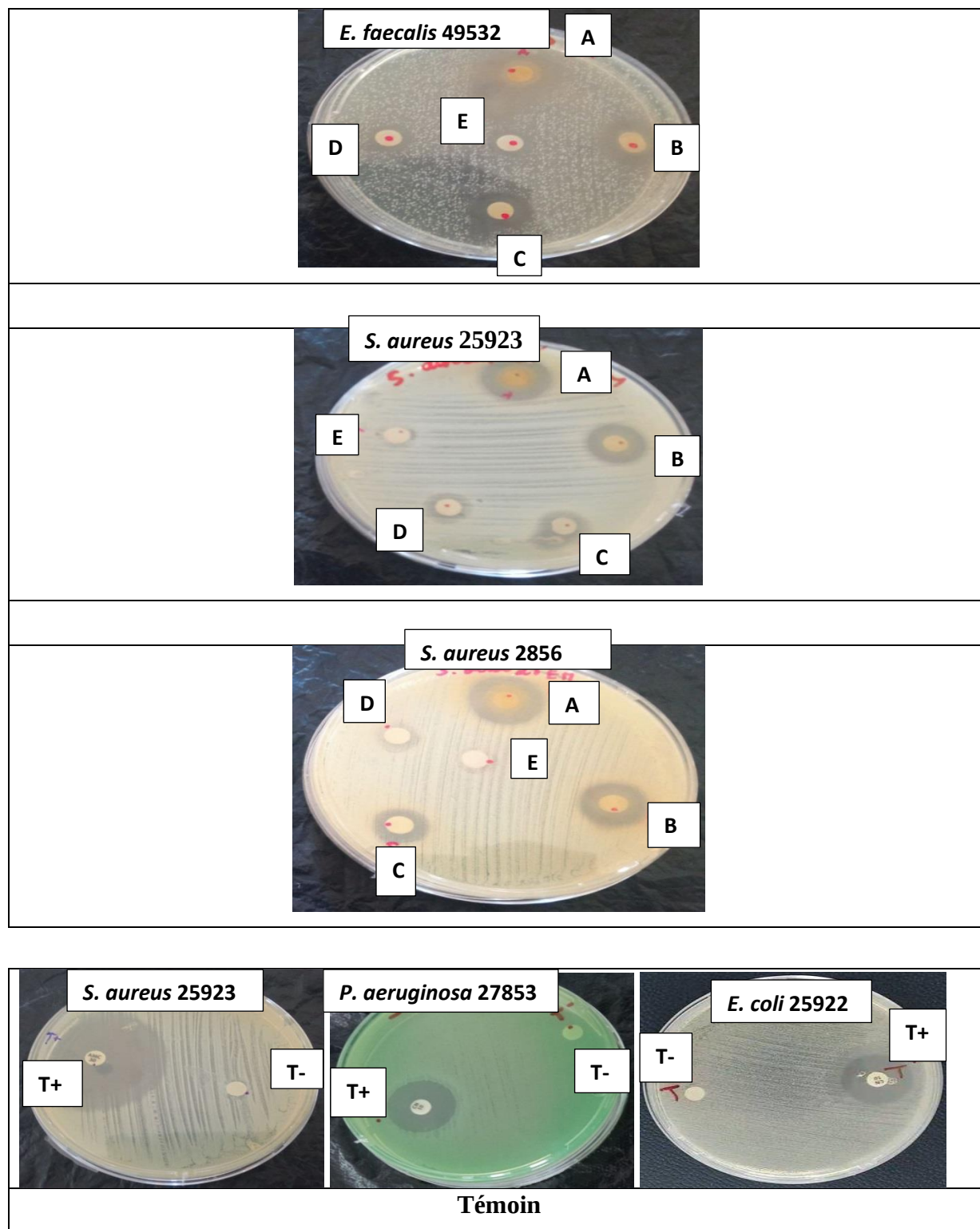


Figure 16 : Photos représentant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne de *M. communis* (A= 40 mg/ml, B= 20 mg/ml, C= 10 mg/ml, D= 5 mg/ml, E= 2,5 mg/ml, T-= DMSO, T+= Gentamicine).

Les résultats de l'activité antibactérienne d'extrait hydroéthanolique de myrte à la concentration de 100 mg/ml testée vis-à-vis les six souches bactériennes (*S. aureus* ATCC2856, *S. aureus* ATCC25923, *E. faecalis* ATCC49532, *E. faecalis* ATCC29912, *E. coli* ATCC25922, *P. aeruginosa* ATCC27853) montrent que notre extrait a exercé un effet remarquable contre la majorité des souches testées surtout celles à Gram positif.

L'extrait de myrte est plus actif sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* 49532) avec des zones d'inhibitions allant de 7,26 mm à 22,79 mm. Les valeurs enregistrées contre les souches à Gram négatif ne dépassent pas 8,25 mm de diamètre.

Les souches ont montré des sensibilités vis-à-vis de gentamicine, la souche la plus sensible est *Enterococcus faecalis* 49532 (22,79 mm) suivi de *Staphylococcus aureus* 25923 et 2856 (17,73 mm) et enfin *Escherichia coli* 25922 (8,25 mm).

Dans notre étude, les résultats d'analyses microbiologiques ont montré que l'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis* a un effet antibactérien très marqué à des concentrations élevés (10 ; 20 ; 40) mg/ml pour les bactéries de Gram+ par contre pour les bactéries de Gram- ont ne montre pas une action inhibitrice précisément dans les concentrations 5 et 2,5 mg/ml.

Notre extrait a exercé un effet très proche de celui de l'ATB contre *S. aureus* ATCC25923 17,37 mm pour la concentration maximal (40 mg/ml) de l'extrait et 21,98 mm pour l'ATB. Et mieux que l'ATB contre les souches suivantes : *S. aureus* ATCC2856 et *E. faecalis* ATCC49532 de 17,73 et 22,79 mm pour la concentration maximal (40 mg/ml) d'extrait et pour l'ATB aucun effet inhibiteur observé. Par contre dans les souches suivantes : *E. coli*, *E. faecalis* ATCC29212, *P. aeruginosa* on a observé que l'effet de l'ATB marqué est plus fort que l'extrait de 20,5 ; 17,04 ; 21,51 mm de diamètre respectivement et pour l'extrait un effet inhibiteur plus petite ou nul marquer.

Meddah et ces collaborateurs, 2016 ont montré que l'extrait aqueux de myrte de Tlemcen exprime une efficacité importante contre *S. aureus* (10±0.07), *E. coli* (9.5±0.02) mm de diamètre respectivement. Leur résultats sont similaires à nos résultats dans la concentration 5 mg/ml (10,19±0,612 mm) pour *S. aureus* par contre pour *E. coli* dans la concentration 40 mg/ml. D'autre partie dans les résultats de (**Bouyahya et al., 2016**), l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* à un effet antibactérienne fort contre les bactéries de *S. aureus* (28±0,46

mm), *E. coli* (12 ± 0.8 mm) et *P. aeruginosa* (15 ± 0.60 mm) donc leurs résultats sont en accord avec nos résultats.

Selon les résultats de (Mir et al., 2020), l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* récolté dans la région d'Est de l'Arabie Saoudi a montré des zones inhibitrice variables qui s'élèvent à 25 mm *S. aureus* et de 9 ± 1.2 mm *E. faecalis* qui ont constaté que l'extrait éthanolique a inhibé la croissance des bactéries *S. aureus* et *E. faecalis* donc leurs résultats assez similaires à nos résultats. De même (Raeiszadeh et al., 2018), ont montré que l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* à un effet inhibiteur potentiel contre *S. aureus* (30.5 ± 0.4 mm), *P. aeruginosa* (29.1 ± 0.8 mm) et *E. coli* (38.3 ± 0.6 mm).

Les résultats obtenus par Sisay et leurs collaborateurs (2017), concernant l'extrait hydrométhanolique de *M. communis* montre qu'il y a une faible activité inhibitrice contre *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, pour des concentrations très faibles CMI=0,80 mg/ml pour *S. aureus*, CMI=0,16 mg/ml pour *E. coli* et CMI=0,80 mg/ml pour *P. aeruginosa*. Ces valeurs sont inférieures par rapport à notre concentrations utilisée donc leur résultats sont plus loin de nos résultats. Par comparaison avec l'extrait méthanolique de *M. communis* qui donne un effet antibactérien contre les souches *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* pour des concentrations faibles CMI=0,781 mg/ml pour *S. aureus* et *P. aeruginosa*, CMI=1,563 mg/ml pour *E. coli* (Abdulqawi et al., 2021).

D'autre part, (Alyousef et al., 2019), montrent que l'extrait aqueux de *Myrtus communis* à une activité inhibitrice contre *S. aureus* de 13 mm, Ces résultats sont similaires à nos résultats dans la concentration 10 mg/ml ($12,82 \pm 1,113$ mm). Aussi, dans l'étude de Raoof et al., 2019, l'extrait méthanolique de *M. communis* à un effet antibactérien contre *S. aureus* pour une faible concentration CMI=0,78 mg/ml.

Enfin (Alizadeh et al., 2016), ont montré que les extraits méthanolique et aqueux de myrte commun exprime une activité inhibitrice importante contre *E. faecalis* (19.70 ± 0.28), *E. coli* (14.00 ± 0.58), *E. faecalis* (17.30 ± 0.28), *E. coli* (12.30 ± 0.50), mm de diamètre respectivement.

L'activité antibactérienne était plus prononcée sur les Bactéries Gram (+) (*S. epidermidis* et *E. faecalis*) que les Bactéries Gram (-) (*E. coli* et *S. flexneri*). La raison pour la différence de sensibilité entre Gram (+) et Gram (-) les bactéries pourraient être attribuées aux différences de constitutions morphologiques entre ces micro-organismes, Bactéries Gram (-)

ayant une membrane phospholipidique externe portant les composants lipopolysaccharidiques structuraux (**Srinivasan et al., 2001**). Cela rend la paroi cellulaire imperméable aux substances chimiques antimicrobiennes. Les bactéries Gram (+) sur d'autre part, est plus susceptible d'avoir seulement un extérieur couche de peptidoglycane qui n'est pas une barrière de perméabilité efficace. Par conséquent, les parois cellulaires des organismes Gram (-) qui sont plus complexes que les Gram (+) agissent comme une barrière de diffusion et les rendent moins sensibles aux agents antimicrobiens que ne le sont les bactéries Gram (+). En dépit de ces différences de perméabilité, cependant, certains des extraits ont encore exercé un certain degré d'inhibition contre Les organismes Gram (-) également (**Holetz et al., 2002**).

L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels due à l'absence de la membrane externe (**Halmi, 2015**). Généralement, il existe six mécanismes possibles de action antimicrobienne, qui comprennent : (1) désintégration de la membrane cytoplasmique, (2) interaction avec les protéines membranaires (ATPases et autres), (3) perturbation de l'extérieur membrane de bactéries gram négatives avec le libération de lipopolysaccharides, (4) déstabilisation de la force motrice du proton avec fuite d'ions, (5) coagulation du contenu cellulaire, et (6) inhibition de la synthèse enzymatique (**Amensour et al., 2010**).

M. communis, en particulier, est très riche en métabolites secondaires, soutenant notamment l'activité antibactérienne globale élevée de interaction synergique ou additive de ces composants bioactifs, *M. communis* est également riche en autres métabolites secondaires, notamment des terpénoïdes, des tanins, saponines et stéroïdes (**Sisay et al., 2019**).

Plus intéressant, l'extrait éthanolique étant bactéricide contre les bactéries Gram positives était inefficace contre les bactéries Gram négatives et la souche fongique *Candida albicans*. Au contraire, pays méditerranéen les plantes d'origine présentent une activité antibactérienne contre Gram négatives quoique inférieurs aux Gram positives. Il est souvent rapporté que la moindre sensibilité des Gram négatives à l'extrait et aux huiles essentielles des plantes est probablement en raison de la présence d'une couche externe de lipo polysaccharide hydrophile (LPS) qui bloque la pénétration d'huiles essentielles hydrophobes et évite son accumulation dans la membrane cellulaire cible (**Mann et al., 2000**). Cependant, dans la présente étude, il a été constaté que l'effet bactéricide était attribué aux dommages causés à la paroi cellulaire des bactéries Gram positives qui ne possèdent pas le LPS hydrophile externe, suggérant que la

cible des métabolites secondaires d'extrait éthanolique de feuilles de *M. communis* pourrait être le couche de peptidoglycane plutôt que la pénétration et l'accumulation de composés dans la membrane cellulaire cible (Bajpai *et al.*, 2008).

On a conclu que l'extrait hydroéthanolique de *M. communis* a une forte activité antibactérienne beaucoup plus contre les souches de gram+. Est peut-être attribuable à la variation de la qualité et de la quantité de bioactifs métabolites secondaires dans l'extrait de partie (feuille) morphologiques, *M. communis*, en particulier, est très riche en métabolites secondaires soutenant notamment l'activité antibactérienne globale élevée de interaction synergique ou additive de ces composants bioactifs (Sisay *et al.*, 2019).

Cette différence de sensibilité est due à la variation de la qualité et de la quantité de bioactifs phytoconstituants, à l'état physiologique de la bactérie, les conditions de conservation, de stockage et de transport, la concentration en extrait utilisé, le procédé et les conditions d'extraction et la diffusion des extraits à travers la gélose (Sisay *et al.*, 2019).

4. Evolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré

4.1. Cinétique de croissance de la flore totale aérobie mésophile

L'évolution de la dynamique de croissance microbienne de la flore totale du lait conservé à 4°C a été suivie durant 8 jours, avec l'addition de différentes concentrations d'extrait éthanolique de *M. communis* les résultats sont les suivants :

Les caractéristiques phénotypiques : populations de différentes tailles (grande, moyenne, petite), différentes couleurs (blanc et jaune) et colonies arrondies régulières ou irrégulières. Certains adhèrent à la surface, tandis que d'autres apparaissent comme des lentilles dans la gélose (Figure 17).

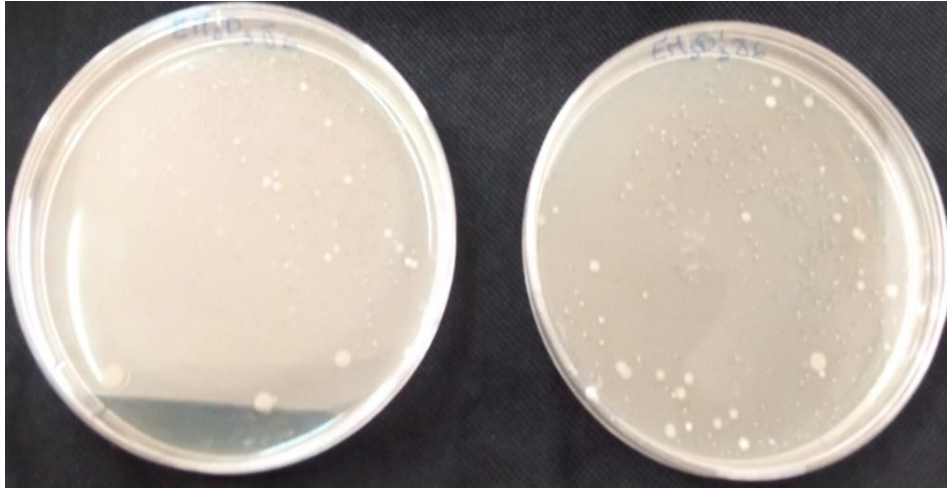


Figure 17 : Flore totale sur gélose nutritive.

Les valeurs obtenues sont calculées par les moyennes de deux répétitions du dénombrement. Les résultats de la dynamique de croissance microbienne en Log UFC. mL⁻¹ de la flore totale du lait cru de vache sont présentés dans les Figure **18,19, 20**.

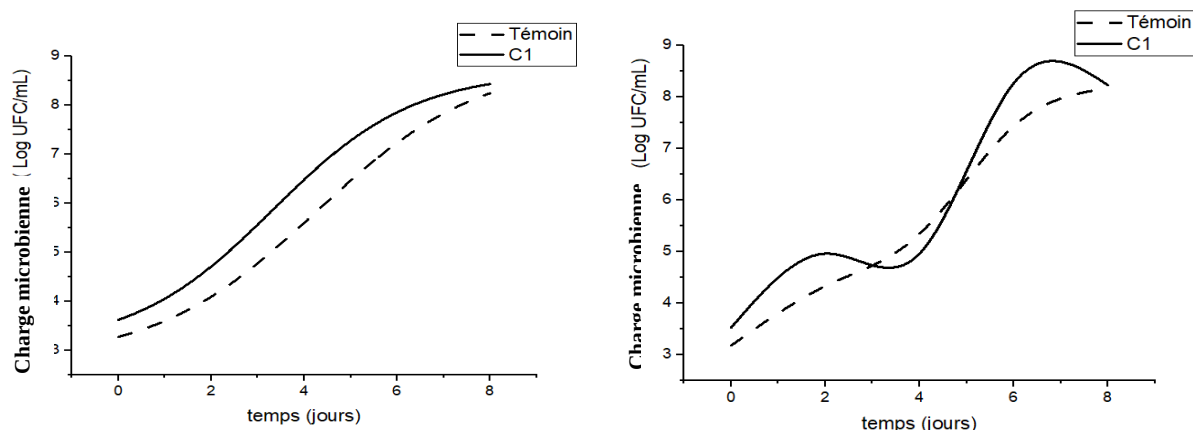


Figure 18 : Evolution de la croissance microbienne de la flore totale cultivable du lait cru stocké à 4°C additionné de l'extrait de *M. communis* à C1=10 mg/mL (model de Baranyi et Roberts) avec et sans modalisation.

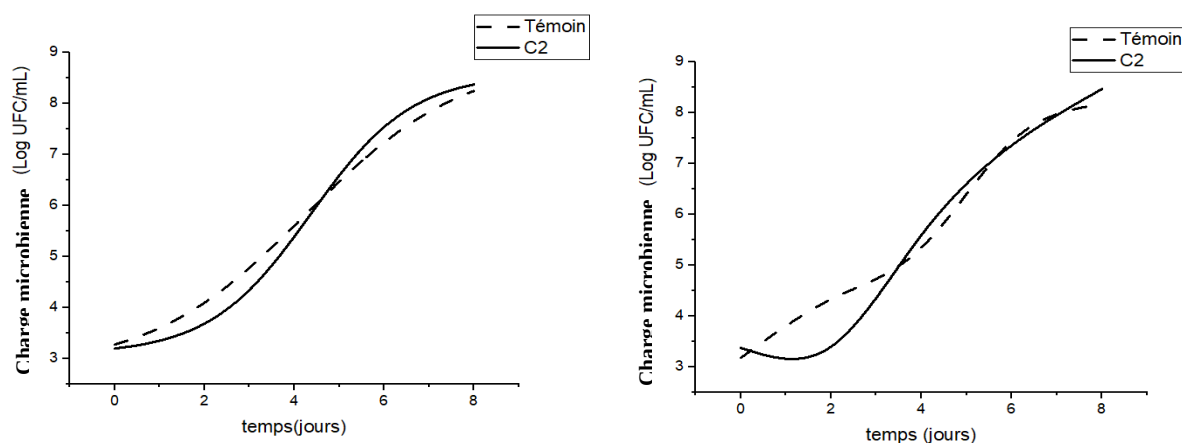


Figure 19 : Evolution de la croissance microbienne de la flore totale cultivable du lait cru stocké à 4°C additionné de l'extrait de *M. communis* à C2=5 mg/mL (model de Baranyi et Roberts) avec et sans modalisation.

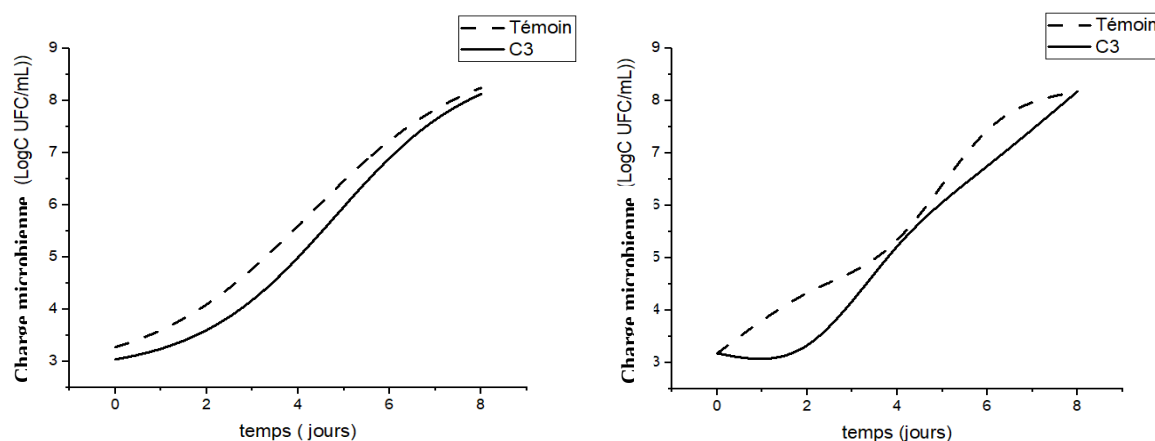


Figure 20 : Evolution de la croissance microbienne de la flore totale cultivable du lait cru stocké à 4°C additionné de l'extrait de *M. communis* à C3=2,5 mg/mL (model de Baranyi et Roberts) avec et sans modalisation.

Cependant le lait traité avec l'extrait hydroéthanolique de *M. Communis* à concentration C1=10 mg/ml, C2=5 mg/ml et C3=2,5 à montre que le nombre de la flore aérobie totale mésophile vu une augmentation continue tout au long des jours de l'expérience dans les trois concentrations.

4.2. Détermination des paramètres cinétiques de la croissance bactérienne

Tableau 09 : Les valeurs des paramètres de croissance bactériennes de la flore totale de lait (obtenu par Modèle Baranyi et Roberts de données de comptage moyen de bactéries viables totales).

Concentration mg/ml	X min	X max	μ max	G
Témoin	3.217 ± 0.434	8.325 ± 0.683	0.819 ± 0.196	1 ± 1.045
2,5 mg/ml	3.097 ± 0.272	8.396 ± 0.593	0.93 ± 0.156	1.928 ± 0.662
5 mg/ml	3.257 ± 0.322	8.503 ± 0.401	1.0897 ± 0.203	2.0555 ± 0.69
10 mg/ml	3.561 ± 0.518	8.362 ± 0.546	0.875 ± 0.279	0.659 ± 1.19

- X max : Niveau maximal de croissance (Log UFC.mL -1)
- μ max: Vitesse maximale de croissance (Δ Log UFC.mL-1 /jour)
- G : Temps de génération (Jours) = $1/\mu$ max

✚ Les résultats des paramètres cinétiques de croissance sont transformés en histogrammes Figures 21, 22, 23.

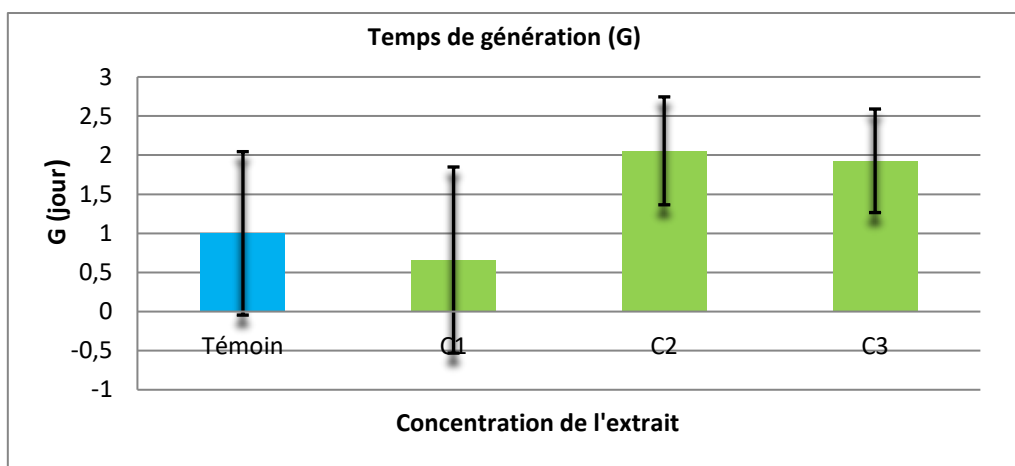


Figure 21 : Effet de l'ajout d'extrait de *M. communis* au lait cru stocké à 4°C sur le temps de génération (G) (C1: 10 mg/ml, C2: 5 mg/ml, C3: 2,5 mg/ml).

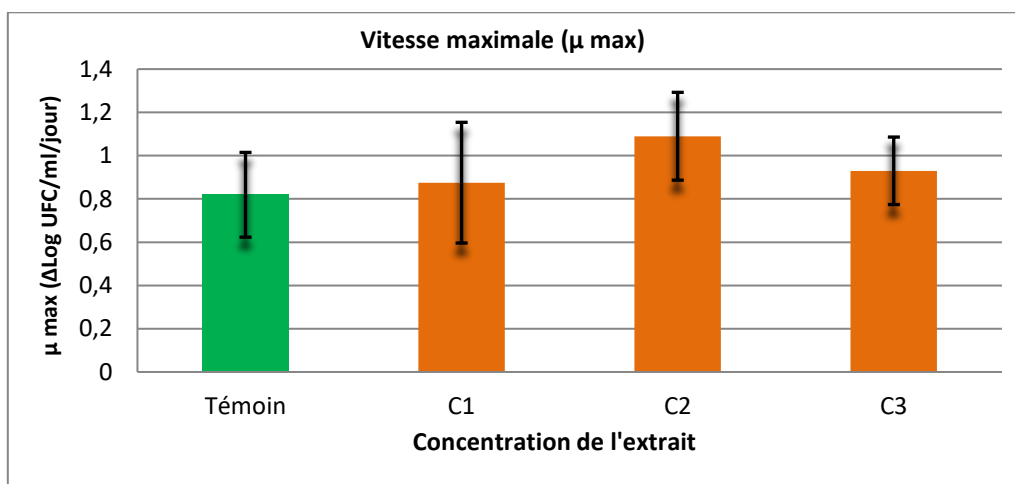


Figure 22 : Effet de l'ajout d'extrait de *M. communis* au lait cru stocké à 4°C sur la vitesse maximale de croissance μ max (C1: 10 mg/ml, C2: 5 mg/ml, C3: 2,5 mg/ml).

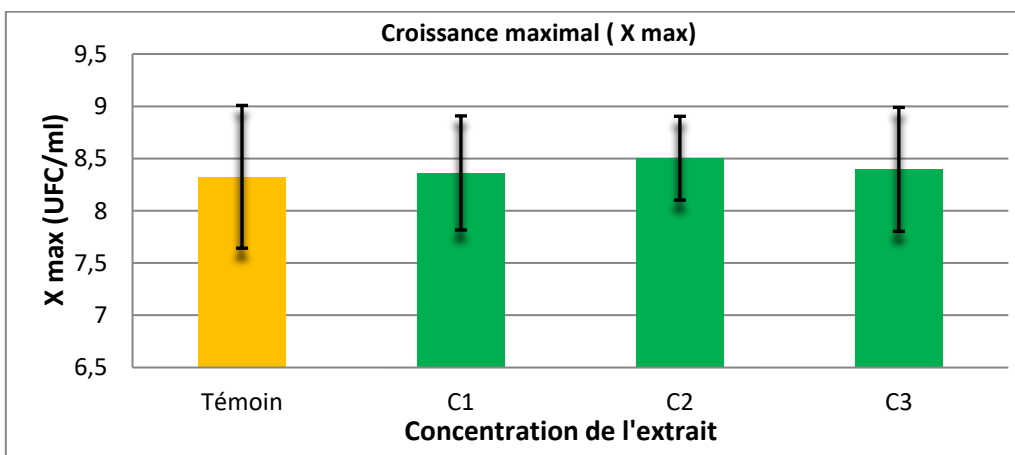


Figure 23 : Effet de l'ajout d'extrait de *M. communis* au lait cru stocké à 4°C sur le Niveau maximal de croissance X max (C1: 10 mg/ml, C2: 5 mg/ml, C3: 2,5 mg/ml).

La flore microbienne «totale» quantifiée lors des analyses de lait sous le terme «germes totaux» représente une image (non exhaustive) de l'ensemble des micro-organismes vivants présents dans l'échantillon de lait. Les plus rencontrés sont les bactéries, mais des levures, des moisissures, des virus et divers protozoaires peuvent également être présents. Ils diffèrent notamment par leur taille et leur niveau de complexité. Les micro-organismes présents dans le lait ont été historiquement utilisés pour la transformation et la conservation du lait. Parmi ces microorganismes il ya les Bactéries lactiques : *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, leur rôle est de l'acidification du lait et du caillé, participation à la formation du gout, de la texture et de l'ouverture des pâtes, aussi dans la production d'amines biogènes et l'activité antipathogène (**Bonetta et al., 2008**).

La croissance des micro-organismes peut être influencée par divers facteurs du milieu ou de l'environnement, comme le pH, la température, la quantité d'eau libre, la concentration en nutriments, la présence de substances antimicrobiennes. Les interactions entre micro-organismes vont également intervenir (**Bonetta et al., 2008**).

Par commodité, il est fréquent de classer les micro-organismes en fonction de leur intérêt/risque vis-à-vis de l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits et de parler alors de micro-organismes «utiles», «indésirables» ou «potentiellement pathogènes» (Bergère et Lenoir, 1992). Cette classification présente plusieurs inconvénients. Le premier est de ne pas prendre en compte le contexte. En effet, cette classification n'est pas absolue et un même micro-organisme pourra être utile dans telle technologie alors qu'il sera indésirable dans telle autre. Le second inconvénient est de donner tant d'importance au rôle principal mis en avant que des effets secondaires opposés risquent d'être négligés. Par exemple, les *Pseudomonas* sont habituellement classés comme indésirables alors que certaines souches peuvent produire des arômes recherchés en fromagerie (**Jay et al., 2005**). Le troisième est de raisonner à l'échelle des groupes microbiens (famille, genre, espèce) alors que dans bien des cas, c'est la souche qui sera déterminante. Enfin, comment classer tous les nouveaux groupes microbiens mis en évidence récemment et pour lesquels aucune information n'est disponible à ce jour. Des micro-organismes dangereux pour la santé du consommateur, issus de l'animal ou de son environnement, peuvent contaminer le lait et certains produits laitiers. Parmi les espèces ou genres les plus cités figurent *Campylobacter jejuni*, certains *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*. D'autres espèces, moins fréquemment citées ou émergentes, sont à prendre en compte comme, par exemple, *Yersinia enterocolitica*, *Coxiella burnetti* (**Rodolakis, 2009**), ou encore *Mycobacterium avium ssp paratuberculosis*

(Waddell *et al.*, 2008). Le risque pour le consommateur dépend souvent de la souche en présence. Ainsi au sein de l'espèce *Staphylococcus aureus*, hôte de la peau et des muqueuses des mammifères, certaines souches peuvent produire des entérotoxines dont l'ingestion provoque des diarrhées, souvent accompagnées de vomissements. De même, seules certaines souches d'*Escherichia coli* ou de *Listeria monocytogenes* pourront occasionner des maladies d'origine alimentaire telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU) ou la listériose (avortement, septicémies, méningites), respectivement (Bonetta *et al.*, 2008).

La bioconservation et la sécurité des aliments sont les principale préoccupation du consommateur et du producteur alimentaire. La conservation des aliments est largement liée à la la qualité et la sécurité du produit alimentaire. C'est une question cruciale pour prévenir les maladies d'origine alimentaire, qui est grave et coûteux. La conservation des aliments vise à maintenir la sécurité et la qualité globale du produit (organoleptique et nutritionnelle), réduire le gaspillage d'aliments en excès, prolonger la durée de conservation du produit, et préserver les matières alimentaires pendant le transport (Devi *et al.*, 2015).

Certaines conditions environnementales (paramètres physico-chimiques) affectent la croissance des micro-organismes. Ceux-ci incluent le pH (acidité et alcalinité), la température, la présence d'O₂, de CO₂, la disponibilité de l'eau et la température. Par conséquent, les paramètres cinétiques de croissance microbienne : $G \uparrow$, $\mu \text{ max} \uparrow$, $X_{\text{max}} \uparrow$ augmentent avec l'augmentation des paramètres physico-chimiques précédents, et $G \downarrow$, $\mu \text{ max} \downarrow$, $X_{\text{max}} \downarrow$ diminuent avec la diminution des celles-ci (Bury *et al.*, 2007).

D'après les résultats obtenus : La concentration 5 mg/ml de l'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis* a donné le temps de génération le plus long ($G=2.0555 \pm 0.69$) avec une croissance maximale la plus fort ($X \text{ max} = 8.503 \pm 0.401 \text{ Log UFC. mL}^{-1}$) par rapport au témoin ($G=1 \pm 1.045$) et ($X \text{ max} = 8.325 \pm 0.683 \text{ Log UFC. mL}^{-1}$) et à la concentration 2,5 mg/ml ($G=1.928 \pm 0.662$) et ($X \text{ max} = 8.396 \pm 0.593 \text{ Log UFC. mL}^{-1}$). Par conséquent, la concentration 10 mg/ml a des résultats inférieurs aux résultats des autres concentrations avec un temps de génération ($G=0.659 \pm 1.19$) et ($X \text{ max} = 8.362 \pm 0.546 \text{ Log UFC. mL}^{-1}$). Donc la durée de conservation du lait a été améliorée quand en ajoutant l'extrait hydroéthanolique de *M. communis* à concentration 5 mg/ml par rapport à concentration de 10 mg/ml, 2,5 mg/ml et de concentration de témoin.

En comparant les valeurs des paramètres de croissance bactérienne mentionnées dans le **tableau 09** avec celles obtenues par Serrer *et al.*, (2022). Qui ont travaillé sur le lait réfrigéré

à 4°C d'une ferme laitière collecté à Mila sans supplémentation, Leur temps de génération est de 1.2 ± 0.80 jour (28.8 h), par contre notre valeur de temps de génération G du lait additionné d'extrait de *M. communis* est dans l'intervalle [0.65-2,05] par jour, donc nos résultat est en accord avec leur résultat.

D'autre partie, **Bouchair et al., (2021)** qui ont travaillé sur le lait réfrigéré à 4°C sans addition, de deux fermes situées dans la région de Mila (Algérie) au localité d'El-Kherba dans le bassin et Hamala dans la montagne. Leur temps de génération est supérieur à nos résultats de temps de génération concernant la ferme de montagne (4.18 ± 0.22 jour), et inférieur à nos résultats concernant la ferme de bassin (1.20 ± 0.55 jour). Ce dernier est inférieur aussi au lait réfrigéré à 4°C collecté à Biskra, l'allongement de la phase de latence, le temps de génération plus long allant de 6,74 à 10,50 jours. (**Boubendir et al., 2016**). Vithanage et leurs collaborateurs, à Victoria en Australie, ont trouvés une durée de la phase latence comprise entre 3 et 4 jours, Alors ces résultats sont aussi supérieurs à nos résultats concernant au temps de génération. Le temps de génération obtenu par **Rongvaux et ces collaborateurs (1990)**, qui sont fait l'étude de l'estimation de la qualité bactériologique du lait cru est de (1h), donc il est inférieur à nos résultats. La valeur de densité cellulaire maximale X_{max} obtenu dans notre étude est dans l'intervalle [8.36-8,50] log UFC /ml, et était supérieur aux X_{max} de lait non additionné d'une ferme laitière collecté à Mila qui ont été 7.00 ± 0.17 log UFC/ml (Serrer et al., 2022), et inférieur aux X_{max} de lait réfrigéré non additionné de montagne et de bassin de région de Mila qui ont été [6,29-7,00] log UFC /ml (**Bouchair et al., 2021**). Par contre La valeur de niveau maximal de croissance de **Boubendir et ces collaborateurs** est 5,25 log UFC/ml, elle est supérieure à nos résultats.

Ainsi la vitesse maximale de croissance μ_{max} de notre résultats est dans l'intervalle [0.87-1,08] log UFC /ml, et est supérieur aux μ_{max} obtenu par **Serrer et al., (2022)** qui est de 0.78 ± 0.23 log UFC/ml, d'autre part, elle est supérieur aussi aux μ_{max} du lait réfrigéré à 4°C sans addition, de deux fermes situées dans la région de Mila qui sont 0.78 ± 0.16 log UFC/ml (ferme de bassin) et 0.73 ± 0.05 log UFC/ml (ferme de montagne) (**Bouchair et al., 2021**). Nos résultat est en accord avec celui de **Boubendir et ces collaborateurs**, Leur μ_{max} est 1.15 log UFC/ml par jour.

Dans notre étude, les densités cellulaires initiales du lait de Lemkelfa-Mila additionné d'extrait hydroéthanolique de *M. communis* et refroidi à 4 °C étaient de $3,09 \pm 0,27$ log

UFC/mL, $3,25 \pm 0,32$ log UFC/mL et $3,56 \pm 0,51$ UFC/mL. Avec des faibles concentrations C1 = 2,5 mg/mL, C2 = 5 mg/mL et une concentration élevée C2 = 10mg/ml respectivement.

D'après **Bouchair et leurs collaborateurs (2021)**, la région où l'animal a été domestiqué, le temps de stockage et la température de refroidissement de lait sont influencés la qualité microbiologique de lait. La charge microbienne de lait des bassins a une concentration bactérienne initiale supérieure à celle des montagnes, la première était $3,87 \pm 0,11$ log UFC/ml et la deuxième était $2,94 \pm 0,04$ log UFC/ml respectivement.

Donc dans notre travail on a conclu que :

- L'effet de rendement élevé se réfère à la méthode d'extraction utilisé.
- La teneur des composés phénoliques totaux et flavonoïdes à une relation directe par rapport à l'origine de la plante étudiée.
- Les résultats trouvés de l'activité antibactérienne sont probablement en relation avec la structure et la teneur des composés phénoliques totaux et flavonoïdes.
- Les résultats de la cinétique de croissance bactérienne marquant un temps de génération considérable, cela est dû à la présence éventuelle de métabolites végétaux avec des antimicrobiennes activités croissante dans la plante de *M. communis*.
- Cette durée de conservation prolongée suggère la présence possible de molécules antimicrobiennes provenant des plantes pâturées autour de l'exploitation et la sélection dans le microbiote de certaines espèces microbiennes à potentiel antagoniste.

Conclusion

Conclusion

Depuis l'antiquité les plantes font partie de la vie humaine, dans leur nourriture et leur usage thérapeutique. La flore Algérienne est riche en plantes aromatiques et médicinales tels que le Myrte, le Thym et le Romarin, qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétique et alimentation. Ces plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Nous rappelons que l'objectif de notre étude est la prolongation de la durée de vie (shelf-life) du lait réfrigéré par l'allongement de la phase de latence de la courbe de croissance bactérienne par la supplémentation de l'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis*. Avec le dosage quantitatif de composés phénoliques et l'activité antibactérienne.

Les résultats de l'étude d'extraction ont montré que l'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis* donne un très bon rendement.

Les analyses quantitatives exprimées par le dosage des polyphénols totaux d'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis* ont été effectuées par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu ont montré que l'extrait de *M. communis* est riche en polyphénols avec une concentration de l'ordre $690,29 \pm 8,80 \mu\text{g Eq AG/mg}$.

En plus, le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis* L. était plus riche en flavonoïdes avec une concentration de l'ordre $18,79 \pm 1,60 \mu\text{g EQ/mg}$.

L'étude de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion en milieu gélosé a montré que l'extrait hydroéthanolique a une activité inhibitrice sur la croissance des bactéries testées : *Escherichia coli* ATCC25922, *Sataphylococcus aureus* ATCC25923, *Sataphylococcus aureus* ATCC2856, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Enterococcus faecalis* ATCC29212 et *Enterococcus faecalis* ATCC49532. Nos résultats ont montré que l'extrait hydroéthanolique possède un effet antibactérien très fort par rapport à *Sataphylococcus aureus* ATCC25923, *Sataphylococcus aureus* ATCC2856, *Enterococcus faecalis* ATCC49532 avec un effet faible pour *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

Concernant l'évaluation de la cinétique de croissance microbienne de lait aux concentrations 10mg/ml, 5mg/ml et 2,5 de l'extrait hydroéthanolique de *M. communis* par rapport au témoin, notre extrait a permis de prolonger la durée de vie jusqu'à 53h ($G=2.0555 \pm 0.69$), c'est le temps de génération le plus long de concentration de 5 mg/ml avec une densité cellulaire maximale égal à $8.503 \pm 0.401 \log \text{ UFC/ml}$ et un taux de croissance le plus fort égal à $1.0897 \pm 0.203 \log \text{ UFC.mL}^{-1} / \text{jour}$.

Par contre les concentrations de 2,5 mg/ml et 10 mg/ml ont donné des temps de génération plus faible que dans la concentration 5mg/ml, Ces valeurs estimé à 0.659 ± 1.19 et 1.928 ± 0.662 et 0.659 ± 1.19 , la même choses pour les autres paramètres de cinétique.

On peut conclure que l'extrait brut du Myrte testé dans ce travail a montré une bonne activité antibactérienne contre la flore bactérienne de lait cru de bovin. Ces résultats renforcent l'utilisation de *M. communis* comme un bioconservateur de lait cru de bovin.

À la fin de cette étude, nous perspectons d'approfondir ce thème de Myrte par :

- L'inclusion de myrte dans nos rations alimentaires.
- L'étude des interactions de myrte avec tous les antibiotiques.
- L'encouragement des gens à la récolte de myrte
- L'étude de l'activité antibactérienne sur des bactéries pathogène et résistant pour valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement de différentes maladies.
- La favorisation de l'utilisation de myrte dans les établissements sanitaires.
- réaliser des études phytochimiques spectrales.
- Evaluer la qualité sensorielle de lait cru additionner de l'extrait hydroéthanolique de *Myrtus communis*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

(A)

Abdulqawi et Quadri., (2021). In-vitro antibacterial activities of extracts of yemeni plants myrtus communis l. and flemingia grahamiana wight & arn. *International journal pharmaceutical sciences and research*, 12(2): 956-962.

Aidi Wannes W.A., Mhamdi B. Sriti J. Jemia M.B. Ouchikh O. Hamdaoui G. Kchouk M.E. et Marzouk B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf stem and flower. *Food Chem Toxicol*, 48:1362-70.

Aggad, H., Mahouz, F., Ahmed Ammar, Y., & Kihal, M. (2009). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev. Méd. Vét*, 160(12) : 590-595.

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

Aleksic V., et Knezevic P. (2013). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L, 200-241.

Alizadeh B.B., Farideh T. Hamid N. Fatemeh R. Amir J. et Forouzan T.Y. (2016). Study of the Antibacterial Activity of Methanolic and Aqueous Extracts of *Myrtus communis* on Pathogenic Strains Causing Infection. *Research Article*, 18(2): 5989-3.

Alyousef A.A., Mohammed A. Raid A. et Abdulaziz A. (2019). Biogenic silver nanoparticles by *Myrtus communis* plant extract: biosynthesis, characterization and antibacterial activity, (33): 931-936.

Amensour M., Bouhdid S. FernandezLopez J. Idaomar M. Senhaji N. et Abrini J. (2010). Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *Int J Food Prop*, 13: 1215-1224.

Amensour M., Sendra E. Abrini J. Bouhdid S. Pérez-Alvarez J.A. et Fernández-López, J. (2009). Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Nat Prod Commun*, 4(6): 819-24.

Amiri, S., Moghanjoui, Z. M., Bari, M. R., & Khaneghah, A. M. (2021). Natural protective agents and their applications as bio-preservatives in the food industry: An overview of current and future applications. *Italian Journal of Food Science*, 33(SP1): 55-68.

Annalisa C., Veronica D. Danilo E. Eugenio P. Francesco V. (2015). Antimicrobial activity of *Myrtus communis* L. water-ethanol extract against meat spoilage strains of *Brochothrix thermosphacta* and *Pseudomonas fragi* in vitro and in meat. *Ann Microbiol*, 65: 841-850.

Angiospermphylogeny: www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/welcome.html APG III. (2009). An update of 51 Page the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105-121.

APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105-121.

Astani A., Reichling J. et Schnitzler P. (2011). Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 253643-8.

AUGUSTIN, J.C. (2005). Modélisation de la croissance microbienne et gestion de la sécurité sanitaire des aliments, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 'Université Paris XII Val de Marne, 25.

Axelsson, L. (2004). Chpiter lactic acid bacteria microbiological and functional aspects. CRC Press, 3 ed edition, 1-62.

Azimi M., et Hasheminasab F. S. (2020). Evaluating the efficacy and safety of the myrtle (*Myrtus communis*) in treatment and prognosis of patients suspected to novel coronavirus disease (COVID-19): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 21(1): 1-5.

(B)

Bajpai V.K., Rahman A. et Kang S.C. (2008). Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. To control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *Int J Food Microbio*, 125(2): 117-22.

Barcenilla, C., Ducic, M., López, M., Prieto, M., & Álvarez-Ordóñez, A. (2022). Application of lactic acid bacteria for the biopreservation of meat products: A systematic review. *Meat Science*, 183, 108661.

Belhadji K.A., Bouzouina M. et Addou A. (2022). Étude de l'activité antibactérienne et identification des substances bioactives de différents extraits de *Myrtus communis*, *Phytothérapie* (20): 288-301.

Belmamoun A. R. (2017). *Étude microbiologique, épidémiologique et antibiorésistance du Staphylococcus aureus dans le lait de vache atteinte de mammite*, Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie, Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbès, P 186.

Belmimoun A. (2016). *Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales*, Thèse de doctorat en Sciences Biologiques, Département de Biologie, Université Mustapha Stambouli de Mascara, P 95-120.

Belmimoun A., Meddah B. Meddah T. et Sonnet P. (2016). Antibacterial and antioxidant activities of the essential oils and phenolic extracts of *myrtus communis* and *zygophyllum album* from Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 1112-9867.

Benchikh F., Amira S. et Benabdallah H. (2018). The evaluation of anti-oxidant capacity of different fractions of *Myrtus communis* L. leaves. *Annu Res Rev Biol*, 22, 1-14.

Benhedane, N. (2012). Qualité Microbiologique du lait cru destiner à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien. Thèse de magister. Constantine université Mentouri. P 123.

Bonetta S, Carraro E, Coisson JD, Travaglia F, Arlorio M. (2008). Detection of biogenic amine producer bacteria in a typical Italian goat cheese. *J. Food Prot.* 71, 205-209.

Boubendir, A. (2023). Polycopié Cours de Microbiologie Alimentaire.

Boubendir, A., Hamidechi, M., Mostakim, M., & Ibnsouda-Koraichi, S. (2012). *Listeria* versus *Enterococcus*: La sécurité alimentaire. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 25-33.

Boubendir, A., Hamidechi, M. A., Mostakim, M., El Abed, S., & Ibnsouda Koraichi, S. (2011). Incidence de *Listeria* spp. et autres bactéries psychrotrophes dans le lait cru bovin dans le Nord Est Algérien. *Revue de Medecine Veterinaire*, 162(5): 265.

Boubendir A., Serrazanetti D.I. Hamidechi M.A. Vannini L. et Guerzoni M.E. (2016). Changes in bacterial populations in refrigerated raw milk collected from a semi-arid area of Algeria. *Annals of Microbiology*, 66(2): 777-783.

Bouchair K., Boubendir A. et Serrer A. (2021). Dynamic change of psychrotrophic bacterial populations in Algerian refrigerated raw cow milk. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 72(1): 2773-2780.

Bouchenak O., Yahiaoui K. Benhabyles N. Laoufi R. Toubal S. EL Haddad D. Oussaid S. Blizak D. et Arab K. Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *myrtus communis* l. et *rhamnus alaternus* l, *Revue Agrobiologia*, 2170-1652.

Bouyahya A., Abrini J. Khay El. Charfi S. Boujida N. Harsal A. Abdeslam E. Talbaoui A. ET-Touys A. Bakri Y. et Dakka N. (2016). In vitro Antibacterial Activity of Organic Extracts from North-West Moroccan Medicinal Plant *Myrtus communis* (L.). *Biotechnology Journal International*, 16(4): 1-9.

Buchanan, R. E. (1918). Life phases in a bacterial culture. *The Journal of Infectious Diseases*, 109-125.

Bury S,M., (2007). Nutrition et Croissance des microorganismes. 15-20.

(C)

Chalchat J.C., Garry, R.F. et Michet A. (1998). Essential oils of *Myrtle* (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean littoral. *J Essential Oil Res*, 10: 613-7.

Chaouch F.Z et Touaibia M. (2014). Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, méthanoliquee éthanolique de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt et Trab. (Myrtaceae). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, (6): 407-413.

Cheikh D., Martín-Sampedro R. Majdoub H. et Darder M. (2020). Alginate bionanocomposite films containing sepiolite modified with polyphenols from myrtle berries extract. *Int J Biol Macromol*, 165: 2079-88.

Chetoune, S. (1982). Amélioration de la qualité bactériologique du lait cru, thèse d'ingénieur en agronomie. Mostaganem: ITA, P 88.

Clark A. (1996). Natural products as a resource for new drugs. *Pharmaceut Res*, 13: 1133-44.

Combrisson, J., Prasad, M., Riedel, C. U., Fadda, S. G., Borges, F., Borges, F., Pilet, M. F. (2022). Contribution of omics to biopreservation: Toward food microbiome engineering. *Genomics and Metagenomics Approaches for Food Value Chain Quality, Safety, and Product Development*.

(D)

DE, G. D. E. D. M., & DE, R. C. E. (2009). Laites et produits laitiers.

Derby, G. (2007). Lait, nutrition et santé, Ed : Tec et doc, Lavoisier, Paris. P 566. ISBN 10: 2743008199.

Devi, M.P., Bhowmick, N., Bhanusree, M.R. & Ghosh, S.K. (2015). Preparation of value-added products through reservation. *Springer India*, (1): 113-124.

Douhri H., Raissouni I. Amajoud N. Belmehdi O. Benchakhtir M. Tazi S. Abrini J. et Douhri B. (2017). Antibacterial effect of ethanolic extracts of Moroccan plant against *Escherichia coli*. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(12): 4408-4414.

(E)

Elfellah M., Akhter M. et Khan M. (1984). Antihyperglycaemic effect of an extract of *Myrtus communis* in streptozotocin-induced diabetes in mice. *J Ethnopharmacol*, 11(3): 275-81.

(F)

Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., Lebrazi, S., et Rachiq, S. (2017). Intrapopulation variability of *Myrtus communis* L. growing in Morocco: Chemometric

investigation and antibacterial activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 7: 35–40.

FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Food & Agriculture Org, Vol. 28, P 271.

Ferron-Baumy, C., Maubois, J. L., Garric, G., & Quiblier, J. P. (1991). Coagulation présure du lait et des rétentats d'ultrafiltration. Effets de divers traitements thermiques. *Le Lait*, 71(4) : 423-434.

Fine A.M., (2000). Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev*, 5:144-51.

Flandrois.J-P. (1997). Bactériologie médicale, Presses Universitaires Lyon, 309.

Frank, J.F., Hassan, A.N. (2002). Microorganisms associated with milk. Encyclopedia of Dairy Sciences. Oxford : Elsevier, P 1786-1796.

Franceschini P. (2016). *Myrtus communis* L. en Corse et en Méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisations thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2, P 70.

Franworth, E., Mainville I. (2010). Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, SaintHyacinthe. <http://www.dos.transf.edwa.pdf>. Consulté le 11/10/ 2012.

Funatogawa K., Hayashi S. Shimomura H. Yoshoda T. Hatano T. Ito H. et Harai Y. (2004). Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pilori*. *Microbiol Immunol*, 48: 251-61.

(G)

Ghasemi E., Raofie F. et Najafi N.M. (2011). Application of response surface methodology and central composite design for the optimisation of supercritical fluid extraction of essential oils from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chem*, 126: 1449-1453.

Goetz K., et Ghedira. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse, *Myrtus communis* L. (Myrtaceae): myrte, Springer-Verlag France, Paris.317.

González-Varo J., Arroyo J. Aparicio A. et Albaladejo R.G. (2009). Plant Ecology, Mating patterns and spatial distribution of conspecific neighbours in the Mediterranean shrub *Myrtus communis* (Myrtaceae) – *Springer Plant Ecol*, 203: 207-215.

Gortzi O., Lalas S. Chinou I. et Tsaknis J. (2008). Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *Eur Food Res Technol*, 226 : 583-90.

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

Guiraud (2003). Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. In : Microbiologie alimentaire. Paris.

Guiraud J.P. (1998) : Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits alimentaires. Edition Dunod, PARIS, 1998, P 136-139.

Gyawali, R., Ibrahim, A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, (46): 412-429.

(H)

Halmi S. (2015). Etude botanique et phytochimique approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus*, diplôme de doctorat, biotechnologie végétale, Université Mentouri-Constantine, P 17- 25.

Harborne J.B., et Williams C. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.

Harding, F. (1995). Milk quality. New York : Blackie Academic & Professional, 60-95.

Hayedeh, G., Nader, K. (2023). Myrtle: a versatile medicinal plant, 48(10): 2-18.

Hennia, A., Nemmiche, S., Guerreiro, A., Faleiro, ML., Antunes, MD., Aazza, S., Miguel, MG. (2019). Antioxidant and antiproliferative activities of *Myrtus communis* L. essential oils from different Algerian regions. *J Essent Oil-Bear Plants*. 22(6): 1488-99.

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

Holetz F., Pessini G. Sanches N. Cortez D. Nakamura C. et Filho B. (2002). Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 97(7): 1027-31.

(J)

Jeantet, R., Croguennec, T., Schuk, P., Mahaut, M., Brulé, G. (2008). Les produits laitiers 2e éd, Lavoisier, P 185.

Jay JM., Loessner MJ, Golden DA. (2005). *Modern food microbiology*, 7th edition, Springer, New York, USA.

(K)

Kacimi El Hassani S. (2013). La dépendance alimentaire en Algérie : importation de lait en poudre versus production locale, quelle évolution ? *Mediterranean Journal of Social Sciences*, 4 (11): 152-158.

Kalachanis D. et Psaras G.K. (2005). Biologia plantarum ,Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves, *Biologia plantarum*, 49 (1) : 105-110.

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

(L)

Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *J Food Eng*, 71 : 214-22.

Leymarios F.C. (2010). *Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation*, Thèse pour le doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil, école nationale vétérinaire D'ALFORT, France, P 120.

Lin, T.-H., & Pan, T.-M. (2017). Characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus plantarum* NTU 102. *Journal of Microbiology, Immunology & Infection*, (52) : 1-9.

(M)

Mann C., Cox S. et Markham J.L. (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Lett Appl Microbiol*, 30(4) : 294-7.

Medda, S., Fadda, A., Dessena, L., Mulas, M. (2021). Quantification of total phenols, tannins, anthocyanins content in *Myrtus communis* L. and antioxidant activity evaluation in function of plant development stages and altitude of origin site. *Agronomy*, 11(6) :1059.

Meddah B., Belmimoun A. Meddah T. et Sonnet P. (2016). Antibacterial and antioxidant activities of the essential oils and phenolic extracts of *myrtus communis* and *zygophyllum album* from Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 1112-9867.

Mendonca, A., Jackson-Davis, A., Moutiq, R., Thomas-Popo, E. (2018). Use of natural antimicrobials of plant origin to improve the microbiological safety of foods. In Food and Feed Safety Systems and Analysis; Elsevier: Amsterdam, *The Netherlands*, 249-272.

Messaoud C., Béjaoui A. et Boussaid M. (2011). Fruit color, chemical and genetic diversity and structure of *Myrtus communis* L. Var. *italica* Mill. Morph populations. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(4–6): 570-580.

Messaoud C., Laabidi A. et Boussaid M. (2012). *Myrtus communis* L. Infusions: The Effect of Infusion Time on Phytochemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities. *Journal of Food Science*, 77(9): 1-7.

Mert T., Tuğçe F. Bijen K. et Tansel H. (2008). Antimicrobial and cytotoxic activities of *myrtus communis* L. University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, 35100 Bornova, İzmir, Turkey, 37(3) : 191-199.

Migliore J. (2011). *Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre Myrtus en méditerranée et au Sahara*. Thèse de Doctorat. Université Paul Cézanne Aix-Marseille III. Faculté des Sciences et Techniques, Discipline Biologie des populations et Ecologie, P 55.

Migliore J., Baumel A. et Juin M. (2012). From Mediterranean shores to central Saharan mountains: key phylogeographical insights from the genus *Myrtus*, *Journal of Biogeograph*, 39: 942-956.

Mir M., Bashir N. Alfaify A. et Oteef M.D. (2020). GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Grampositive bacteria. *Complementary Medicine and Therapies*, 20(86) : 2-9.

Monique, Z., & Souad, C. (2013). Flores protectrices pour la conservation des aliments. Editions Qua, 147.

Montoro P., Tuberoso C.I.G. Piacente S. Perrone A. De Feo V. Cabras P. et Pizza C. (2006). Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *J Pharm Biomed*, 41:1614-20.

(N)

Nath, S. Chowdhury, S., Dora, K.C., & Sarkar, S. (2014). Role of bio-preservation in improving food safety and storage. *Journal of Engineering Research & Applications*, (4) : 26-32.

Negi, P.S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int. J. Food Microbiol*, (156) : 7-17.

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

Nudda A., Correddu F. Atzori A.S. Marzano A., Battacone G. Nicolussi P. et Pulina G. (2017). Whole exhausted berries of *Myrtus communis* L. supplied to dairy ewes: effects on milk production traits and blood metabolites. *Small Rumin Res*, 155: 33-8.

(O)

Okuda T., (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66: 2012-20.

Othman A., Ismail A. Ghani N.A et Adenan I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chem*, 100 : 1523-30.

(P)

Pisoschi, A.M., Pop, A., Georgescu, C., Turcu,s, V., Olah, N.K., Mathe, E. (2018). An overview of natural antimicrobials role in food. *Eur. J. Med. Chem*, (143) : 922-935.

Pujato, S. A., Quiberoni, A., & Mercanti, D. J. (2019). Bacteriophages on dairy foods. *Journal of applied microbiology*, 126(1) : 14-30.

(Q)

Quezel, P. et Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome II, Ed. CNRS, Paris, P 288-300.

Quinto E. J., Caro I., Villalobos-Delgado L. H., Mateo J., De-Mateo-Silleras B., Redondo-Del-Río M. P. (2019). Food Safety through Natural Antimicrobials. *Antibiotics*, 8(3) : 208.

(R)

Raeiszadeh M., Esmaeili M. Bahrampour K. Nematollahi S. Pardakhty S. Nematollahi H. Mehrabani H. et Mehrabani M. (2018). Evaluation the effect of *Myrtus communis* L. extract on several underlying mechanisms involved in wound healing: An in vitro study. *South African Journal of Botany*, 118 : 144-150.

Raooof M., DDS M. Moj K. Najmeh S. Sakineh M. Jahangir H. et Sara A. (2019). Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of *Myrtus Communis* L. and *Eucalyptus Galbie* and their Combination with Calcium Hydroxide Powder against *Enterococcus Faecalis*. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*, 20(3) : 195-202.

Robinson, R. (2002). Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York, P 780.

Rongvaux G., Peroz A. Verdier B. et Piton C. (1990). Estimation de la qualité bactériologique du lait cru par microrespirométrie. *Article original*, 70 : 23-36.

Rodolakis A. (2009). Q fever in dairy animals. *Ann. NY Acad. Sci.* 1166, 90-93.

(S)

Saint vectorian. (2021). <https://www.aujardin.info/plantes/myrtus-communis.php>

Savoia, D. (2012). Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol*, (7): 979-990.

Serce S., Ercisli S. Sengul M. Gunduz K. et Orhan E. (2010). Antioxidant activities and fatty acid composition of wild grown myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits. *Pharmacogn Mag*, 6: 9-12.

Serio A., Chaves-López C. Martuscelli M. Mazzarrino G. Mattia C. et Paparella A. (2014). Application of Central Composite Design to evaluate the antilisterial activity of hydro-alcohol berry extract of *Myrtus communis* L. *LWT - Food Science and Technology*, 58(1): 116–123.

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

Singh, V. P. (2018). Recent approaches in food bio-preservation-a review. *Open veterinary journal*, Vol,8(1): 104-111.

Singleton, V. et Rossi, J. (1965) Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

Siracusa, L., Napoli, E., Tuttolomondo, T., Licata, M., La Bella, S., Gennaro, MC., Ruberto, G. (2019). A two-year bio-agronomic and chemotaxonomic evaluation of wild Sicilian myrtle (*Myrtus communis* L.) berries and leaves. *Chem Biodivers*. 16(3).

Sisay M., Bussa N. Gashaw T. et Mengistu G. (2019). Investigating In Vitro Antibacterial Activities of Medicinal Plants Having Folkloric Repute in Ethiopian Traditional Medicine. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, (24): 1-9.

Sisay, M. Gashaw, T. (2017). Ethnobotanical, ethnopharmacological, and phytochemical studies of *Myrtus communis* Linn: a popular herb in Unani system of medicine. *J Evid Based Complement Altern Med*, 22(4):1035-43.

Shan B., Cai Y.Z. Brooks J.D. et Corke H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Microbiol*, 117:112-9.

Shim S.Y., Kim J.H. Kho K.H. et Lee M. (2020). Anti-inflammatory and anti-oxidative activities of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extract. *Toxicol Rep*, 7: 277-81.

Snoussi A., Essaidi I. Ben Haj K.H. Zrelli H. Alsafari I. Živoslav T. Mihailovic J. Khan M. El Omri A. Tanja Č.V. et Bouzouita N. (2021). Drying methodology effect on the phenolic content, antioxidant activity of *Myrtus communis* L. leaves ethanol extracts and soybean oil oxidative stability. *BMC Chemistry*, 15 (31) : 4-11.

Söke, P. Elmacı, Y. (2015). Siyah ve Beyaz Mersin (*Myrtus communis* L.) Meyvelerinin Şekerlemeye İşlenmesi. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 13(1) : 35-41.

Srinivasan D., Nathan S. Suresh T. et Perumalsamy P. (2001). Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *J Ethnopharmacol*, 74(3) : 217-20.

Sumbul S., Ahmed M.A. Asif M. et Akhtar M. (2011). *Myrtus communis* Linn. A review. *Indian J Nat Prod Resour*, 2: 395-402.

(T)

Taheri A., Seyfan A. Jalalinezhad S. et Nasri F. (2013). Antibacterial effect of *Myrtus Communis* hydro-alcoholic extract on pathogenic bacteria. *Journal of Research in Medical Sciences*, 15(6): 19-24.

Tuberoso C., Rosa A. Bifulco E. Melis M.P. Atzeri A. Pirisi F.M. et Dessì M.A. (2010). Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chem*, 123:1242-50.

Tzima, K., Makris, D., Nikiforidis, C. V., & Mourtzinis, I. (2015). Potential use of rosemary, propolis and thyme as natural food preservatives. *J. Nutr. Health*, 1(6).

(V)

Vignola L, Carole. (2002). Sciences et technologie du lait, transformation du lait, 2édition(2022): 28-30.

Vilain, A. C. (2010). Qu'est-ce que le lait? *Revue française d'allergologie*, 50 (3) : 124-127.

(W)

Wahid N. (2013). Perspectives de la valorisation de l'usage et de la culture du *Myrtus communis* L. au Maroc, *Article de synthèse Ethnobotanique*, 237.

Wannes A., Mhamdi B. Sriti J. Jemia M.B. Ouchikh O. Hamdaoui G. Kchouk M.E. et Marzouk B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf stem and flower. *Food Chem Toxicol*, 48: 1362-70.

Waddell LA, Rajić A, Sargeant J, Harris J, Amezcua R, Downey L, Read S, McEwen SA. (2008). the zoonotic potential of *Mycobacterium avium* spp. paratuberculosis: a systematic review. *Canadian Journal of Public Health* 99, 145-55.

(Y)

Yangui I., Younsi F. Ghali W. Boussaid M. et Messaoud, C. (2021). Phytochemicals, antioxidant and anti-proliferative activities of *Myrtus communis* L. *genotypes from Tunisia*. *South African Journal of Botany*, 137: 35-45.

Yokozawa T, Oura H, Sakanaka S, Ishigaki S, et Kim M. (1994). Depressor effect of tannin in green tea on rats with renal hypertension. *Biosci Biotechnol Biochem*, 58: 855-8.

Yoshimura M., Amakura Y. Tokuhara M. et Yoshida T. (2008). Polyphenolic compounds isolated from the leaves of *Myrtus communis*. *J Nat Med*, 62 (3): 366-8.

(Z)

Zagorec M., Christieans S. et coord. (2013). Flores protectrices pour la conservation des aliments. *Organisations et sociétés paysannes*, 1777-4624.

Ziyyat A., Legssyer A. Mekhfi H. Dassouli A. Serhrouchni M. et Benjelloun W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J Ethnopharmacol*, 58: 45-54.

Résumé

Résumé

Le myrte est parmi les plantes aromatiques médicinales, utilisé traditionnellement comme un traitement contre plusieurs maladies, sous forme d'aliment ou d'épice depuis longtemps. Cette plante qui se trouve en Méditerranée et dans les régions orientales, Dans notre étude, nous l'avons obtenu de la région orientale de l'Algérie, plus précisément de Mila. Notre travail vise à étudier l'effet de l'addition de l'extrait brut de *M. communis* au lait bovin afin d'améliorer leurs qualités microbiologiques. Une extraction hydroéthanolique a été réalisée pour déterminer le rendement résultant qui a été égale à 20.73 %, suivi de l'estimation de la teneur en polyphénols totaux en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et le carbonate de sodium (NaCO_3) avec une valeur égale à $690,29 \pm 8,80 \mu\text{g Eq AG/mg}$ d'extrait, et de teneur des flavonoïdes par le chlorure d'aluminium (AlCl_3) avec une valeur égale à $18,79 \pm 1,60 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait hydroéthanolique. Nous avons étudié l'activité antibactérienne qui a été testée in vitro sur six souches référencées de Gram positif et Gram négatif selon la méthode de diffusion sur milieu solide à partir des disques imprégnés avec différentes concentrations de l'extrait de Myrte. Notre résultat Montrent que notre extrait a exercé un effet remarquable contre la majorité des souches testées surtout celles à Gram positif, *Staphylococcus aureus* ATCC2856 ($17,73 \pm 0,873$), *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ($17,37 \pm 0,970$), *Enterococcus faecalis* ATCC49532 ($22,79 \pm 3,528$) mm de diamètre. La cinétique de croissance bactérienne a été suivie durant le stockage à froid du lait pendant 8 jours à intervalles réguliers et les paramètres de croissance ont été déterminés. Ainsi les résultats favorables qui améliorent la qualité de lait sont les valeurs de paramètres de cinétique qui appartiennent à la concentration de 5 mg/ml $G=2.0555 \pm 0.69$ (53h), avec une densité cellulaire maximale (μ_{max}) égale à $8.503 \pm 0.401 \log \text{UFC/ml}$ et un taux de croissance (X_{max}) le plus fort égal à $1.0897 \pm 0.203 \log \text{UFC.mL}^{-1} / \text{jour}$. Ces résultats sont encourageants et ouvrent une voie prometteuse pour l'utilisation de l'extrait hydroéthanolique de *M.communis* comme agent antimicrobien naturel pour la conservation du lait.

Mots clés : Myrtus, lait, flavonoïdes, polyphénols, activités antibactériennes, cinétique de croissance microbienne.

Abstract

Myrtle is among the medicinal aromatic plants, traditionally used as a treatment against several diseases, in the form of food or spice for a long time. This plant which is found in the Mediterranean and in the eastern regions, in our study, we obtained it from the eastern region of Algeria, more precisely from Mila. Our work aims to study the effect of adding the crude extract of *M. communis* to bovine milk in order to improve their microbiological qualities. A hydroethanolic extraction was carried out to determine the resulting yield which was equal to 20.73%, followed by the estimation of the content of total polyphenols using the Folin-Ciocalteu reagent and sodium carbonate (NaCO_3) with a value equal to $690.29 \pm 8.80 \mu\text{g Eq AG/mg}$ of extract, and content of flavonoids by aluminum chloride (AlCl_3) with a value equal to $18.79 \pm 1.60 \mu\text{g EQ/mg}$ of hydroethanolic extract. We studied the antibacterial activity which was tested in vitro on six referenced strains of Gram positive and Gram negative according to the method of diffusion on solid medium from discs impregnated with different concentrations of Myrtle extract. Our results show that our extract exerted a remarkable effect against the majority of the strains tested, especially those with Gram positive, *Staphylococcus aureus* ATCC2856 (17.73 ± 0.873), *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (17.37 ± 0.970), *Enterococcus faecalis* ATCC49532 (22.79 ± 3.528) mm in diameter. Bacterial growth kinetics was monitored during cold storage of milk for 8 days at regular intervals and growth parameters were determined. Thus the favorite results which improve the quality of milk are the values of kinetic parameters which belong to the concentration of 5 mg/ml $G=2.0555 \pm 0.69$ (53h), with a maximum cell density (μ_{max}) equal to $8.503 \pm 0.401 \log \text{CFU/ml}$ and a strongest growth rate (X_{max}) equal to $1.0897 \pm 0.203 \log \text{CFU.mL}^{-1} / \text{day}$. These results are encouraging and open a promising avenue for the use of the hydroethanolic extract of *M. communis* as a natural antimicrobial agent for milk preservation.

Key words: Myrtus, milk, flavonoids, polyphenols, antibacterial activity, microbial growth kinetics.

ملخص

يعتبر نبات الأس من النباتات العطرية الطبية ، ويستخدم تقليديا كعلاج لعدة أمراض ، في شكل طعام أو توابل لفترة طويلة. هذا النبات الموجود في البحر الأبيض المتوسط والمناطق الشرقية ، في دراستنا حصلنا عليه من المنطقة الشرقية للجزائر ، وبشكل أدق من ميلة. يهدف عملنا إلى دراسة تأثير إضافة المستخلص الخام من *M. communis* إلى حليب الأبقار من أجل تحسين صفاته الميكروبيولوجية. تم إجراء استخلاص مائي إيثانولي لتحديد المحصول الناتج الذي كان يساوي 20.73٪ ، متبوعًا بتقدير محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu وكربونات الصوديوم (NaCO₃) بقيمة تساوي 690.29 ± 8.80 ميكروغرام مكافئ. AG / mg من المستخلص ومحتوى الفلافونويد بواسطة كلوريد الألومنيوم (AlCl₃) بقيمة تساوي 18.79 ± 1.60 ميكروغرام EQ / mg من مستخلص الهيدرويثانول. درسنا النشاط المضاد للبكتيريا الذي تم اختباره في المختبر على ست سلالات مرجعية موجبة الجرام وسالبة الجرام وفقًا لطريقة الانتشار على وسط صلب من أقراص مشربة بتركيزات مختلفة من خلاصة الأس. تظهر نتائجنا أن مستخلصنا كان له تأثير ملحوظ على غالبية السلالات المختبرة ، خاصة تلك التي تحتوي على موجبة الجرام ، *Staphylococcus aureus* ، *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (17.37 ± 0.970) ، ATCC2856 (17.73 ± 0.873) ، *Enterococcus faecalis* ATCC49532 (22.79 ± 3.528) مم. تم رصد حركية النمو البكتيري أثناء التخزين البارد للحليب لمدة 8 أيام على فترات منتظمة وتم تحديد معاملات النمو. وبالتالي فإن النتائج المفضلة التي تحسن جودة الحليب هي قيم المعلمات الحركية التي تنتمي إلى تركيز 5 مجم / مل (53) $G = 2.0555 \pm 0.69$ (ساعة) ، مع كثافة خلية قصوى (μ_{max}) تساوي 8.503 ± 0.401 سجل CFU / مل وأقوى معدل نمو (X_{max}) يساوي 1.0897 ± 0.203 سجل 1 - CFU.mL / يوم. هذه النتائج مشجعة وتفتح طريقًا واعدًا لاستخدام المستخلص المائي الإيثاني من *M. communis* كعامل طبيعي مضاد للميكروبات لحفظ الحليب.

الكلمات المفتاحية: نبات المر، الحليب، الفلافونويد، البوليفينول، الأنشطة المضادة للبكتيريا، حركية النمو الميكروبي.