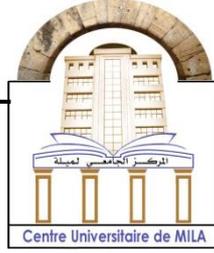


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

**Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila**

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de  
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème :

**Etude bactériologique de lait de vache pasteurisé réfrigéré  
additionné d'un extrait naturel**

Présenté par :

- ZAHRI Chahinez
- BOUFARRAD Noureddine

Devant le jury :

Nom et Prénom BOUKEZOULA Fatima	Grade (MCA) Centre universitaire de Mila	Président
Nom et Prénom AISSOUS Imene	Grade (MCB) Centre Universitaire de Mila	Examineur
Nom et Prénom BOUCHEKRIT Moufida	Grade (MCA) Centre Universitaire de Mila	Promoteur

Année Universitaire : 2024/2025

# *Remerciements*

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

*Nous tenons à remercier plus particulièrement :*

*Dr. BOUCHEKRIT Moufida, maître de conférences classe « A » au Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, qui nous a encadré et témoigné de sa confiance et de son aide scientifique tout au long de notre projet de fin d'études.*

*Nous adressons aussi nos plus vifs remerciements à Dr. BOUKEZOULA Fatima, maître de conférences classe « A » au Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, la présidente du jury d'avoir bien voulu s'intéresser et d'accepter de juger ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier beaucoup Dr. AISSOUS Imene, maître de conférences classe « B » au Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, nous sommes très honorés de sa présence dans ce jury.*

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

# *Dédicace*

*Il est difficile de trouver les mots justes pour exprimer toute la gratitude que je ressens aujourd'hui. Ce travail est l'aboutissement d'un parcours jalonné de doutes, d'efforts, mais surtout de belles rencontres et de soutien inestimables.*

*A mes parents, vous qui avez toujours cru en moi, même lorsque la fatigue prenait le dessus. Merci pour votre amour inconditionnel, vos encouragements silencieux et vos sacrifices que je mesure un peu plus chaque jour. Votre présence a été ma plus grande force.*

*A mon frère, qui a toujours été à mes côtés dans tous les moments difficiles et qui m'encourage toujours lorsque je me sens fatigué. Je le remercie beaucoup d'être resté à mes côtés.*

*A mes sœurs, qui étaient là et m'encourageaient à chaque étape que j'ai traversée, Je les remercie beaucoup d'être toujours là pour moi.*

*Je remercie également ma famille et mes proches, pour leurs mots rassurants, leurs gestes réconfortants et leur indéfectible soutien dans les moments de doute. Vous avez su rendre ce parcours plus doux.*

*Enfin, une pensée sincère à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont croisé mon chemin durant cette aventure. Chacun d'eux a contribué, d'une manière ou d'une autre, à l'accomplissement de ce projet.*

*Ce mémoire n'est pas seulement le fruit d'un travail personnel, mais aussi le reflet de tout l'amour, la confiance et l'accompagnement que j'ai reçus.*

*Merci, du fond du cœur.*

## **Résumé**

Le lait pasteurisé, malgré le traitement thermique appliqué, reste sensible à l'altération microbienne durant la conservation. L'utilisation de composés naturels d'origine végétale suscite un intérêt croissant pour améliorer sa stabilité microbiologique. Le présent travail a pour but d'évaluer l'effet de l'ajout de l'extrait aqueux du *Cymbopogon citratus* sur la dynamique de la croissance microbienne globale et la qualité physico-chimique du lait pasteurisé durant sa conservation réfrigérée. Trois concentrations de l'extrait aqueux ont été testées pour déterminer les paramètres cinétiques de la croissance bactérienne ( $X_{\text{initiale}}$ ,  $X_{\text{max}}$ ,  $\mu_{\text{max}}$  et la phase de latence  $\lambda$ ): 10 mg/mL (C1), 5 mg/mL (C2) et 2,5 mg/mL (C3), en comparant avec un témoin sans addition. L'évolution du pH et l'acidité titrable ( $^{\circ}\text{D}$ ) ont été aussi suivies. Le rendement d'extraction aqueuse de la citronnelle a été satisfaisant, 10,697%, et les résultats obtenus ont montré que son ajout au lait n'a pas permis d'inhiber significativement la croissance microbienne par rapport à l'échantillon témoin. Les valeurs de  $X_{\text{initiale}}$  (3,65 à 3,89 Log UFC/mL) et  $X_{\text{max}}$  (8,521 à 8,703 Log UFC/mL) ont été restés proches de celles du témoin (3,77 et 8,431 log UFC/mL respectivement). De même, les vitesses spécifiques de croissance ( $\mu_{\text{max}}$ ) n'ont pas montré de diminution marquée, atteignant même des valeurs légèrement supérieures pour certaines concentrations (jusqu'à 1,02 Log UFC/mL/h pour C1). La phase de latence a également varié légèrement (1,432 à 1,624 h), sans retard significatif de la croissance microbienne. Concernant l'acidité et le pH, une augmentation progressive de l'acidité et une diminution du pH ont été observées dans tous les échantillons au fil du temps, traduisant l'activité métabolique des bactéries lactiques durant la conservation. Nous pouvons conclure que l'extrait de *C. citratus*, dans les concentrations testées et sous la forme aqueuse, n'a pas exercé d'effet conservateur significatif sur la flore totale aérobie mésophile du lait pasteurisé.

**Mots clés :** *Cymbopogon citratus*, lait pasteurisé, extrait aqueux, lait additionné, effet bioconservateur.

## ***Abstract***

Pasteurized milk, despite the applied heat treatment, remains susceptible to microbial alteration during storage. The use of natural compounds of plant origin is attracting increasing interest to improve its microbiological stability. The present work aims to evaluate the effect of the addition of the aqueous extract of *Cymbopogon citratus* on the dynamics of overall microbial growth and the physicochemical quality of pasteurized milk during its refrigerated storage. Three concentrations of the aqueous extract were tested to determine the kinetic parameters of bacterial growth (initial X, max X, max  $\mu$  and the lag phase  $\lambda$ ) : 10 mg/mL (C1), 5 mg/mL (C2) and 2.5 mg/mL (C3), comparing with a control without addition. The evolution of pH and titratable acidity ( $^{\circ}$ D) were also monitored. The aqueous extraction yield of lemongrass was satisfactory, 10.697%, and the results obtained showed that its addition to milk did not significantly inhibit microbial growth compared to the control sample. The values of X initial (3.65 to 3.89 Log CFU/mL) and X max (8.521 to 8.703 Log CFU/mL) remained close to those of the control (3.77 and 8.431 log CFU/mL respectively). Similarly, the specific growth rates ( $\mu$  max) did not show a marked decrease, even reaching slightly higher values for some concentrations (up to 1.02 Log CFU/mL/h for C1). The lag phase also varied slightly (1.432 to 1.624 h), without significant delay in microbial growth. Regarding acidity and pH, a gradual increase in acidity and a decrease in pH were observed in all samples over time, reflecting the metabolic activity of lactic acid bacteria during storage. We can conclude that the *C. citratus* extract, at the tested concentrations and in aqueous form, did not exert a significant preservative effect on the total mesophilic aerobic flora of pasteurized milk.

**Keywords:** *Cymbopogon citratus*, pasteurized milk, aqueous extract, supplemented milk, biopreservative effect.

## ملخص

يظل الحليب المبستر، على الرغم من المعالجة الحرارية المُطبقة، عُرضةً للتغيرات الميكروبية أثناء التخزين. ويحظى استخدام المركبات الطبيعية ذات الأصل النباتي باهتمام متزايد لتحسين استقراره الميكروبيولوجي. يهدف هذا العمل إلى تقييم تأثير إضافة المستخلص المائي لنبات *Cymbopogon citratus* على ديناميكيات النمو الميكروبي الكلي والجودة الفيزيائية والكيميائية للحليب المبستر أثناء تخزينه المبرد. اختُبرت ثلاثة تراكيز من المستخلص المائي لتحديد المعلمات الحركية لنمو البكتيريا (X الابتدائي، X الأقصى،  $\mu$  الأقصى، ومرحلة التأخر  $\lambda$ ): 10 ملغ/مل (C1)، 5 ملغ/مل (C2)، و 2.5 ملغ/مل (C3)، وذلك بالمقارنة مع عينة ضابطة بدون إضافة. كما رُصد تطور الرقم الهيدروجيني (pH) والحموضة القابلة للمعايرة ( $^{\circ}D$ )، كان العائد من الاستخلاص المائي لعشبة الليمون مُرضياً بنسبة 10.697%، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن إضافته إلى الحليب لم يُثبط نمو الميكروبات بشكل كبير مقارنةً بعينة التحكم. وظلت قيم X الأولية (3.65 إلى 3.89 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل) و X القصوى (8.521 إلى 8.703 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل) قريبة من قيم عينة التحكم (3.77 و 8.431 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل على التوالي). وبالمثل، لم تُظهر معدلات النمو النوعية (ميكرومتر أقصى) انخفاضاً ملحوظاً، بل وصلت إلى قيم أعلى قليلاً لبعض التركيزات (حتى 1.02 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل/ساعة لـ C1). كما تباينت مرحلة التأخر قليلاً (1.432 إلى 1.624 ساعة)، دون تأخير كبير في نمو الميكروبات. وفيما يتعلق بالحموضة والرقم الهيدروجيني، لوحظت زيادة تدريجية في الحموضة وانخفاض في الرقم الهيدروجيني في جميع العينات بمرور الوقت، مما يعكس النشاط الأيضي لبكتيريا حمض اللاكتيك أثناء التخزين. نستنتج أن مستخلص نبات سيمبوبوغون سيتراتوس، بالتركيزات المختبرة وفي المستخلص المائي، لم يُظهر تأثيراً حافظاً يُذكر على إجمالي البكتيريا الهوائية المحبة للحرارة المتوسطة في الحليب المبستر.

**الكلمات المفتاحية:** *Cymbopogon citratus* حليب مبستر، مستخلص مائي، حليب مُضاف، تأثير حافظة حيوية.

*Table des matières*

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>VI</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>VII</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>IX</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Lait pasteurisé .....</b>	<b>3</b>
<b>1. Définition du lait .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Différents types du lait d'origine animale.....</b>	<b>3</b>
<b>3. Lait de consommation traités thermiquement .....</b>	<b>4</b>
<b>4. Lait pasteurisé.....</b>	<b>4</b>
<b>4.1. Définition .....</b>	<b>5</b>
<b>4.2. Propriétés organoleptiques du lait pasteurisé .....</b>	<b>5</b>
<b>4.2.1. Couleur .....</b>	<b>5</b>
<b>4.2.2. Odeur .....</b>	<b>6</b>
<b>4.2.3. Gout.....</b>	<b>6</b>
<b>4.2.4. Texture .....</b>	<b>6</b>
<b>4.3. Qualité organoleptique du lait pasteurisé .....</b>	<b>6</b>
<b>4.4. Principales propriétés physico-chimique du lait pasteurisé .....</b>	<b>7</b>
<b>4.4.1. pH.....</b>	<b>7</b>
<b>4.4.2. Densité .....</b>	<b>7</b>
<b>4.4.3. Viscosité.....</b>	<b>7</b>

---

4.4.4. Acidité .....	7
4.4.5. Point d'ébullition .....	8
4.4.6. Point de congélation.....	8
4.5. Composition du lait pasteurisé .....	8
4.5.1. Eau.....	8
4.5.2. Glucide .....	9
4.5.3. Matière grasse .....	9
4.5.4. Minéraux .....	10
4.5.5. Protéines .....	10
4.5.6. Vitamines .....	11
4.6. Techniques de pasteurisation.....	11
4.6.1. Pasteurisation basse .....	11
4.6.2. Pasteurisation haute.....	11
4.6.3. Flash pasteurisation .....	12
4.7. Avantages de la pasteurisation du lait .....	12
4.8. Inconvénients de la pasteurisation du lait .....	12
Chapitre II : Flore microbienne du lait pasteurisé.....	13
1. Introduction .....	20
2. Origine des bactéries dans le lait pasteurisé .....	20
2.1. Bactéries survivant à la pasteurisation (flore thermorésistante) .....	13
2.2. Contamination post-pasteurisation .....	14
3. Flore originelle ou indigène .....	15
4. Types de bactéries retrouvées dans le lait pasteurisé .....	15
4.1. Bactéries lactiques .....	15
4.2. Bactéries coliformes .....	16
4.3. Bactéries psychrotrophes .....	16

---

4.3.1. Bactéries protéolytiques.....	17
4.3.2. Bactéries lipolytiques .....	17
4.3.3. Bactéries acidoprotéolytiques.....	17
4.4. Pathogènes potentiels .....	17
4.4.1. <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	17
4.4.2. <i>Salmonella et Shigella</i> .....	18
4.4.3. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	18
4.5. Flore totale aérobie mésophile .....	18
4.6. Qualité microbiologique de lait pasteurisé .....	19
<b>Chapitre III : <i>Cymbopogon citratus</i></b> .....	<b>20</b>
<b>1. Introduction</b> .....	<b>20</b>
<b>2. Définition et importance d'une plante médicinale</b> .....	<b>20</b>
<b>3. Famille des Poaceae</b> .....	<b>21</b>
<b>4. Genre <i>Cymbopogon</i></b> .....	<b>21</b>
<b>5. Espèce <i>Cymbopogon citratus</i></b> .....	<b>22</b>
<b>5.1. Historique</b> .....	<b>22</b>
<b>5.2. Origine</b> .....	<b>22</b>
<b>5.3. Systématique</b> .....	<b>23</b>
<b>5.4. Description botanique</b> .....	<b>23</b>
<b>5.5. Distribution</b> .....	<b>24</b>
<b>5.6. Utilisation traditionnelle de <i>Cymbopogon citratus</i></b> .....	<b>25</b>
<b>5.7. Composition chimique de <i>Cymbopogon citratus</i></b> .....	<b>25</b>
<b>5.8. Activité antimicrobienne de <i>Cymbopogon citratus</i></b> .....	<b>26</b>
<b>5.9. Toxicité</b> .....	<b>26</b>
<b>Chapitre IV : Matériel et Méthodes</b> .....	<b>27</b>

---

<b>1. Matériel</b> .....	<b>27</b>
<b>1.1. Matériel de laboratoire</b> .....	<b>27</b>
<b>1.2. Matériel végétale</b> .....	<b>27</b>
<b>1.3. Echantillon du lait</b> .....	<b>29</b>
<b>2. Méthodes</b> .....	<b>29</b>
<b>2.1. Préparation de la gélose nutritive</b> .....	<b>29</b>
<b>2.2. Préparation de l'eau physiologique</b> .....	<b>30</b>
<b>2.3. Préparation du matériel végétal</b> .....	<b>31</b>
<b>2.3.1. Collecte et séchage de la plante</b> .....	<b>31</b>
<b>2.3.2. Broyage de la plante</b> .....	<b>31</b>
<b>2.4. Préparation de l'extrait aqueux</b> .....	<b>31</b>
<b>2.5. Etude microbiologique du lait pasteurisé</b> .....	<b>33</b>
<b>2.5.1 Préparation de la solution de l'extrait aqueux</b> .....	<b>33</b>
<b>2.5.2. Préparation des échantillons du lait supplémenté à l'extrait aqueux</b> .....	<b>33</b>
<b>2.5.4. Préparation des dilutions décimales</b> .....	<b>34</b>
<b>2.5.6. Évaluation de la cinétique de croissance de la Flore Totales Aérobie Mésophile</b> .....	<b>35</b>
<b>2.5.7. Détermination quantitative des unités formant colonie par millilitre</b> .....	<b>36</b>
<b>2.5.8. Analyse biomathématique</b> .....	<b>37</b>
<b>2.6. Analyse physicochimique</b> .....	<b>37</b>
<b>2.6.1. Mesure du pH</b> .....	<b>37</b>
<b>2.6.2. Mesure de l'acidité</b> .....	<b>38</b>
<b>Chapitre V : Résultats et discussion</b> .....	<b>39</b>
<b>1. Résultats</b> .....	<b>39</b>
<b>1.1. Rendement d'extraction</b> .....	<b>39</b>
<b>1.2. Suivre de la croissance microbienne</b> .....	<b>39</b>

<b>1.2.1. Analyse biomathématique par détermination des paramètres cinétiques de la croissance microbienne .....</b>	<b>42</b>
<b>1.2.2. Analyses physicochimiques.....</b>	<b>44</b>
<b>2. Discussion.....</b>	<b>46</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>50</b>
<b>Références bibliographique</b>	
<b>Annexes</b>	

*Liste des abréviations*

AM: Aérobie Mésophile

*C. burnetii* : *Coxiella burnetii*

*C. citratus* : *Cymbopogon citratus*

UHT : Ultra-Haute Température

°D : Degré Dornic

FAO : Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture

FTAM : Flore Totale aérobie Mésophile

HTST : Pasteurisation à haute Température et courte durée

ISO 7218 : Couvre l'examen pour les bactéries, les levures, les moisissures

*M. tuberculosis*: *Mycobacterium tuberculosis*

OMS : Organisation mondiale de la Santé

UFC : Unité Formant Colonie

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

$X_{\text{initiale}}$  : Charge microbienne initiale

$X_{\max}$  : Charge microbienne maximale

$\lambda$  : Durée de la phase de latence

Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Schéma du fonctionnement de la pasteurisation du lait.....	<b>5</b>
<b>Figure 2:</b> Composition du lait .....	<b>10</b>
<b>Figure 3:</b> Aspect morphologique de Poaceae en croissance naturelle.....	<b>21</b>
<b>Figure 4:</b> Aspect morphologique de <i>Cymbopogon citratus</i> (Citronnelle) en croissance naturelle. ....	<b>24</b>
<b>Figure 5:</b> Répartition mondiale de <i>Cymbopogon citratus</i> .....	<b>25</b>
<b>Figure 6:</b> Photographie personnelle de l'espèce <i>Cymbopogon citratus</i> . ....	<b>28</b>
<b>Figure 7:</b> Situation géographique de la région de la récolte des feuilles de l'espèce <i>Cymbopogon citratus</i> . ....	<b>28</b>
<b>Figure 8:</b> Sachet du lait de vache pasteurisé partiellement écrémé (1 litre) .....	<b>29</b>
<b>Figure 9:</b> Etapes de la préparation de la GN. ....	<b>30</b>
<b>Figure 10:</b> Préparation de l'eau physiologique pour l'étude microbiologique. ....	<b>30</b>
<b>Figure 11:</b> Etapes d'extraction aqueuse de l'espèce <i>Cymbopogon citratus</i> . ....	<b>32</b>
<b>Figure 12:</b> Préparation de la solution de l'extrait aqueux de <i>C. citratus</i> .....	<b>33</b>
<b>Figure 13:</b> Flacons de différents échantillons du lait. ....	<b>34</b>
<b>Figure 14:</b> Réalisation d'une dilution décimale à l'aide d'une micropipette en conditions aseptiques. ....	<b>35</b>
<b>Figure 15:</b> Ensemencement en profondeur. ....	<b>35</b>
<b>Figure 16:</b> Lecture et dénombrement des colonies bactériennes à l'aide d'un compteur de colonies .....	<b>36</b>
<b>Figure 17:</b> Mesure du pH d'un échantillon du lait. ....	<b>37</b>
<b>Figure 18:</b> Réalisation de la titration acide-base (photo personnelle). ....	<b>38</b>
<b>Figure 19:</b> Courbes de croissance microbienne de la FTAM du lait réfrigéré (4°C) non supplémenté et supplémenté de différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Cymbopogon citratus</i> pendant 8 jours. ....	<b>40</b>
<b>Figure 20:</b> Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de <i>Cymbopogon citratus</i> à 10mg/ml par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts). ....	<b>40</b>
<b>Figure 21:</b> Evolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de <i>Cymbopogon citratus</i> à 5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts). ....	<b>41</b>

**Figure 22:** Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à 2,5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts).....**41**

**Figure 23:** Évolution des paramètres de croissance bactérienne dans le lait pasteurisé additionné de différentes concentrations d'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus*. ....**44**

**Figure 24:** Suivi de l'évolution de pH des échantillons du lait au cours de 8 jours.....**45**

**Figure 25:** Suivi de l'acidité Dornic des échantillons du lait au cours de 8 jours.....**46**

*Liste des tableaux*

**Tableau 1:**Traitements et conservation du lait .....5  
**Tableau 2:**Influence de la pasteurisation sur la stabilité des vitamines du lait .....11  
**Tableau 3:**Distribution géographique de *Cymbopogon citratus* dans le monde. ....24  
**Tableau 4:**Rendement de l'extrait aqueux des feuilles de *Cymbopogon citratus*. ....39  
**Tableau 5:**Valeurs des paramètres de croissance microbienne de la flore totale aérobie  
mésophile du lait obtenus par le modèle Baranyi et Roberts.....42

# *Introduction*

---

## **Introduction**

Le lait est un aliment d'origine animale complet, consommé par toutes les tranches d'âge en raison de sa richesse en nutriments essentiels : protéines, lipides, glucides, vitamines et minéraux. Il joue un rôle fondamental dans la nutrition humaine, notamment pour le nouveau-né, en fournissant énergie et protection immunitaire. En Algérie, pays à forte tradition laitière, le lait et ses dérivés occupent une place centrale dans l'alimentation. Il représente à lui seul environ 65,5 % des apports en protéines d'origine animale (**Boukantar, 2004 ; Gandhi, 2020 ; Otmane Rachedi et al., 2022**).

Toutefois, le lait peut être un vecteur de micro-organismes pathogènes responsables de maladies graves telles que la brucellose, la tuberculose ou la listériose. Sa qualité est influencée par divers facteurs post-sécrétion, qu'ils soient naturels ou liés aux manipulations humaines. Pour garantir sa sécurité sanitaire, les laiteries appliquent plusieurs contrôles de qualité dès la réception du lait. L'introduction de la pasteurisation a permis de réduire significativement les risques microbiologiques. Néanmoins, la recherche s'oriente de plus en plus vers des alternatives naturelles. Cette tendance a conduit à l'exploration de composés bioactifs d'origine naturelle, en particulier ceux issus des plantes, des micro-organismes et, dans une moindre mesure, des animaux. Ces substances, utilisées en tant que bioconservateurs, visent à prolonger la durée de conservation des aliments tels que le lait cru, ou le lait pasteurisé ...etc (**Velez, 2017 ; Gandhi, 2020 ; Serrer, 2023**).

Depuis l'Antiquité, les plantes aromatiques et médicinales sont reconnues pour leurs propriétés antiseptiques. Aujourd'hui, leurs extraits suscitent un fort intérêt, notamment pour leurs activités antimicrobienne et antioxydante, en tant qu'alternatives naturelles aux additifs chimiques. Moins toxiques, ils permettent d'aromatiser et de prolonger la conservation des aliments, comme le lait, tout en répondant aux exigences croissantes en matière de sécurité sanitaire (**Darinmo et al., 2000 ; Ahn et al., 2007 ; Degnon et al., 2016**).

D'ailleurs, de nombreuses recherches ont été consacrées au développement de nouvelles applications et à la valorisation des propriétés naturelles des extraits végétaux dans le domaine alimentaire. En laboratoire, plusieurs de ces extraits ont démontré une activité antimicrobienne significative. Toutefois, avant leur utilisation effective comme agents de conservation, il est essentiel de valider ces résultats directement sur les matrices alimentaires ciblées. En effet, les données obtenues sur des milieux modèles sont généralement transposables aux aliments, bien qu'une concentration légèrement plus élevée en extraits soit souvent nécessaire. De nombreux

travaux ont ainsi mis en évidence l'efficacité des extraits de plantes dans la conservation de produits tels que le lait, le fromage waragashi ...ect (**Koudoro et al., 2018**)

Parmi les plantes les plus prometteuses dans le domaine de la bioconservation, *Cymbopogon citratus* (communément appelé citronnelle). Cette plante médicinale a fait l'objet de nombreuses études pour son potentiel en tant que conservateur naturel. En effet, des recherches ont démontré l'efficacité de ses extraits dans la préservation de denrées alimentaires hautement périssables telles que le lait. Son activité antimicrobienne naturelle en fait une alternative intéressante aux additifs chimiques, notamment dans le cadre d'une alimentation plus saine et plus respectueuse de l'environnement (**Koudoro et al., 2018**)

Dans cette étude, l'objectif principal est d'évaluer l'effet de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* sur l'évolution de la flore mésophile aérobie dans le lait réfrigéré, en suivant la variation de la charge microbienne au cours du stockage. Il s'agit de déterminer si l'ajout de cet extrait naturel peut ralentir ou limiter le développement global de la microflore, et ainsi contribuer à la conservation du lait sans recourir à des conservateurs chimiques.

Le présent mémoire est structuré de deux parties principales. La première partie est dédiée à une synthèse bibliographique répartie en trois chapitres : la première traite les caractéristiques générales du lait pasteurisé réfrigéré, le second présente les données essentielles relatives à la plante *Cymbopogon citratus*, alors que le troisième chapitre s'intéresse à la flore microbienne totale du lait. La seconde partie est consacrée à l'étude expérimentale. Elle se divise en deux chapitres : le premier décrit de manière détaillée le matériel utilisé ainsi que la méthodologie adoptée, le second présente et analyse les résultats expérimentaux obtenus. Le travail s'achève par une conclusion générale assortie de quelques perspectives de recherche.

*Partie*

---

*Bibliographique*

# *Chapitre I*

---

## *Lait pasteurisé*

## Chapitre I : Lait pasteurisé

### 1. Définition du lait

Le lait est un produit naturel sécrété par les mammifères, à la fois aliment et boisson, il a donc un grand intérêt nutritionnel et se prête à de nombreuses applications culinaires, industrielles et technologiques. Notons que le terme « lait » sans aucun autre qualificatif est réservé au lait de vache. L'origine du lait doit donc être spécifiée s'il ne provient pas de l'espèce bovine (lait de chèvre, lait de brebis, etc.) (**Fedala, 2022**).

Le lait, aliment fonctionnel riche en nutriments et en vitamines, est progressivement devenu un élément indispensable de l'alimentation humaine. Face au rythme effréné de la vie et du travail modernes, les produits laitiers pasteurisés, biens de consommation courante, ont été plébiscités. Actuellement, la pasteurisation (72–75 °C pendant 15–16 s ou 80–85 °C pendant 10–15 s) et la stérilisation à ultra-haute température (UHT) (135–150 °C pendant 4–15 s) sont des méthodes de stérilisation du lait couramment utilisées dans le monde entier. Bien que le lait traité UHT se conserve plus longtemps sans réfrigération que le lait pasteurisé, il entraîne une perte de nutriments plus importante. En comparaison, le lait pasteurisé est traité de manière douce, ce qui non seulement élimine les bactéries pathogènes présentes dans le lait, mais maximise également les propriétés nutritionnelles et gustatives du lait frais. Cependant, la pasteurisation modifie la saveur et la qualité du lait, et cette modification de la qualité peut affecter son acceptation par les consommateurs (**Shao Yiwei et al., 2023**).

### 2. Différents types du lait d'origine animale

Le lait d'origine animale constitue une source nutritionnelle essentielle pour l'alimentation humaine, fournissant des macronutriments (protéines, lipides, glucides) ainsi que des micronutriments (vitamines et minéraux). Les principales espèces productrices de lait sont la vache, la chèvre, la brebis, la bufflonne, la chamelle et l'ânesse. Chaque type de lait présente des caractéristiques physico-chimiques distinctes : par exemple, le lait de brebis est plus riche en matières grasses et en protéines que le lait de vache, tandis que le lait de chamelle est apprécié pour sa digestibilité et sa teneur en vitamine C (**Albert, 2023**). Pour assurer la sécurité microbiologique du lait et prolonger sa durée de conservation, plusieurs techniques de traitement et de préservation sont mises en œuvre. Parmi celles-ci figurent les procédés thermiques (tels que la pasteurisation, la stérilisation et le traitement à ultra-haute température (UHT)), les méthodes de réfrigération, le séchage (par pulvérisation ou sur cylindre), la conservation sous atmosphère protectrice (par vide, gaz inertes ou emballages adaptés), ainsi

que l'utilisation d'agents antiseptiques (comme le peroxyde d'hydrogène, la bêta-propiolactone ou encore l'acide citrique) (Sagar, 2022).

### **3. Laits de consommation traités thermiquement**

Les traitements thermiques du lait, ou leurs équivalents comme la microfiltration, ont pour but principal d'éliminer les micro-organismes pathogènes afin de garantir la sécurité microbiologique du produit et d'en prolonger la durée de conservation. De plus, ils réduisent voire suppriment également les bactéries non pathogènes naturellement présentes dans le lait. Toutefois, un lait ainsi traité reste vulnérable à un éventuel recontamination s'il est utilisé ultérieurement dans la fabrication d'autres produits. Il a été démontré qu'une bactérie pathogène peut se développer plus facilement dans un lait traité thermiquement que dans du lait cru, dont la flore microbienne spécifique est encore intacte. En fonction de leurs effets sur la flore microbienne, deux grandes catégories de traitements thermiques se distinguent : la pasteurisation et la stérilisation. La pasteurisation s'effectue à des températures inférieures à 100 °C, tandis que la stérilisation requiert des températures supérieures à 110 °C. Cette dernière méthode permet de détruire toutes les formes de contamination microbiologique : cellules végétatives, spores et toxines préformées (Renard, 2014).

### **4. Lait pasteurisé**

La pasteurisation détruit les bactéries pathogènes et améliore la conservation du lait, ce qui facilite son transport et sa distribution, notamment en milieu urbain. Elle permet d'obtenir une flore lactique plus pure que celle du lait cru. Pour une bonne conservation, il est crucial de détruire la flore thermorésistante et de limiter la contamination. Un lait pasteurisé de qualité se conserve 24 heures à température ambiante, si celle-ci ne dépasse pas 23 °C (Mocquot, 1956). Le lait pasteurisé est chauffé à 85 °C pendant 20 minutes afin de réduire significativement les microorganismes, assurant ainsi sa sécurité sanitaire et une meilleure conservation (Balkissa et Ozairou, 2023).

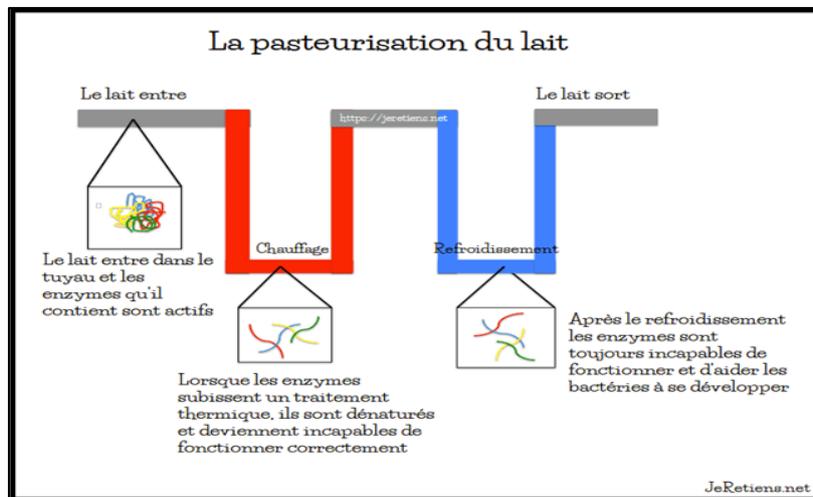
Avant la découverte, par Louis Pasteur, de ce procédé révolutionnaire, le lait pouvait transmettre des infections bactériennes graves comme la tuberculose, la diphtérie et la typhoïde. En éliminant 99,4% des bactéries présentes dans le lait par pasteurisation, celui-ci se conserve plus longtemps (15-18 jours) sans danger pour la santé (Denise, 2023).

### 4.1. Définition

Le lait pasteurisé peut être issu soit de lait cru d'origine animale, soit de lait reconstitué. Il subit un traitement thermique modéré, appelé pasteurisation, qui permet d'éliminer plus de 90 % de la flore microbienne initialement présente (M'Boya J.C. et al., 2001).

**Tableau 1:** Traitements et conservation du lait (Fedala, 2022)

Traitement thermique de lait	Pasteurisation
Conséquence du traitement thermique	Destruction des germes pathogènes
Mode et durée de conservation (en emballage fermé)	Réfrigération +4°C 7 jours
Mode et durée de conservation (en emballage ouvert)	Réfrigération ≤+6°C à 3 jours
Conditions de consommation et de conservation	On les consomme directement sans les faire bouillir



**Figure 1:** Schéma du fonctionnement de la pasteurisation du lait (Mirandole, 2019)

### 4.2. Propriétés organoleptiques du lait pasteurisé

#### 4.2.1. Couleur

Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre, due en grande partie à la présence de matières grasses, de pigments de carotène (la vache transforme le β-

carotène contenu dans son alimentation en vitamine A qui se trouve directement dans le lait), de caséines (principales protéines du lait) et de vitamine B<sub>2</sub> (**Fedala, 2022**).

#### 4.2.2. Odeur

Le lait présente une odeur faible mais spécifique. En effet, grâce aux matières grasses qu'il contient, le lait fixe des odeurs animales. Ces dernières sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation de l'animal et à la conservation du lait (**Fedala, 2022**).

#### 4.2.3. Gout

La saveur du lait est douce et varie en fonction de sa température de consommation (lait froid ou lait chaud) et selon l'alimentation de l'animal (**Fedala, 2022**).

La température à laquelle le lait est consommé peut modifier la perception de ses saveurs. Par exemple, le lait UHT (Ultra Haute Température) est souvent décrit comme ayant un goût plus cuit, plus riche et plus crémeux que le lait pasteurisé, en raison du traitement thermique plus intense qu'il subit. Cependant, cette différence est généralement minime lorsque le lait est servi à la même température, certaines personnes la remarquent tandis que d'autres non (**FRC, 2010**).

L'alimentation des vaches laitières a une influence notable sur la composition et la saveur du lait produit. Une vache nourrie principalement d'herbe produit un lait de meilleure qualité que celle se nourrissant de foin ou de maïs (**RTL, 2018**).

#### 4.2.4. Texture

La texture du lait dépend essentiellement de sa teneur en matières grasses. Ainsi, plus un lait est riche en lipides et plus il a tendance à être crémeux (**Fedala, 2022**).

### 4.3. Qualité organoleptique du lait pasteurisé

La qualité organoleptique du lait pasteurisé, englobant des caractéristiques telles que le goût, l'arôme, la texture et l'apparence, est influencée par divers facteurs liés au traitement thermique et aux conditions de stockage. Des recherches récentes ont mis en évidence que la pasteurisation peut induire des modifications sensorielles notables (**Rabbani et al., 2025**).

Une étude menée par **Shao et al., (2023)** a examiné l'impact de différentes pressions d'homogénéisation sur la qualité organoleptique du lait pasteurisé. Les résultats ont montré que le lait pasteurisé sous une pression de 150 bars, après 72 heures de stockage, présentait une texture uniforme, une saveur de lait prononcée et une stabilité optimale. Cependant, après 168

heures de stockage, des altérations telles que des goûts métalliques, acides et salés ont été observées, affectant la qualité sensorielle du produit.

La pasteurisation, bien qu'essentielle pour la sécurité du lait, peut altérer ses qualités sensorielles. Il est donc crucial d'optimiser les paramètres de traitement pour en préserver la qualité organoleptique (**Rabbani et al., 2025**).

#### **4.4. Principales propriétés physico-chimique du lait pasteurisé**

##### **4.4.1. pH**

C'est le potentiel hydrogène qui influe la solubilité des protéines. Il représente l'état de fraîcheur du lait et il est compris entre 6,6 et 6,8. Si le pH du lait est mesuré à moins de 6,6 l'acidité de ce dernier est plus développée (**Amiot et al., 2002**). Selon **Chilliard (1984)**, le pH du lait change d'une espèce à l'autre, à cause des différences de la composition chimique, également en caséine et en phosphate.

##### **4.4.2. Densité**

La densité du lait à 15 °C varie de 1.028 à 1.035 pour une moyenne de 1.032. Chacun des constituants agit sur la densité du lait, étant donné que la matière grasse est le seul constituant qui possède une densité inférieure de 1 (**Vignola, 2002**). Celle-ci est mesurée avec un thermo-lactodensimètre qui permet aussi de déterminer rapidement la teneur en matières grasses du lait (**Fedala, 2022**).

##### **4.4.3. Viscosité**

La viscosité du lait, facteur clé de sa qualité, résulte d'une interaction complexe entre colloïdale émulsifiées et dissoutes, où la proportion de graisse et de caséine dans le lait est le facteur le plus déterminant dans la modulation de sa viscosité (**Rheotest, 2010**). Elle est due à la présence des protéines et des lipides. Elle diminue lorsque la température augmente et s'élève lorsque le pH est inférieur à 6 (**Fedala, 2022**).

##### **4.4.4. Acidité**

L'acidité du lait a deux origines : l'acidité naturelle due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques, et l'acidité développée due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique (**Jean et Dijon, 1993**).

Leur principe se résume pour toutes dans l'addition au lait préalablement mélangé avec l'indicateur, de quantités progressives de soude titrée jusqu'à l'apparition d'une teinte rose

nettement perceptible. L'expression des résultats s'effectue en degrés Dornic (D) qui représentent le nombre de 1/10 de centimètres cubes nécessaires à faire apparaître la teinte rose de la-phtaléine. L'auteur du procédé a choisi le titre N/9 de la soude pour qu'une simple transposition de virgule permette d'exprimer l'acidité du lait en acide lactique. Le degré Dornic, en effet, représente le nombre de décigrammes d'acide lactique qu'ont dit, conventionnellement, équivaloir l'acidité d'un litre de lait (**Tapernoux, 1928**).

#### 4.4.5. Point d'ébullition

Le point d'ébullition est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance est égale à la pression appliquée (**Amiot *et al.*, 2002**). Le point d'ébullition du lait est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5°C. Cette propriété physique diminue avec la pression. On applique ce principe dans les procédés de concentration du lait (**Vignola, 2002**).

#### 4.4.6. Point de congélation

Selon **Vignola (2002)**, le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau en raison de la présence de solides dissous, qui entraînent une diminution de ce point de congélation. Il s'agit de la température à laquelle une substance passe de l'état liquide à l'état solide. Pour le lait, cette température de congélation se situe en moyenne entre -0,54 et -0,55 °C.

### 4.5. Composition du lait pasteurisé

Le lait constitue une source nutritionnelle et énergétique importante. En effet, il contient des protéines de haute qualité et de matières grasses. Il peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique. L'eau constitue la composante majeure (98%) du lait qui se divise en plusieurs phases, à savoir ; une solution varie contenant les sucres, les protéines solubles, les minéraux et les vitamines hydrosolubles ; une solution colloïdale contenant les protéines en particulier les caséines, et une émulsion de matières grasses dans l'eau (**Alais *et al.*, 2008**).

#### 4.5.1. Eau

L'eau représente environ 81 à 87% du volume du lait selon la race. Elle se trouve sous deux formes : libre (96 % de la totalité) et liée à la matière sèche (4 % de la totalité) (**Ramet, 1985**).

#### 4.5.2. Glucide

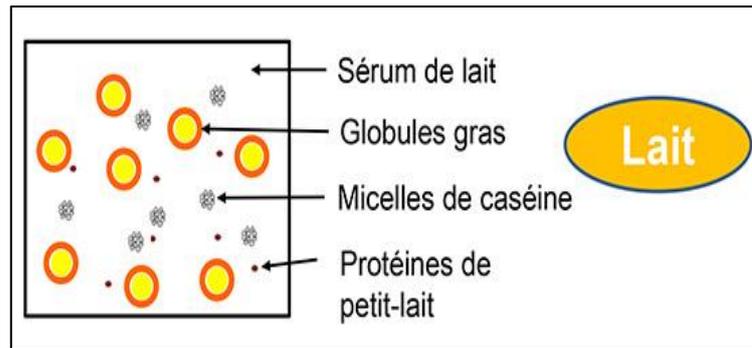
Le sucre principal du lait est le lactose, disaccharide constitué par l'association d'une molécule de glucose et d'une molécule de galactose. On ne relève que 70 mg/L de glucose et 20 mg/L de galactose ainsi que des traces d'autres glucides. Le lactose a un faible pouvoir sucrant (indice 17) comparé à ceux du saccharose (indice 100) et du glucose (indice 75). Il est assimilé après hydrolyse en présence de l'enzyme "lactase" au niveau de l'intestin grêle. Chez les mammifères, la production de lactase cesse entre le sevrage et l'âge adulte. Les sujets qui ne possèdent plus cette enzyme ne peuvent digérer le lactose, cause alors de troubles intestinaux. Le lactose est un sucre fermentescible. Il est dégradé en acide lactique par des bactéries lactiques (*Lactobacilles* et *Streptocoques*) ce qui provoque un abaissement du pH du lait entraînant sa coagulation ; celle-ci est indispensable pour la fabrication des fromages et de laits fermentés (Cudec, 2017).

La synthèse de lactose nécessite l'intervention d'une enzyme nommée la lactosynthétase qui est constituée de deux protéines : l' $\alpha$ -lactalbumine et la galactosyltransférase dont la synthèse est modulée d'une part par la prolactine qui a une action de stimulation et d'autre part par la progestérone qui, à concentration élevée, inhibe la synthèse d' $\alpha$ -lactalbumine (Lakhdara, 2021).

#### 4.5.3. Matière grasse

La matière grasse (lipide) du lait est produite principalement à partir des acides gras volatils, acides acétique et butyrique, dont le premier est formé principalement à partir des glucides pariétaux des fourrages (cellulose) et le second à partir des glucides rapidement fermentescibles (sucre des betteraves). Sous certaines conditions, des graisses alimentaires peuvent également contribuer à la formation de la matière grasse du lait (Walter, 2002).

La matière grasse dont la quantité varie en fonction des conditions d'élevage, est présentée dans le lait sous forme de globules gras, de 1 à 8  $\mu\text{m}$  de diamètre, émulsionnés dans la phase aqueuse, le taux est variable (environ 10 milliards de globules par millilitre de lait). Elle est constituée principalement de composés lipidiques. Le trait commun aux lipides est la présence d'acides gras qui représentent 90 % de la masse des glycérides, ils sont donc les composés fondamentaux de la matière grasse (Cudec, 2017).



**Figure 2:** Composition du lait (Agroscope, 2016)

#### 4.5.4. Minéraux

Le lait contient une grande partie des minéraux indispensables à l'organisme (calcium, phosphore, magnésium, sodium, potassium). Les teneurs varient légèrement en fonction du stade de lactation, de la race, de la saison, de la nature du sol, ... etc. L'intérêt du lait réside essentiellement en sa richesse en calcium particulièrement bien absorbé. Le principal rôle du calcium est de participer à l'édification du squelette et au maintien du capital osseux. Ainsi, 99 % du calcium corporel est contenu dans les os, le 1 % restant circule dans le sang et est impliqué dans de nombreuses fonctions de l'organisme (coagulation du sang, pression artérielle, régulations hormonales, transmission de l'influx nerveux aux muscles, fonctionnement enzymatiques, ... etc) (Yvette, 2015).

#### 4.5.5. Protéines

Les protéines laitières ont une très bonne valeur nutritionnelle grâce à leur composition en acides aminés essentiels. Les acides aminés essentiels ne sont pas synthétisés par notre corps et doivent obligatoirement être fournis par l'alimentation. L'importance de ces protéines est connue dans la croissance de l'enfant et dans le maintien de la masse musculaire chez les seniors. Par ailleurs, les scientifiques commencent seulement à étudier l'importance de ces protéines dans la récupération des sportifs après l'effort (Celagri, 2020).

La teneur du lait en protéines est une caractéristique essentielle de sa valeur marchande car plus le taux protéique est élevé, meilleur sera le rendement de la transformation technologique. La matière protéique et les caséines en particulier prennent, ainsi, de plus en plus d'importance. La caséine est un complexe protéique phosphoré à caractère acide qui précipite dans le lait à pH 4,6. Il s'agit d'une substance hétérogène même si elle a été longtemps considérée comme une protéine pure et homogène en raison de la constance de sa composition élémentaire (Pougheon, 2001).

#### 4.5.6. Vitamines

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (**Vignola, 2002**). Au fait, le lait contient des vitamines liposolubles et autres hydrosolubles. La teneur des vitamines liposolubles (A, D3 et E) dépend beaucoup de l'alimentation quel que soit l'espèce animale considérée, cependant le taux des vitamines hydrosolubles (groupe B) est plus constant chez les ruminants car ces vitamines sont synthétisées par les bactéries du rumen. Chez les monogastriques, leur taux est lié à l'alimentation (**Équipe S V T, 2020**).

**Tableau 2:** Influence de la pasteurisation sur la stabilité des vitamines du lait (**Génin, 2020**)

Vitamine	Résistance à la chaleur	Effet de la pasteurisation
Vitamine A	Résistante	Inchangée
Vitamine B1	Moyennement résistante	Peu affectée
Vitamine B2	Résistante	Inchangée
Vitamine C	Très sensible	Partiellement détruite
Vitamine D	Moyennement résistante	Peu affectée
Vitamine E	Résistante	Inchangée

#### 4.6. Techniques de pasteurisation

Selon **Jeantet et al., (2008)**, trois types de traitements existent :

##### 4.6.1. Pasteurisation basse

La température du traitement varie entre 62 et 65°C pendant 30 min, cette méthode n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie.

##### 4.6.2. Pasteurisation haute

Elle est nommée aussi HTST (Hight Temperature Short Time), elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique et elle est réalisée à une température de 71-72°C pendant 15-40s. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. La date limite de consommation (DLC) des laits ayant subi une pasteurisation haute est de 7 jours après conditionnement.

### 4.6.3. Flash pasteurisation

Elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne, la phosphatase et la peroxydase sont détruites. La température du traitement varie entre 85 et 90°C pendant 1 à 2s.

## 4.7. Avantages de la pasteurisation du lait

La pasteurisation du lait présente plusieurs avantages significatifs tant sur le plan sanitaire que sur celui de la conservation. Tout d'abord, ce procédé thermique permet d'éliminer une grande partie de la flore microbienne pathogène naturellement présente dans le lait cru, rendant ainsi le produit plus sûr pour la consommation humaine. En neutralisant des agents pathogènes tels que *Salmonella*, *Listeria* ou *Brucella*, le lait pasteurisé contribue à la prévention de nombreuses maladies d'origine alimentaire. Par ailleurs, la pasteurisation prolonge la durée de conservation du lait en ralentissant le développement des micro-organismes résiduels et en réduisant les altérations biochimiques. Ce traitement constitue ainsi une solution efficace pour améliorer la qualité microbiologique du lait tout en maintenant ses propriétés nutritionnelles et organoleptiques (Génin, 2020).

## 4.8. Inconvénients de la pasteurisation du lait

La pasteurisation, bien qu'efficace pour assurer la sécurité microbiologique du lait, peut entraîner une diminution notable de sa teneur en crème. En effet, cette réduction devient significative dès que la température dépasse 62 °C, pouvant atteindre 20 à 30 % entre 63 et 64 °C cela signifie que lorsque le lait est chauffé à des températures comprises entre 63 et 64 °C, la quantité de crème (ou matière grasse en surface) diminue de 20 à 30 %, et jusqu'à 40 à 50 % à 68 °C (Si la température atteint 68 °C, la perte de crème est encore plus importante, allant jusqu'à 40 à 50 %). Toutefois, cet effet indésirable peut être atténué par un refroidissement rapide du lait, en particulier dans la zone critique comprise entre 15°C et 45 °C. À l'inverse, un refroidissement lent impacte négativement la préservation de la crème. Ainsi, plus la température finale de refroidissement est basse, meilleure sera la rétention de la crème. Ces éléments soulignent l'importance d'un contrôle rigoureux des conditions thermiques lors de la pasteurisation pour préserver la qualité nutritionnelle et organoleptique du lait (Génin, 2020).

# *Chapitre II*

---

## *Flore microbienne du lait pasteurisé*

## Chapitre II : Flore microbienne du lait pasteurisé

### 1. Introduction

Les méthodes sanitaires de manipulation du lait doivent être strictement respectées afin de garantir sa salubrité pour la consommation humaine. De plus, le lait étant un excellent milieu de croissance, même un petit nombre de bactéries non pathogènes peuvent se multiplier de manière significative si le lait n'est pas conservé au réfrigérateur. Le consommateur n'ayant aucun moyen de savoir si le lait livré à domicile ou acheté en magasin est contaminé, des tests standardisés sont effectués régulièrement sur le lait dans cette zone. À partir des résultats de ces tests, le lait est classé en catégories A, B et C. Ces tests sont couramment utilisés pour déterminer la qualité du lait (**Sitamahalakshmi et al., 2019**).

Non seulement le lait pasteurisé est l'une des meilleures sources de produits laitiers, mais il constitue également un fluide biologique complexe propice à la prolifération de nombreux micro-organismes. Certains micro-organismes pathogènes sont retenus par la technologie de transformation du lait pasteurisé, permettant la croissance d'une grande variété de micro-organismes dans des conditions de croissance idéales. Le lait pasteurisé est susceptible de se détériorer lors d'un stockage et d'un transport de longue durée ou sur de longues distances, compromettant sa qualité et sa sécurité sanitaire par rapport à la longue durée de conservation des produits laitiers parfaitement stérilisés (**Boyd, 2023**).

### 2. Origine des bactéries dans le lait pasteurisé

#### 2.1. Bactéries survivant à la pasteurisation (flore thermorésistante)

La pasteurisation vise à éliminer la majorité des micro-organismes pathogènes présents dans le lait. Cependant, certaines bactéries, notamment les spores de *Bacillus spp*, et *Paenibacillus spp*, possèdent une résistance thermique qui leur permet de survivre au processus de pasteurisation. Ces bactéries peuvent se développer lors du stockage réfrigéré du lait, contribuant ainsi à sa détérioration (**Ledenbach et Marshall, 2009**).

Certaines bactéries présentent une résistance aux traitements thermiques couramment utilisés pour assainir ou conserver le lait. Ces micro-organismes, qualifiés de thermorésistants, peuvent se développer après traitement, entraînant une altération des produits laitiers, voire un risque pour la santé. On distingue plusieurs catégories :

- Flore thermorésistante totale : correspond aux micro-organismes résiduels après un traitement thermique à 63 °C pendant 30 minutes, ou après une pasteurisation haute température courte durée (HTST) à 72 °C pendant 15 secondes.

- Flore moyennement thermorésistante : capable de survivre à un chauffage à 75 °C pendant 12 secondes.

- Flore fortement thermorésistante : résiste à un traitement thermique à 80 °C pendant 10 minutes. Cette dernière inclut notamment les spores bactériennes, qui exigent des températures supérieures à 100 °C pour être inactivées. (FAO, 1995).

Des études récentes confirment que le lait pasteurisé conserve une flore microbienne active, notamment des bactéries thermorésistantes et psychrotolérantes (Lan *et al.*, 2024). Par exemple, Lott, Wiedmann & Martin., (2023) ont montré que la température de stockage (3–10 °C) influence plus la croissance des bactéries sporulantes que la température de pasteurisation HTST, avec des pics allant jusqu'à 10<sup>6</sup> UFC/mL en 10 jours à 10 °C, principalement de genres *Bacillus*, *Paenibacillus* et *Lysinibacillus*.

## 2.2. Contamination post-pasteurisation

L'altération microbienne du lait pasteurisé peut résulter soit de la survie de bactéries Gram positives thermorésistantes aux températures de pasteurisation, soit d'une contamination post-pasteurisation par des bactéries Gram négatives. La présence de *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *Pseudomonas spp.* Ainsi que la détection d'une activité enzymatique bactérienne dans le lait pasteurisé ont été associées à un traitement thermique insuffisant, à des contaminations après la pasteurisation ou à des conditions de stockage inappropriées. En outre, les charges microbiennes totales aérobies mésophiles (atteignant  $7 \times 10^5$  UFC/mL) ont été multipliées par deux à quatre après la sortie de l'unité de pasteurisation, en raison de contaminations liées à l'usage de matériels inadaptés (ustensiles de manipulation, emballages plastiques) (Sarkar, 2015).

Après la pasteurisation, le lait peut être contaminé par des micro-organismes provenant de l'environnement, des équipements de transformation, des emballages ou lors de la manipulation. *Pseudomonas spp.* est l'un des principaux genres responsables de cette contamination post-pasteurisation, en raison de sa capacité à se développer à basse température et à produire des enzymes dégradant les composants du lait (Martin *et al.*, 2021).

Les défauts techniques tels que les fissures et les piqûres dans les plaques de pasteurisation haute température courte durée (HTST), les fissures dans les cuves de stockage

ou les portes de cuves, et l'air comprimé contaminé sont des sources potentielles de contamination post-pasteurisation souvent négligées. De minuscules points d'accès au processus peuvent entraîner de graves problèmes de qualité et de stabilité à température ambiante. De plus, ces défauts peuvent abriter des organismes d'altération et pathogènes (QualiTru Sampling Systems, 2025).

### 3. Flore originelle ou indigène

Le lait prélevé dans de bonnes conditions d'hygiène, à partir d'un animal sain, contient une faible charge microbienne, généralement inférieure à  $10^3$  germes/mL. Cette flore initiale est essentiellement composée de germes saprophytes présents sur le pis et dans les canaux galactophores, incluant notamment des microcoques, des *Streptocoques lactiques* (*Lactococcus*) et des *Lactobacilles*. En revanche, lorsque le lait provient d'un animal malade, il peut contenir des micro-organismes pathogènes présentant un risque sanitaire. Ces germes incluent, entre autres, les agents responsables des mammites telles que les *Streptocoques pyogènes* (*Streptococcus*), les *Corynébactéries pyogènes* et les *Staphylocoques*. Tandis que les germes saprophytes du pis, bien qu'inoffensifs sur le plan sanitaire, peuvent se développer rapidement dans le lait, les micro-organismes pathogènes peuvent entraîner des maladies ou des intoxications graves. Heureusement, leur impact est en grande partie limité par les contrôles vétérinaires réguliers des animaux producteurs (Bouaziz, 2021).

### 4. Types de bactéries retrouvées dans le lait pasteurisé

Les différents germes présents dans le lait pasteurisé peuvent ainsi être les suivants :

#### 4.1. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (LAB) forment un groupe diversifié de microorganismes de l'ordre *Lactobacillales*. Leur caractéristique principale est leur métabolisme fermentaire, au cours duquel elles transforment les glucides en acide lactique, parfois en CO<sub>2</sub>, éthanol ou acide acétique (Rossi, 2023).

Les bactéries lactiques sont des bactéries Gram-positives appartenant à une douzaine de genres, parmi lesquels *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* figurent parmi les plus étudiés. Elles se présentent sous forme de coques ou de bacilles, sont immobiles, non sporulantes, et possèdent un métabolisme aérobie facultatif. Par ailleurs, elles sont dépourvues d'activité catalasique. Les bactéries lactiques partagent la capacité commune de fermenter les glucides en acide lactique. On distingue les souches

homofermentaires, qui produisent principalement de l'acide lactique, des souches hétérofermentaires, qui génèrent, en plus de l'acide lactique, d'autres composés tels que l'acétate et l'éthanol. Ces bactéries sont ubiquistes et colonisent une grande diversité de niches écologiques, notamment le lait et les produits laitiers, les végétaux, les viandes, les poissons, les muqueuses humaines et animales, ainsi que le tractus digestif. Dans le domaine agroalimentaire, les bactéries lactiques sont généralement considérées comme non pathogènes et bénéficient du statut GRAS (*Generally Recognized As Safe*). Toutefois, certaines espèces appartenant aux genres *Streptococcus* et *Enterococcus*, ainsi que d'autres bactéries lactiques, peuvent présenter un potentiel pathogène opportuniste (**Drouault, 2000**).

Bien qu'elles puissent devenir pathogènes en cas de prolifération excessive, les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel en industrie laitière. Elles sont notamment responsables de l'acidification du lait. Lorsque celui-ci est porté à une température comprise entre 30 et 40 °C, la production d'acide lactique induit la coagulation des caséines, conduisant à la formation de « lait caillé ». Cette propriété est exploitée dans la fabrication des laits fermentés et des fromages. Certaines souches de bactéries lactiques produisent également du dioxyde de carbone, qui contribue au développement de l'arôme des produits laitiers, ainsi que des enzymes protéolytiques intervenant dans le processus d'affinage fromager. Toutefois, leur prolifération doit rester contrôlée, car un développement excessif peut compromettre la stabilité du lait et entraîner une coagulation non souhaitée (**Fedala, 2022**).

#### 4.2. Bactéries coliformes

Leur dénomination est un indice de pollution car elles sont d'origine fécale. Parmi elles, on trouve *Escherichia coli* qui est responsable d'infection gastro-intestinale (**Fedala, 2022**).

Les bactéries coliformes, définies comme des bacilles gram-négatifs non sporulant capables de fermenter le lactose en produisant acide et gaz à 32–37 °C, sont largement reconnues comme des indicateurs de contamination post-pasteurisation et d'hygiène alimentaire (**Martin et al., 2016**).

#### 4.3. Bactéries psychrotrophes

Au cours de leur développement dans le lait et les produits laitiers, les bactéries *psychrotrophes* (principalement du genre *Pseudomonas*, mais aussi *Bacillus*) sont capables de produire des lipases et des protéases extracellulaires, généralement thermostables. Ces enzymes, en particulier les protéases, peuvent entraîner une déstabilisation des laits stérilisés à ultra-haute température (UHT) (**Beuvier, 2005**).

Les bactéries psychrotrophes, telles que *Pseudomonas spp*, et *Bacillus spp*, peuvent se développer à des températures de réfrigération. Elles sont responsables de la détérioration du lait pasteurisé pendant le stockage, en produisant des enzymes qui dégradent les protéines et les lipides (**Huck, et al., 2007**). Dans ce groupe de bactéries, on trouve :

#### 4.3.1. Bactéries protéolytiques

Elles se multiplient à basse température et produisent des protéases qui hydrolysent les caséines du lait ce qui engendre une saveur désagréable au lait (amertume). De plus, la protéolyse peut entraîner une déstabilisation des micelles de caséines (principalement au sein des laits UHT) générant une gélification de la texture avec une altération du goût (**Fedala, 2022**).

#### 4.3.2. Bactéries lipolytiques

Elles produisent les lipases qui hydrolysent les matières grasses du lait et lui confèrent alors un goût de rance voire putride lorsqu'elles sont en excès.

#### 4.3.3. Bactéries acidoprotéolytiques

Sont des micro-organismes capables de produire simultanément de l'acide et des enzymes protéolytiques, ce qui les rend particulièrement néfastes pour la qualité du lait pasteurisé. Leur action peut provoquer une coagulation prématurée (due à la caséine précipitée) et des altérations organoleptiques telles que l'élévation du pH du caillé, un goût amer ou une texture granuleuse (**Júnior et al., 2018**).

#### 4.4. Pathogènes potentiels

Bien que la pasteurisation élimine la plupart des pathogènes, des contaminations post-pasteurisation peuvent introduire des bactéries telles que *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus...* etc. Ces micro-organismes peuvent provoquer des maladies graves chez les consommateurs (**Singh et al., 2011**).

On citera quelque germe :

##### 4.4.1. *Yersinia enterocolitica*

Peuvent être responsables de troubles intestinaux variés. Ces germes sont assez fréquents dans le lait refroidis 2-4°C (**Fedala, 2002**).

#### 4.4.2. *Salmonella* et *Shigella*

D'après l'étude menée par **Ezugwu Roseline Ifeyinwa (2023)**, l'analyse de dix (10) échantillons de lait liquide pasteurisé avarié a révélé la présence de *Salmonella spp.* dans 70% des cas et de *Shigella spp.*, dans 50% des échantillons. Ces contaminations sont vraisemblablement liées à une manipulation inadéquate ou à une mauvaise conservation du lait après ouverture. L'altération du lait pasteurisé dépend de plusieurs facteurs, tels que la charge microbienne initiale, la température de stockage et l'exposition à la lumière. Lorsque le lait est conservé à des températures inappropriées, même réfrigérées, certaines bactéries peuvent proliférer. Ces micro-organismes produisent alors des enzymes dégradant les constituants du lait, entraînant ainsi sa décomposition et le rendant impropre à la consommation. L'étude met en évidence que la mauvaise conservation du lait favorise la croissance de micro-organismes pathogènes, notamment *Salmonella* et *Shigella spp.*, représentant un risque potentiel pour la santé publique. Il est donc essentiel de conserver le lait pasteurisé déjà ouvert à une température strictement comprise entre 0 °C et 4 °C pour limiter toute prolifération bactérienne.

#### 4.4.3. *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* est un bacille à Gram positif largement répandu dans l'environnement. Il est capable de provoquer une toxi-infection alimentaire. Cette infection, appelée listériose, touche principalement les personnes vulnérables ou immunodéprimées. Elle se manifeste initialement par des symptômes de type grippal, mais peut évoluer vers des formes plus graves comme des méningites, des méningo-encéphalites, ou encore des avortements chez la femme enceinte (**Milhaud, 1999**).

*Listeria monocytogenes* est une bactérie capable de survivre à des températures de réfrigération et de former des biofilms résistants aux procédures de nettoyage standard. Des études ont montré que des défaillances dans le processus de pasteurisation, telles qu'une température insuffisante ou des erreurs techniques, peuvent permettre la survie de cette bactérie dans le lait pasteurisé. De plus, une contamination post-pasteurisation due à des équipements ou des environnements insalubres peut également introduire *L. monocytogenes* dans le produit final (**Beyza et al., 2019**).

#### 4.5. Flore totale aérobie mésophile

Le dénombrement des aérobies mésophiles (AM) est le principal paramètre de qualité et d'hygiène du lait cru et pasteurisé. Des concentrations élevées de ces micro-organismes indiquent de mauvaises conditions de production, de stockage et de transformation du lait, ainsi

que la présence d'agents pathogènes. Les aérobies mésophiles (AM) sont des micro-organismes indicateurs souvent utilisés pour vérifier la qualité microbiologique du lait et des produits laitiers. Ils fournissent des informations précieuses sur les conditions sanitaires et hygiéniques de traite, de stockage et de transformation, et suggèrent également la présence de micro-organismes pathogènes (Freitas *et al.*, 2009).

Les aérobies mésophiles peuvent se développer entre 20 et 45 °C, avec une température optimale de croissance de 32°C, et comprennent la majorité des micro-organismes pathogènes et d'altération associés au lait et aux produits laitiers (Jay *et al.*, 2005).

#### 4.6. Qualité microbiologique du lait pasteurisé

La FAO/OMS (2004) a défini la pasteurisation comme « un traitement thermique microbicide visant à réduire le nombre de micro-organismes pathogènes dans le lait et les produits laitiers liquides, s'ils sont présents, à un niveau auquel ils ne constituent pas un danger significatif pour la santé. Les conditions de pasteurisation sont conçues pour détruire efficacement les organismes *Mycobacterium tuberculosis* et *Coxiella burnetii*. Initialement, les conditions de pasteurisation ont été conçues pour inactiver *M. tuberculosis*, mais par la suite, *C. burnetii* est apparu comme l'organisme le plus résistant à la chaleur présente dans le lait et, par conséquent, la pasteurisation a été repensée pour obtenir une réduction d'au moins log 5 de *C. burnetii* dans le lait entier. La pasteurisation HTST tue 99,999 % des agents pathogènes et est efficace pour réduire la population viable de *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (4-5 log) mais son efficacité dépend de la concentration viable totale.

L'analyse microbiologique du lait pasteurisé a indiqué la présence d'agents pathogènes tels que *Staphylococcus sp.*, *Salmonella sp.*, coliformes, *Salmonella*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *B. cereus* et *E. coli* et *S. aureus* (Sarkar, 2015).

Silva *et al.* (2010) ont noté une désactivation complète de la phosphatase et de *Salmonella sp.* Mais une présence de coliformes (des bactéries indicatrices de contamination hygiénique) dans 57,5 % (plus de la moitié des laits pasteurisés analysés étaient contaminés par des coliformes) des échantillons de lait pasteurisé en provenance du Brésil. L'incidence de pathogènes dans le lait pasteurisé et des épidémies d'origine alimentaire dues à une pasteurisation inadéquate ou à une contamination post-pasteurisation ont été signalées.

# *Chapitre III*

---

*Cymbopogon  
citratu*

## Chapitre III : *Cymbopogon citratus*

### 1. Introduction

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes. L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales. Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé (Tahri *et al.*, 2012).

Avec une superficie de 2 381 741 km<sup>2</sup>, l'Algérie constitue le plus vaste territoire du bassin méditerranéen. Sa position biogéographique stratégique lui confère une grande richesse écologique et floristique, favorisant ainsi une remarquable diversité en plantes médicinales. Ce patrimoine naturel est étroitement lié à un savoir ethno-médicinal ancestral, transmis de génération en génération. Cependant, cette connaissance précieuse, le fruit de plusieurs siècles d'expérience empirique, est aujourd'hui menacée par l'érosion culturelle et le manque de mécanismes de préservation. Il devient donc impératif d'entreprendre des efforts de sauvegarde afin de préserver et valoriser ce capital scientifique et culturel unique (Sahi, 2016).

### 2. Définition et importance d'une plante médicinale

Les plantes médicinales, également appelées plantes médicinales ou herbes médicinales, sont des espèces végétales utilisées en médecine traditionnelle pour prévenir ou traiter des maladies humaines ou animales (Kroner, 2024). Elles sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (Dutertre, 2011).

Selon Munkuamo Gonzaleze *et al.* (2024), les plantes médicinales jouent un rôle central dans les soins de santé pour de nombreuses populations, grâce à leur accessibilité, leur faible coût et la richesse des connaissances ethnobotaniques qui leur sont liées. Au-delà de leur usage thérapeutique, elles favorisent la conservation de la biodiversité et la transmission des savoirs traditionnels, renforçant leur importance scientifique, culturelle et économique, notamment dans les zones à accès limité aux soins conventionnels.

### 3. Famille des Poaceae

Les Poaceae, également connues sous le nom de Graminées, constituent l'une des plus vastes familles botaniques, comprenant environ 12 000 espèces réparties en 771 genres appartenant à l'ordre des *Poales*. Représentant la cinquième plus grande famille de plantes à fleurs, elles incluent une grande diversité de formes telles que les herbes, les céréales, les bambous et d'autres plantes herbacées. Ces végétaux présentent une remarquable capacité d'adaptation, colonisant des milieux très variés allant des déserts arides aux forêts tropicales humides, ainsi que les zones montagneuses froides. Ce sont généralement des plantes annuelles ou vivaces, caractérisées par une tige cylindrique et creuse, un système racinaire étendu, ainsi que des feuilles étroites, allongées et le plus souvent linéaires. Le fruit typique de cette famille est le *caryopse*, dont la graine, riche en amidon, constitue une source alimentaire majeure pour l'homme et les animaux (Crameri Reto, 2017).



**Figure 3:** Aspect morphologique de Poaceae en croissance naturelle (Fuller, 2024)

### 4. Genre Cymbopogon

Le genre *Cymbopogon*, appartenant à la famille des Poaceae, possède plus de 100 espèces dans les pays tropicaux (Likibi *et al.*, 2019) et subtropicaux d'Asie, et est cultivé en Afrique, en Amérique et autres pays. Le terme *Cymbopogon* est d'origine grecque, dont « *kymbe* » en raison de ses spathéoles en forme de bateau, et « *pogon* » en référence à ses nombreuses inflorescences arquées qui ressemblent la barbe (Madi *et al.*, 2022).

Sur le plan médicinal, ces plantes sont traditionnellement utilisées en médecine populaire pour le traitement de divers troubles, notamment gastro-intestinaux et nerveux. Cette utilisation ancestrale a par ailleurs été validée par plusieurs études biologiques qui ont mis en évidence leurs propriétés thérapeutiques (Madi *et al.*, 2022).

## 5. Espèce *Cymbopogon citratus*

*Cymbopogon citratus* ou lemongrass, est une plante herbacée tropicale de la famille des Poacées (graminées), sous-famille des *Panicoideae*, tribu des *Andropogoneae*, cultivée pour ses tiges et feuilles aux qualités aromatiques (à goût de citron). Elle contient du citronellool. Elle est connue sous les noms : Citronnelle, herbe citron, verveine des Indes, Fipagrass en Bandjoun (Cameroun) (Hellali, 2017).

### 5.1. Historique

*Cymbopogon citratus* (DC. Stapf) est l'une des espèces les plus populaires du genre *Cymbopogon*. Sa culture est mentionnée pour la première fois dans des écrits philippins datant du XVIIe siècle. L'intérêt scientifique pour cette plante débute en 1905 grâce au chercheur sri-lankais J.F. Jovit, suivie de son introduction en Haïti et dans les régions tropicales des États-Unis en 1917. La culture à des fins commerciales démarre en 1947 en Floride et en Haïti. En Inde, la production à grande échelle avait déjà commencé un siècle plus tôt, faisant de ce pays le premier exportateur mondial de produits à base de citronnelle. *C. citratus* est connu sous divers noms communs à l'échelle internationale, tels que « West Indian lemon grass » (anglais), « hierba limón » (espagnol), « citronnelle » (français) ou encore « xiang mao » (chinois), et porte plus de 28 noms vernaculaires selon les régions (Kuete, 2017).

### 5.2. Origine

*Cymbopogon citratus*, originaire du sud de l'Inde et du Sri Lanka, s'est aujourd'hui naturalisé dans de nombreuses régions du globe, en particulier dans les zones tropicales, subtropicales et de savane. En Afrique de l'Ouest, cette plante est cultivée depuis longtemps pour ses nombreuses vertus médicinales reconnues dans les pratiques traditionnelles (Machraoui *et al.*, 2018).

### 5.3. Systématique

D'après (Randriamanantena, 2024), la classification botanique de *Cymbopogon citratus* est la suivante :

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Liliopsida*

Ordre : *Poales*

Famille : *Poaceae*

Genre : *Cymbopogon*

Espèce : *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

### 5.4. Description botanique

*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf est une plante herbacée aromatique vivace, non ramifiée, qui pousse en touffes denses et dégage une forte odeur citronnée caractéristique. Reconnue comme plante médicinale, elle est largement utilisée en phytothérapie pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Sa hauteur peut atteindre jusqu'à 2 mètres et sa largeur environ 1,2 mètre. La plante est constituée de feuilles isolées, vert clair, longuement effilées, plates, linéaires et souvent pubescentes. Ces feuilles, majoritairement dépourvues de tiges, émergent directement du sol et mesurent généralement plus d'un mètre de long pour une largeur variant de 5 à 15 mm. Elles sont réunies en gaines à la base, avec des bords hyalins finement denticulés dirigés vers le sommet. Leur face supérieure est glabre et blanchâtre, avec des ligules mesurant de 4 à 5 mm. La partie souterraine de la plante est constituée d'un bulbe ou d'un rhizome court, qui assure la reproduction végétative. La hampe florale porte de nombreuses ramifications se terminant par des épis agglomérés de couleur verdâtre (Bayala, 2014 ; Machraoui *et al.*, 2018).



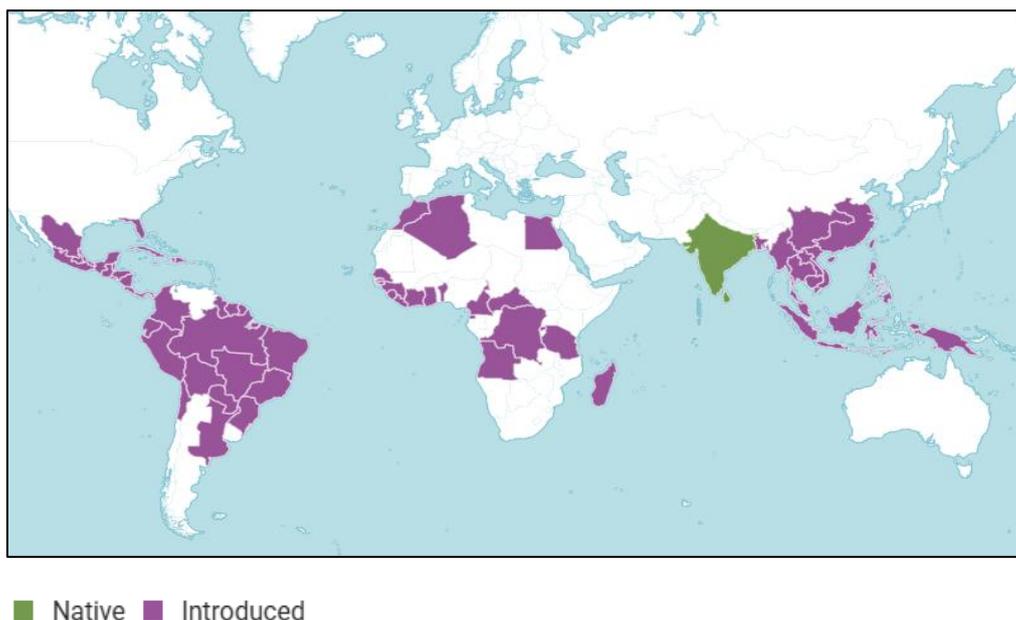
**Figure 4:** Aspect morphologique de *Cymbopogon citratus* (Citronnelle) en croissance naturelle (Cortes-Torres et al., 2023).

### 5.5. Distribution

La distribution géographique de la citronnelle est vaste, couvrant principalement les régions tropicales et subtropicales du monde (Tableau. 3 ; Figure. 5) (Cortes-Torres et al., 2023)

**Tableau 3:** Distribution géographique de *Cymbopogon citratus* dans le monde (Kuete, 2017).

Continent	Pays
Asie	Bangladesh, Chine, Inde, Indonésie, Japon, Malaisie, Corée du Nord, Pakistan, Philippines, Sri Lanka, Thaïlande et Vietnam.
Afrique	Algérie, Angola, Bénin, Burkina Faso, Cameroun, Côte d'Ivoire, République démocratique du Congo, Égypte, Éthiopie, Ghana, Kenya, Mali, Nigéria, Tanzanie, Togo, Zambie et Zimbabwe.
Europe	Italie, Royaume-Uni (UK)
Amérique du Nord	Canada, Costa Rica, Cuba, Mexique, Panama, Sainte-Lucie, Trinité-et-Tobago et États-Unis d'Amérique.
Amérique du Sud	Argentine, Bolivie, Brésil, Colombie, Pérou et Venezuela
Australie et Océanie	Australie et Papouasie-Nouvelle-Guinée



**Figure 5:** Répartition mondiale de *Cymbopogon citratus* (Stapf, 1906).

### 5.6. Utilisation traditionnelle de *Cymbopogon citratus*

*Cymbopogon citratus*, plante médicinale traditionnelle, est largement utilisée à travers le monde pour ses multiples propriétés thérapeutiques. Elle est employée dans le traitement des troubles nerveux, digestifs, respiratoires, cardiovasculaires, infectieux et inflammatoires. Principalement consommée sous forme de tisane ou d'infusion, elle est réputée pour ses effets carminatifs, insectifuges, spasmolytiques, analgésiques et antipyrétiques. Son utilisation médicinale varie selon les régions : en Inde et en Chine pour les troubles digestifs et l'anxiété, en Amérique latine pour la toux et les douleurs, en Afrique pour la fièvre et les affections respiratoires, et en Asie pour ses vertus antiseptiques, antirhumatismales et diurétiques. Elle est également utilisée en application externe pour la cicatrisation. Cette large utilisation témoigne de son importance dans les médecines traditionnelles et populaires à l'échelle mondiale (Tsiou *et al.*, 2020).

### 5.7. Composition chimique de *Cymbopogon citratus*

La composition chimique de l'extrait aqueux de feuilles de *Cymbopogon citratus* a été étudiée. Les teneurs en humidité, protéines brutes, fibres brutes et glucides étaient respectivement de 12,36 %, 15,68 %, 27,72 % et 29,58 %. Le phosphore s'est avéré être le plus abondant (15,58 mg/100 g) suivi du potassium (8,60 mg/100 g). Le zinc, un microélément important, était présent en quantité considérable (0,93 mg/100 g). Le plomb et le chrome, qui sont toxiques à de faibles concentrations, n'ont pas été détectés. Les teneurs en phytate et en

oxalate étaient respectivement de  $0,48 \pm 0,02$  et  $0,48 \pm 0,05$  mg/g. Des terpénoïdes, des glycosides cardiaques et du phénol étaient également présents (Omotade, 2009).

### 5.8. Activité antimicrobienne de *Cymbopogon citratus*

Les extraits de *Cymbopogon citratus* présentent des propriétés antimicrobiennes reconnues. Toutefois, leur efficacité varie selon la provenance de la plante, la partie utilisée, le mode d'extraction et les protocoles employés. De plus, certaines bactéries Gram-négatives, comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, montrent une résistance accrue en raison de leur membrane externe, réduisant ainsi l'efficacité des extraits (Kuefe, 2017).

Selon Omotade I. Oloyede (2009), les extraits aqueux et éthanoliques de *Cymbopogon citratus* ont démontré des propriétés antimicrobiennes, avec une efficacité variable selon les souches bactériennes. L'extrait aqueux s'est révélé actif contre *Salmonella typhi*. En raison de leur profil nutritionnel et antinutritionnel équilibré, les feuilles de cette plante sont jugées sûres et potentiellement utiles en médecine traditionnelle et comme complément alimentaire.

### 5.9. Toxicité

Bien que certaines études animales aient suggéré une possible toxicité des extraits de feuilles de *Cymbopogon citratus*, les résultats restent contradictoires et difficiles à extrapoler à l'homme, en raison de nombreux facteurs influents (espèce, mode de préparation, sol, état de santé, etc.). Toutefois, *C. citratus* est largement consommé sous forme de tisane sans caféine et est reconnu pour sa richesse en antioxydants, notamment les flavonoïdes. Les composés potentiellement toxiques identifiés (tanins, coumarines, saponines, anthraquinones) présentent une faible biodisponibilité chez l'humain, limitant ainsi leur impact. En l'absence de métaux lourds et de composés hautement nocifs, *C. citratus* est généralement considéré comme sûr pour la consommation humaine (Ekpenyong et al., 2014).

Leite et al. (1986) ont étudié les effets toxiques, hypnotiques et anxiolytiques de *C. citratus* chez cinquante volontaires sains ayant ingéré une infusion de feuilles. En comparant ces effets à ceux observés chez des participants sous placebo, en double aveugle, les auteurs n'ont observé aucun effet neurotoxique.

*Partie*

---

*Expérimentale*

# *Chapitre IV*

---

## *Matériel et Méthodes*

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet de la supplémentation des molécules bioactives d'origine végétale au lait pasteurisé réfrigéré. Cette étude est réalisée pendant 4 mois, de 23 Novembre 2024 à 27 Mars 2025. Elle est menée au niveau des laboratoires pédagogiques du département des Sciences de la Nature et de la Vie au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila.

Pour effectuer ce travail, différentes étapes ont été mises en œuvre pour atteindre les objectifs :

- La collecte de matière végétale ;
- La préparation de l'extrait aqueux de l'espèce choisie ;
- Le suivi de la cinétique de croissance microbienne ;
- Le calcul des paramètres cinétiques de croissance.

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel de laboratoire

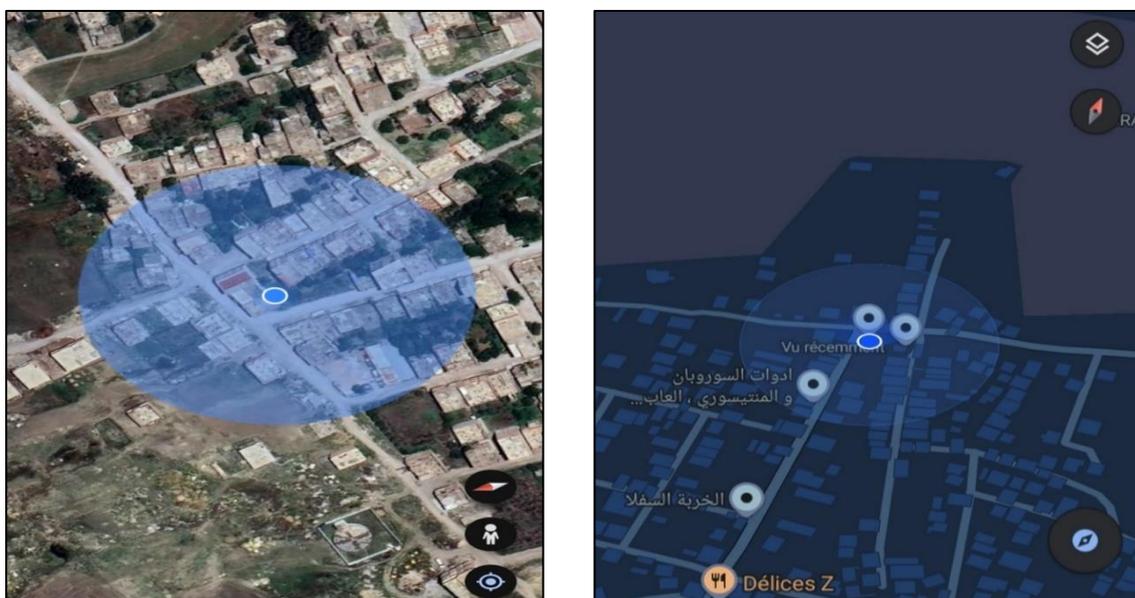
Le matériel, les produits et les réactifs utilisés dans la réalisation de ce travail sont présentés dans les tableaux dans l'**annexe 1 et 2**.

#### 1.2. Matériel végétale

Les feuilles de *Cymbopogon citratus* (**Figure 6**) ont été collectées dans la région d'EL KHERBA Inférieur, la Wilaya de Mila. Elle est située à une élévation de 572,68m, au coordonnées géographique de 36°26'38''N de latitude et de 6°14'36''E de longitude (**Figure 7**). Le matériel végétal est récolté durant le mois de Novembre 2024.



**Figure 6:** Photographie personnelle de l'espèce *Cymbopogon citratus* (23/11/2024).



**Figure 7:** Situation géographique de la région de la récolte des feuilles de l'espèce *Cymbopogon citratus*.

### 1.3. Echantillon du lait

L'échantillon du lait utilisé dans cette étude est prélevé à partir d'un sachet de lait de vache pasteurisé de la marque GROUZ (**Figure 8**), produit par une usine localisée à Oued El Athmania, la wilaya de Mila. Le lait est acquis le matin du 16 mars 2025 auprès d'un épiciériste situé au centre-ville, dont les dates de fabrication et de péremption, la propreté des sacs et leurs conditions de stockage sont vérifiées, garantissant ainsi une traçabilité précise de la provenance du produit utilisé dans les analyses microbiologiques. L'échantillon est acheminé au laboratoire sous froid, dans une glacière isothermique pour ne pas influencer la flore microbienne existante.



**Figure 8:** Sachet du lait de vache pasteurisé partiellement écrémé (1 litre)

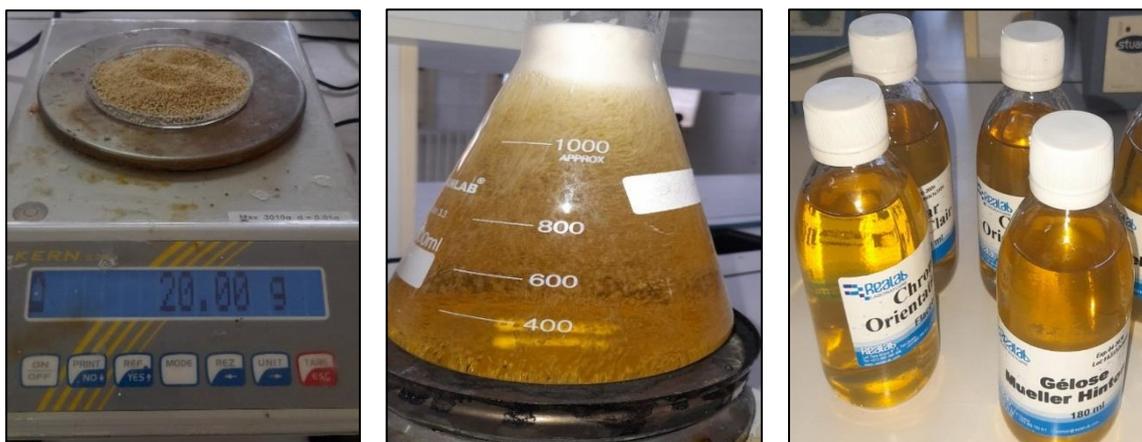
## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation de la gélose nutritive

La gélose nutritive est un milieu de culture non sélectif largement utilisé en microbiologie pour la culture de diverses bactéries, la GN apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une large gamme de micro-organismes, elle fournit les nutriments de base nécessaires à la croissance bactérienne (**Annexe 03**) Elle est souvent utilisée pour l'isolement, la culture et le dénombrement des micro-organismes dans divers échantillons, notamment alimentaires, cliniques ou environnementaux.

Dans un erlenmeyer, 28g de la GN poudre est dissout dans un litre de l'eau distillée. Le mélange est par la suite chauffé à l'aide d'une plaque chauffante agitatrice jusqu'à l'ébullition. Après 15 min de l'ébullition, le milieu est versé dans des flacons en verre, et est stérilisé à l'autoclave pendant 15 minutes à une température de 121 °C. Après la stérilisation, les flacons

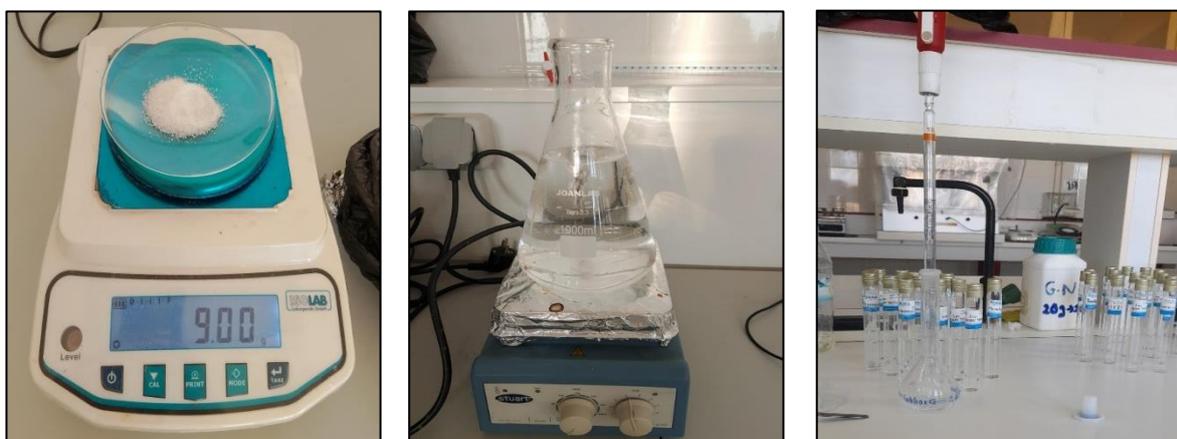
sont laissés à refroidir à température ambiante, puis conservés dans des conditions appropriées en attendant leur utilisation ultérieure (**Figure 9**).



**Figure 9:** Etapes de la préparation de la GN.

## 2.2. Préparation de l'eau physiologique

L'eau physiologique est une solution aqueuse isotonique composée de chlorure de sodium (NaCl) à une concentration de 0,9 % (m/v). Elle présente une osmolarité proche de celle des fluides biologiques, ce qui lui permet de respecter l'intégrité des cellules vivantes. En microbiologie, elle est couramment utilisée comme diluons notamment pour la manipulation aseptique des microorganismes, afin d'éviter tout choc osmotique. Pour la préparation de l'eau physiologique, 9g de NaCl est dissout dans un litre de l'eau distillée, après l'agitation et l'homogénéisation du mélange, 9mL de l'eau physiologique est mis dans chaque tube à vis (**Figure 10**). Les tubes à vis sont ensuite stérilisés à l'autoclave pendant 15 minutes à une température de 121°C, et conservés dans des conditions appropriées jusqu'à leur utilisation.



**Figure 10:** Préparation de l'eau physiologique pour l'étude microbiologique.

## 2.3. Préparation du matériel végétal

### 2.3.1. Collecte et séchage de la plante

Les feuilles de *C. citratus* sont soigneusement nettoyées afin d'éliminer toute trace de poussière, puis séchées à l'air libre pendant 20 jours, à l'ombre, sur un papier propre, et à une température ambiante. Ce séchage est réalisé en évitant toute exposition à l'humidité et sans recours à un traitement thermique, dans le but de préserver les composés actifs présents dans les feuilles.

### 2.3.2. Broyage de la plante

Les feuilles séchées de *C. citratus* sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir des fractions homogènes. Le matériel obtenu est ensuite stocké dans un sac en papier propre, hermétiquement fermé, et conservé à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

## 2.4. Préparation de l'extrait aqueux

Pour la préparation de l'extrait aqueux, une masse de 10g de la poudre végétale est pesée et mise dans un erlenmeyers, et puis un volume de 100mL de l'eau distillée est y ajouté. Ensuite, l'erlenmeyer est placé sur un agitateur à mouvement va-et-vient à une vitesse de 50 Hz pendant 24h afin d'assurer une agitation continue du mélange, c'est ce qu'on appelle macération sous agitation. L'extrait obtenu est filtré à l'aide de papier filtre. Le filtrat est réparti dans des boîtes de Pétri et laissé sécher à température entre 34° et 37°C pendant deux semaines. Une fois l'extrait est séché, il est récupéré à l'aide d'une spatule, et conservé dans de petits flacons en verre ambré, hermétiquement fermés, et placés au réfrigérateur (4°C) jusqu'à leur utilisation (Figure 11).

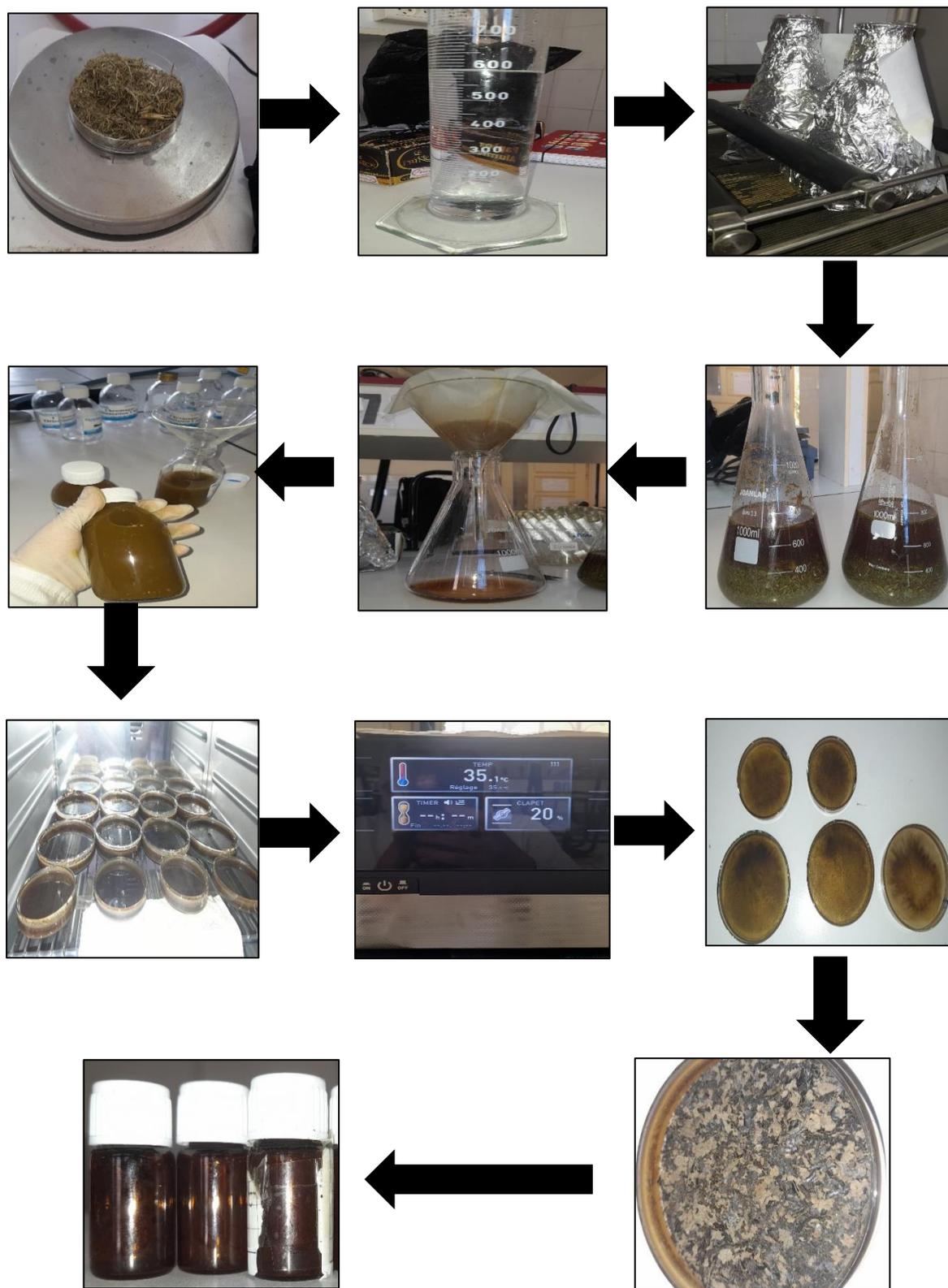
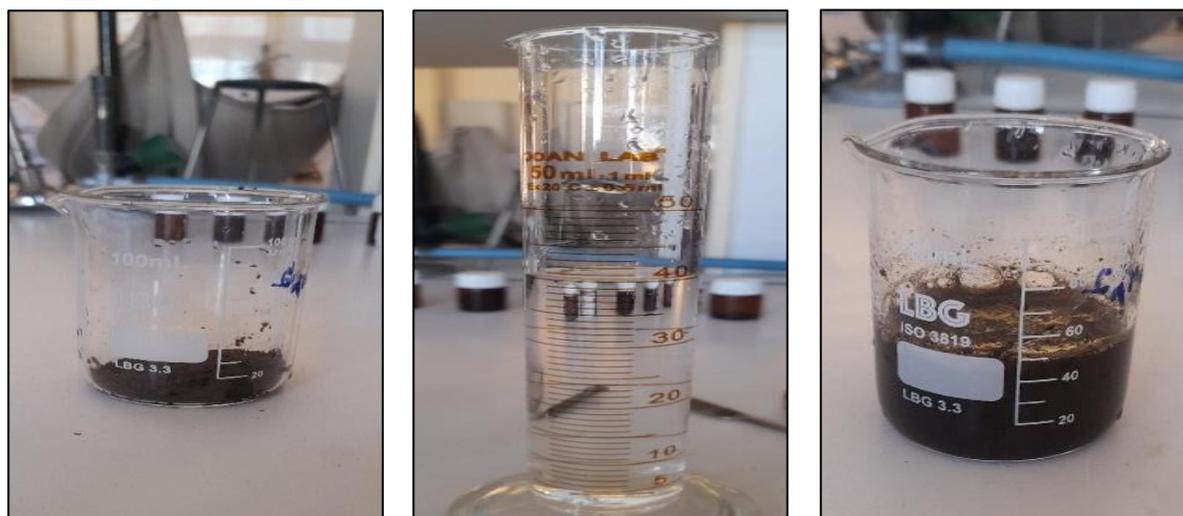


Figure 11: Etapes d'extraction aqueuse de l'espèce *Cymbopogon citratus*.

## 2.5. Etude microbiologique du lait pasteurisé

### 2.5.1 Préparation de la solution de l'extrait aqueux

Pour la préparation de la solution de l'extrait aqueux, 4 grammes de l'extrait sec sont pesés à l'aide d'une balance, puis introduits dans un bécher contenant 40mL de l'eau distillée (**Figure 12**). Le mélange est ensuite agité de manière homogène à l'aide d'un agitateur magnétique afin d'assurer une bonne dissolution des composés actifs dans le solvant.



**Figure 12:** Préparation de la solution de l'extrait aqueux de *C. citratus*.

### 2.5.2. Préparation des échantillons du lait supplémenté à l'extrait aqueux

Les expérimentations sur le lait de vache pasteurisé sont débutées le 16 Mars 2025 dans le but d'étudier la cinétique de croissance de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) présente dans le lait, suite à l'ajout de l'extrait aqueux de l'espèce étudiée.

En effet, 8 flacons en verre de 180mL sont préparés, dont 4 sont réservés à l'analyse microbiologique et l'autres à l'analyse physicochimique. À l'aide d'une pipette graduée stérile, un volume de lait est prélevé et réparti dans ces flacons, en tenant compte les volumes de l'extrait à ajouter, d'une manière à obtenir un volume final de 100mL dans chaque flacon (lait + extrait aqueux). Trois concentrations de l'extrait, 1%, 0.5% et 0.25%, sont préparées et ajoutées aux échantillons du lait dans le premier jour de l'étude, dont 2 flacons sont supplémentés par 10ml de l'extrait, 2 flacons par 5ml de l'extrait et 2 autres flacons par 2.5ml de l'extrait, cependant 2 autres flacons sont utilisés comme témoin négatif (sans supplémentation). Le col de chaque flacon est soigneusement passé à travers la flamme bleue

d'un bec Bunsen avant et après le transfert du lait et l'extrait, afin d'assurer une stérilisation adéquate et de minimiser tout risque de contamination au cours de l'expérimentation.

Après la préparation, tous les flacons sont conservés au réfrigérateur à une température de +4°C pendant la période d'étude (10 jours) pour le suivi de l'évolution des paramètres microbiologiques et physico-chimiques (**Figure 13**).



**Figure 13:** Flacons de différents échantillons du lait.

#### 2.5.4. Préparation des dilutions décimales

Dans des conditions rigoureusement aseptiques, un volume de 1mL de lait issu de chaque échantillon est prélevé à l'aide d'une micropipette stérile, et transféré dans un tube à vis contenant 9mL de l'eau physiologique stérile. L'ensemble est ensuite homogénéisé à l'aide d'un vortex afin d'assurer une distribution uniforme des microorganismes, constituant ainsi la première dilution décimale, soit  $10^{-1}$ . À l'aide d'un embout stérile, 1mL de cette première dilution est ensuite transféré dans un second tube contenant également 9mL du diluant stérile, puis agité de la même manière pour obtenir la dilution  $10^{-2}$ . Cette procédure est répétée successivement jusqu'à la dilution  $10^{-5}$ , en veillant à changer d'embout à chaque transfert afin de prévenir toute contamination croisée (**Figure 14**).



**Figure 14:** Réalisation d'une dilution décimale à l'aide d'une micropipette en conditions aseptiques.

## 2.5.6. Évaluation de la cinétique de croissance de la Flore Totales Aérobies Mésophiles

### 2.5.6.1. Culture bactérienne

L'évolution de la croissance microbienne a été surveillée à des intervalles réguliers aux jours 0, 2, 4, 6 et 8. Pour chaque point de prélèvement, les quatre échantillons de lait ont été soumis à une série de dilutions décimales (de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ). Un volume de 0,1 mL de chaque dilution est ensemencé en profondeur dans des boîtes de Pétri stériles (**Figure 15**), le mélange (lait + GN) est homogénéisé par des mouvements circulaires en forme de huit. Les boîtes sont ensuite incubées à 30 °C pendant 48 heures. Toutes les manipulations sont réalisées en duplicata afin d'assurer la fiabilité des résultats.



**Figure 15:** Ensemencement en profondeur.

### 2.5.6.2. Dénombrement des colonies

Après 48 heures d'incubation, les colonies bactériennes sont comptées à l'aide d'un compteur de colonies, seules les boîtes présentant entre 30 et 300 colonies sont retenues pour le dénombrement, conformément aux recommandations de la norme ISO 7218. Chaque colonie visible a été considérée comme issue d'un seul micro-organisme (Unité Formant Colonie : UFC) (**Figure 16**). Le comptage est effectué dans un environnement stérile pour éviter toute contamination secondaire.



**Figure 16:** Lecture et dénombrement des colonies bactériennes à l'aide d'un compteur de colonies (photo personnelle).

### 2.5.7. Détermination quantitative des unités formant colonie par millilitre

Le dénombrement des colonies est effectué pour chaque dilution en vue d'estimer la concentration microbienne exprimée en UFC/ml, selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(n1 + 0.1 \times n2) \times V} \times d$$

- N = nombre de colonies exprimé en UFC/mL.
- $\sum C$  = nombre total de colonies comptées dans les deux boîtes retenues (valeurs entre 15 et 300 colonies par boîte).
- n1= nombre de boîtes comptées à la dilution retenue.
- n2= nombre de boîtes comptées à la dilution immédiatement supérieure.
- V= volume ensemencé dans chaque boîte (0.1mL).

- $d$  = facteur de dilution de la première dilution retenue.

### 2.5.8. Analyse biomathématique

Cette analyse est effectuée par le calcul de la charge microbienne initiale ( $X_{\text{initiale}}$ ), le taux de croissance maximal ( $\mu_{\text{max}}$ ), la longueur de la phase de latence ( $\lambda$ ) et la charge cellulaire maximale atteinte ( $X_{\text{max}}$ ) en utilisant le modèle de **Baranyi et Roberts**. Les étapes sont présentées dans l'**annexe 05**.

## 2.6. Analyse physicochimique

### 2.6.1. Mesure du pH

La mesure du pH constitue une autre approche complémentaire pour évaluer l'état de fraîcheur et la stabilité microbiologique du lait. Le pH du lait frais est généralement compris entre 6,6 et 6,8, indiquant une légère acidité naturelle due à la présence de sels et de protéines (**Tapernoux, 2020**). Toute variation significative de cette valeur peut révéler une activité microbienne accrue ou une altération du produit.

Le suivi de l'évolution du pH a été réalisé à un intervalle régulier de 48 heures tout au long de la période d'étude. Pour cette analyse, un pH-mètre préalablement calibré à l'aide de solutions tampons standards (eau distillée) a été utilisé. Un volume de 10mL de lait est prélevé et maintenu à température ambiante avant d'y plonger l'électrode du pH-mètre. La lecture est effectuée une fois la valeur stabilisée (**Figure 17**) (**Tapernoux, 2020**). Cette méthode, simple et rapide, permet une évaluation précise de l'évolution du pH, indicateur de l'activité microbienne et de la stabilité du produit. L'analyse a été appliquée de manière systématique aux quatre échantillons de l'étude, afin de permettre une comparaison rigoureuse de l'effet conservateur potentiel de l'extrait naturel.

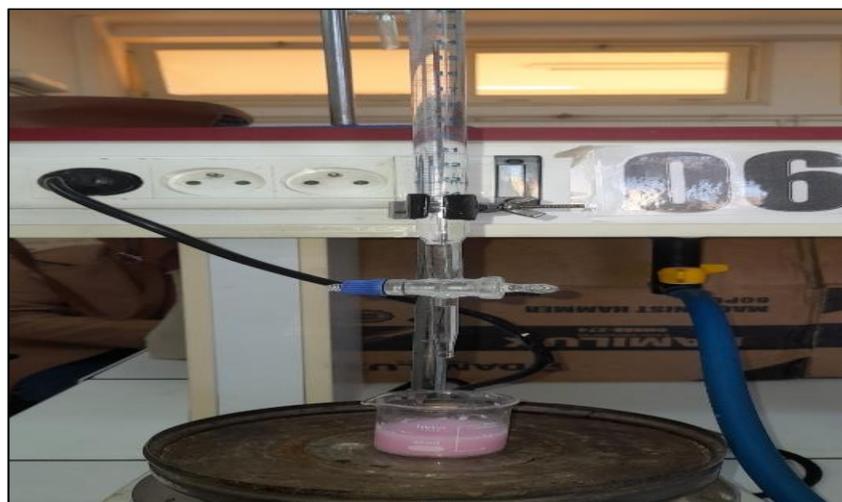


**Figure 17:** Mesure de pH d'un échantillon du lait.

### 2.6.2. Mesure de l'acidité

L'acidité du lait constitue un paramètre essentiel pour l'évaluation de sa qualité hygiénique et de son aptitude à la conservation. Elle est généralement déterminée par titration acido-basique, une méthode basée sur la neutralisation des acides présents dans l'échantillon à l'aide d'une base forte de concentration connue, en l'occurrence une solution de NaOH 0,1N. L'indicateur coloré utilisé pour repérer le point d'équivalence est la phénolphtaléine, préparée à une concentration de 1% dans de l'éthanol à 95%. Cette méthode permet de déterminer la teneur totale en acide lactique, un indicateur clé de l'acidité du lait et de son état microbiologique (Vignola, 2002).

La détermination de l'acidité titrable des échantillons de lait (échantillon témoin et échantillons traités) est réalisée par titration acido-basique. Pour chaque analyse, un volume de 10mL de lait a été prélevé à l'aide d'une éprouvette graduée et transféré dans un bécher. Ce dernier est ensuite placé sur un agitateur magnétique, sous une burette remplie d'une solution de soude (NaOH) à 0,1N. À l'échantillon, 100 $\mu$ L de phénolphtaléine ont été ajoutés en tant qu'indicateur coloré. La titration a été effectuée goutte à goutte, sous agitation constante, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle persistante, indiquant le point d'équivalence (Figure 18). Le volume de NaOH utilisé est ensuite relevé avec précision afin de calculer la teneur en acide lactique du lait.



**Figure 18:** Réalisation de la titration acido-base (photo personnelle).

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

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

# *Chapitre V*

---

## *Résultats et discussion*

## Chapitre V : Résultats et discussion

### 1. Résultats

#### 1.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est un paramètre fondamental permettant d'évaluer l'efficacité du procédé d'extraction d'une plante. Il correspond au pourcentage de la matière active extraite par rapport à la masse initiale de la matière végétale utilisée. Ce calcul est essentiel pour estimer la quantité d'extrait obtenue. Dans ce travail, le rendement de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* a été déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait sec obtenu (g)}}{\text{Masse de la matière végétale initiale (g)}} \times 100$$

- Masse de l'extrait sec obtenu = la quantité d'extrait (après évaporation de l'eau ou du solvant).

- Masse de matière végétale initiale = la masse de *Cymbopogon citratus* utilisée au départ.

**Tableau 4** : Rendement de l'extrait aqueux des feuilles de *Cymbopogon citratus*.

Méthode d'extraction	Masse de la matière végétale initiale (g)	Masse de l'extrait sec obtenu (g)	Rendement en (%)
Macération aqueuse	10g	1,0697g	10,697%

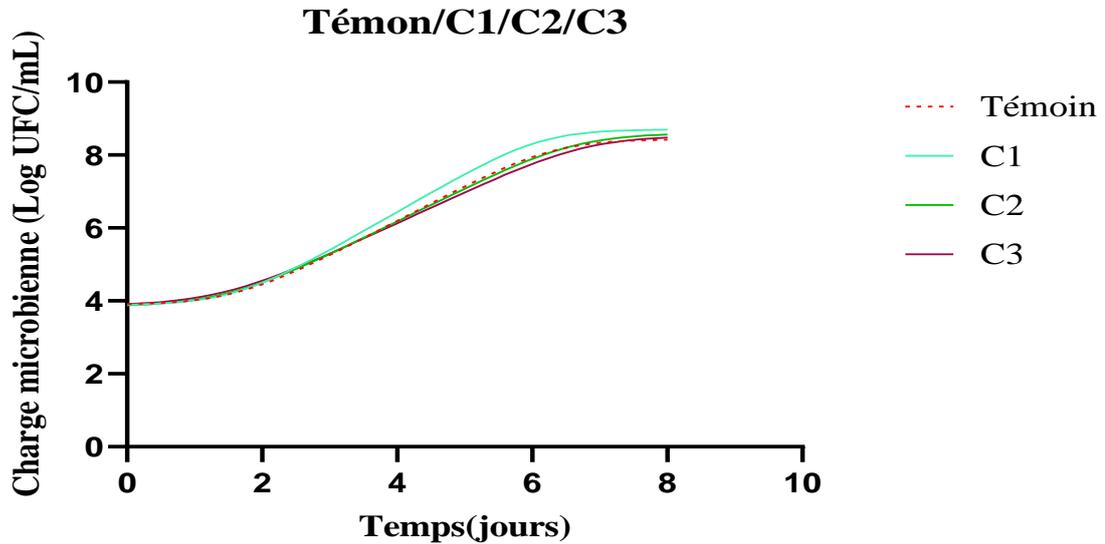
#### 1.2. Suivre de la croissance microbienne

Les résultats de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sont présentés dans l'**annexe 04**.

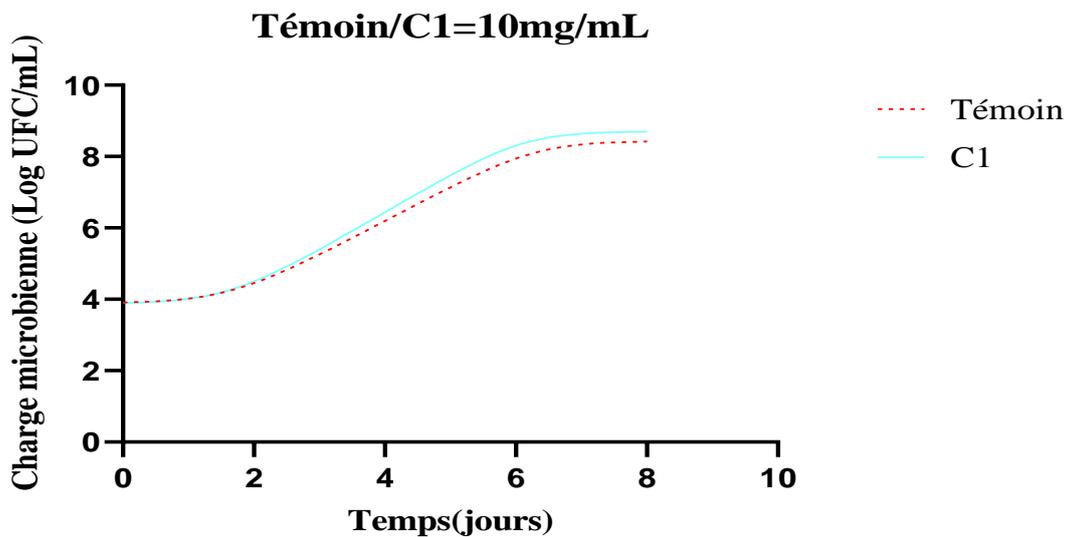
L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* au cours de huit jours, sont présentées dans la **figure 19**.

La modélisation par le modèle Baranyi et Roberts des résultats de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile dans les différents échantillons du lait réfrigéré supplémenté en extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* (et le témoin sans l'addition de l'extrait) a abouti aux résultats présentés dans les **figures 20, 21, 22** et les **annexes 06, 07, 08, 09**.

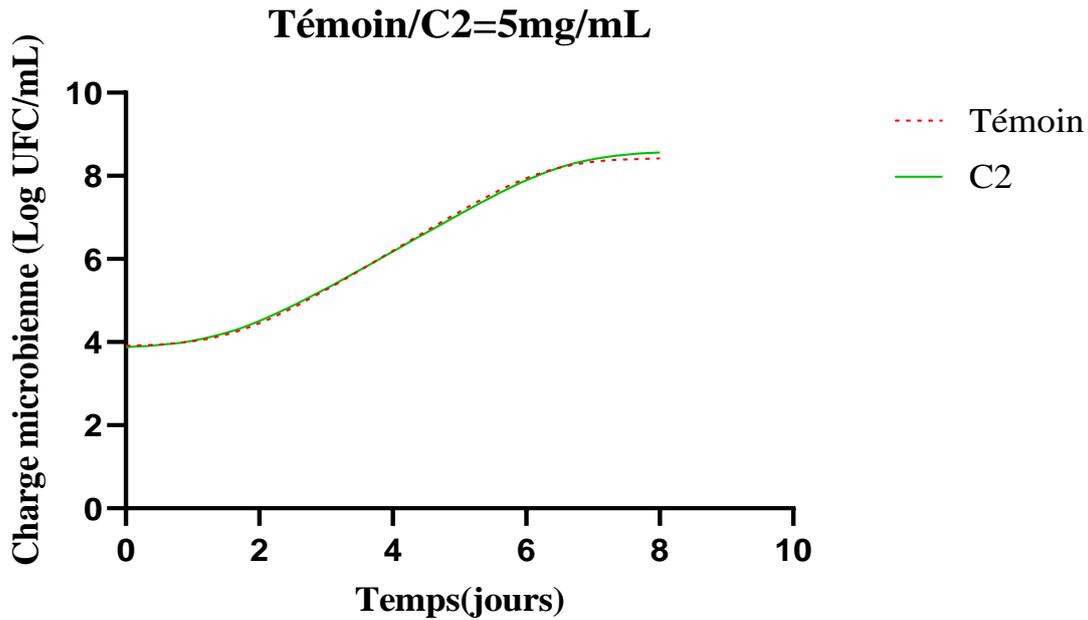
Pour générer les courbes, nous avons utilisé le logiciel GraphPad Prism 9.5.1. Les données de prédiction provenant de Combase ont été exportées et importées dans ce logiciel pour leur analyse et leur représentation graphique. Cette approche nous a permis d'obtenir des courbes de croissance bactérienne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



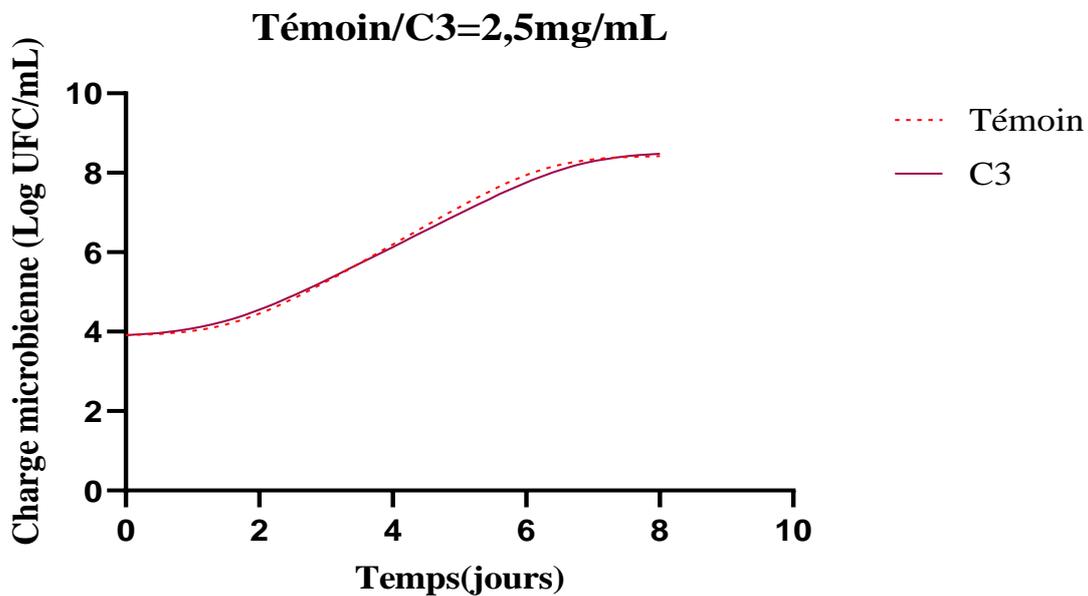
**Figure 19:** Courbes de croissance microbienne de la FTAM du lait réfrigéré (4°C) non supplémenté et supplémenté de différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* pendant 8 jours.



**Figure 20:** Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à 10mg/ml par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts).



**Figure 21:** Evolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à 5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts).



**Figure 22:** Évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à 2,5mg/mL par rapport au témoin (Modèle Baranyi et Roberts).

### 1.2.1. Analyse biomathématique par détermination des paramètres cinétiques de la croissance microbienne

Les valeurs prédites des paramètres de croissance microbienne, la charge microbienne initiale ( $X_{\text{initiale}}$ ), le taux de croissance maximal ( $\mu_{\text{max}}$ ), la longueur de la phase de latence ( $\lambda$ ) et la charge cellulaire maximale atteinte ( $X_{\text{max}}$ ), ont été obtenues à l'aide du modèle de Baranyi et Roberts (**tableau 05** et **figure 23**) (**Baranyi et Roberts, 1995**).

**Tableau 5** : Valeurs des paramètres de croissance microbienne de la flore totale aérobie mésophile du lait obtenus par le modèle Baranyi et Roberts.

Concentration	$X_{\text{Initiale}}$	$X_{\text{max}}$	$\mu_{\text{max}}$	( $\lambda$ )
<b>Témoin</b>	3,77	8,431	0,968	1,641
<b>C1=10mg/ml</b>	3,65	8,703	1,02	1,624
<b>C2=5mg/ml</b>	3,7	8,59	0,918	1,501
<b>C3=2,5mg/ml</b>	3,89	8,521	0,756	1,432

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

#### 1.2.1.1. Charge microbienne initiale

Les valeurs de  $X_{\text{initiale}}$  obtenues varient légèrement entre les différents traitements. Le témoin présente une valeur de 3,77 Log UFC/mL, tandis que les échantillons traités avec l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* montrent des valeurs proches : 3,65 Log UFC/mL pour C1 (10 mg/mL), 3,7 Log UFC/mL pour C2 (5 mg/mL), et 3,89 Log UFC/mL pour C3 (2,5 mg/mL). Ces valeurs relativement homogènes indiquent que l'ajout de l'extrait n'a pas significativement modifié la charge bactérienne initiale au moment de l'inoculation, assurant ainsi que les différences observées ultérieurement résultent de l'effet de l'extrait sur la croissance bactérienne au cours de l'incubation.

#### 1.2.1.2 Taux de croissance

La vitesse spécifique de croissance bactérienne ( $\mu_{\text{max}}$ ) révèle l'effet direct de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* sur la prolifération microbienne dans le lait pasteurisé. Pour l'échantillon témoin, la valeur de  $\mu_{\text{max}}$  est de 0,968 h<sup>-1</sup>, ce qui représente la croissance

naturelle sans présence d'extrait. Après l'ajout de l'extrait, une augmentation significative de  $\mu$  max est observée :  $1,9 \text{ h}^{-1}$  pour la concentration C1 (probablement la plus forte), et  $1,78 \text{ h}^{-1}$  pour la concentration C2, indiquant un effet paradoxal où la croissance bactérienne semble accélérée à certaines doses de l'extrait. En revanche, à la concentration C3,  $\mu$  max retombe à  $0,976 \text{ h}^{-1}$ , soit une valeur très proche de celle du témoin, traduisant une diminution de l'effet stimulant observé aux concentrations plus élevées.

Cette évolution peut s'expliquer par une action différentielle des composés bioactifs selon la concentration : à faibles doses, certains composants de l'extrait peuvent favoriser l'activité métabolique de certaines souches bactériennes, tandis qu'à d'autres doses, une légère inhibition ou une régulation naturelle de la croissance semble s'instaurer. Ces résultats soulignent l'importance de la concentration de l'extrait dans l'évaluation de son activité antimicrobienne.

Ces résultats mettent en évidence l'effet dose-dépendant ou la variabilité d'activité selon la concentration. Toutefois, il est important de noter que ces résultats sont basés sur une étude limitée et que des analyses plus approfondies seraient nécessaires pour confirmer ces observations.

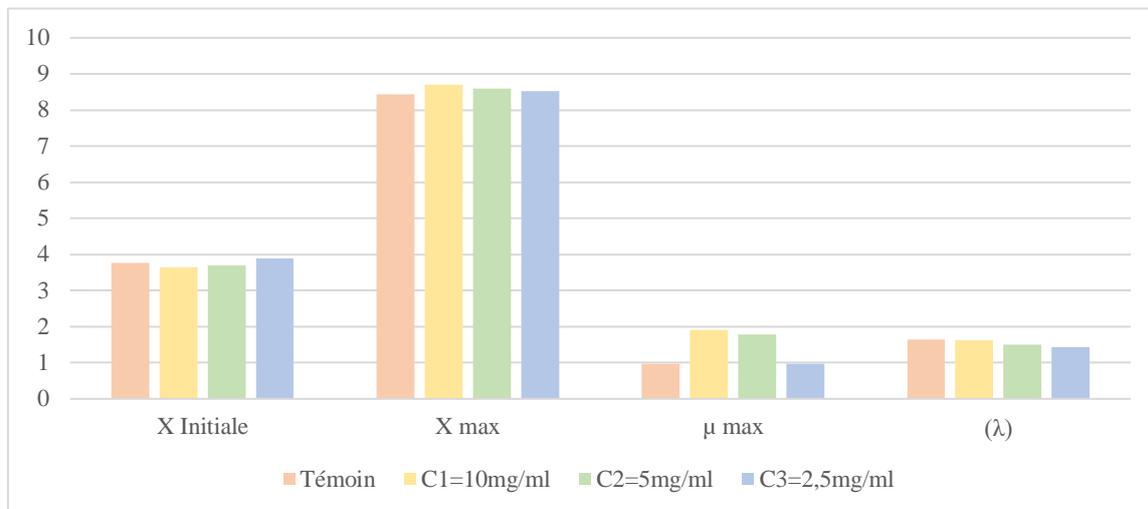
#### 1.2.1.3. Phase de latence

Le temps de latence, qui correspond à la phase d'adaptation des bactéries avant le démarrage de la croissance exponentielle, montre des variations légères entre les traitements. Le témoin présente un temps de latence de 35,179 heures (1 jour, 11 heures et 11 minutes), très proche de celui de C1 (34,805 heures : environ 1 jour, 10 heures et 48 minutes), indiquant que la forte concentration n'a pas eu d'impact significatif sur cette phase. En revanche, C2 et C3 montrent des  $\lambda$  réduits respectivement à 32,164 heures (1 jour, 8 heures et 10 minutes) et 30,684 heures (1 jour, 6 heures et 41 minutes). Cette diminution du temps de latence pourrait refléter un stress initial plus important exercé par l'extrait à ces concentrations, obligeant les bactéries à une adaptation plus rapide ou traduisant une sélection de populations bactériennes plus résistantes.

#### 1.2.1.4. Charge microbienne maximale

Le témoin atteint un  $X$  max de 8,431 Log UFC/mL, qui constitue la valeur de référence sans action de l'extrait. Après addition de l'extrait de *Cymbopogon citratus*, les valeurs de  $X$  max varient légèrement : 8,703 Log UFC/mL pour C1, 8,59 Log UFC/mL pour C2 et 8,521 Log UFC/mL pour C3. On observe donc une légère diminution de la population maximale atteinte lorsque la concentration de l'extrait diminue. Cela suggère que l'extrait pourrait limiter

partiellement la prolifération maximale des bactéries, particulièrement à la concentration de 2,5 mg/mL, traduisant un effet antimicrobien modéré à cette dose.



**Figure 23:** Évolution des paramètres de croissance bactérienne dans le lait pasteurisé additionné de différentes concentrations d'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus*.

## 1.2.2. Analyses physicochimiques

### 1.2.2.1. Variation du pH

Les échantillons du lait conservés à 4 °C ont fait l'objet d'un suivi de l'évolution du pH pendant huit jours à intervalle de deux jours (48h).

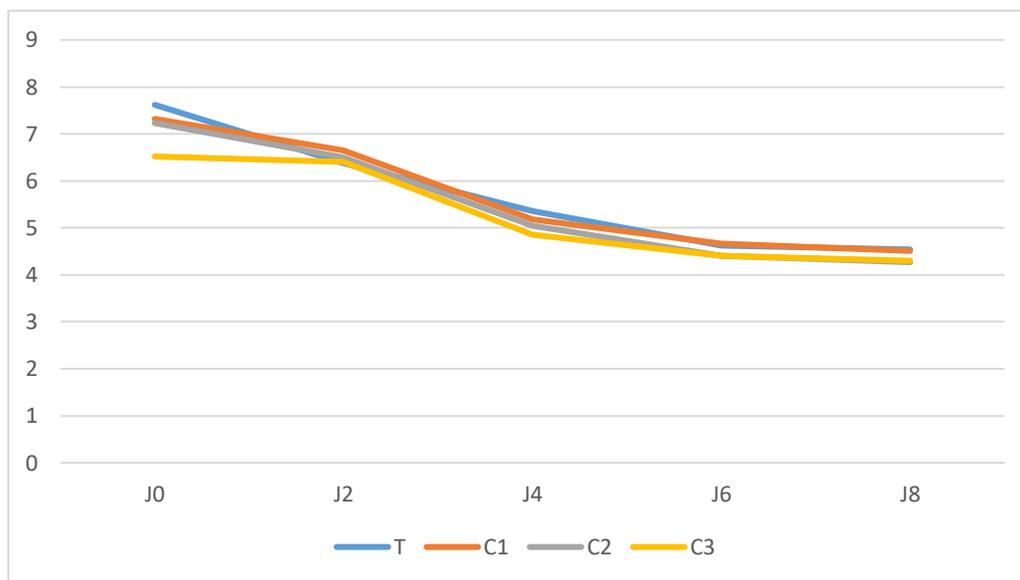
Les résultats de l'évolution du pH au fil du temps, sont illustrés dans la **figure 24** et l'**annexe 10**, indiquant que le pH du lait réfrigéré, auquel on a ajouté de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à différentes concentrations, ainsi qu'un échantillon témoin, ont subi une diminution du jour 0 au jour 8. Les valeurs de pH relevées se situent entre 7,17 et 4,4.

Les valeurs obtenues du pH variaient entre 7,62 et 4,54 pour le lait témoin (non supplémenté) et de (7,32 à 4,51), (7,23 à 4,27) et (6,52 à 4,3) pour les échantillons supplémentés de concentration C1= 10mg/ml, C2= 5mg/ml, C3= 10mg/ml, respectivement.

L'évolution du pH des échantillons de lait pasteurisé additionné d'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* a été suivie pendant 8 jours de conservation. De manière générale, une diminution progressive du pH a été observée dans l'ensemble des échantillons, indiquant une acidification du milieu liée à l'activité métabolique des microorganismes.

Au temps initial (J0), le pH était plus élevé pour le témoin (7,62) comparé aux échantillons traités, notamment C3 (6,52), traduisant un effet immédiat de l'ajout d'extrait

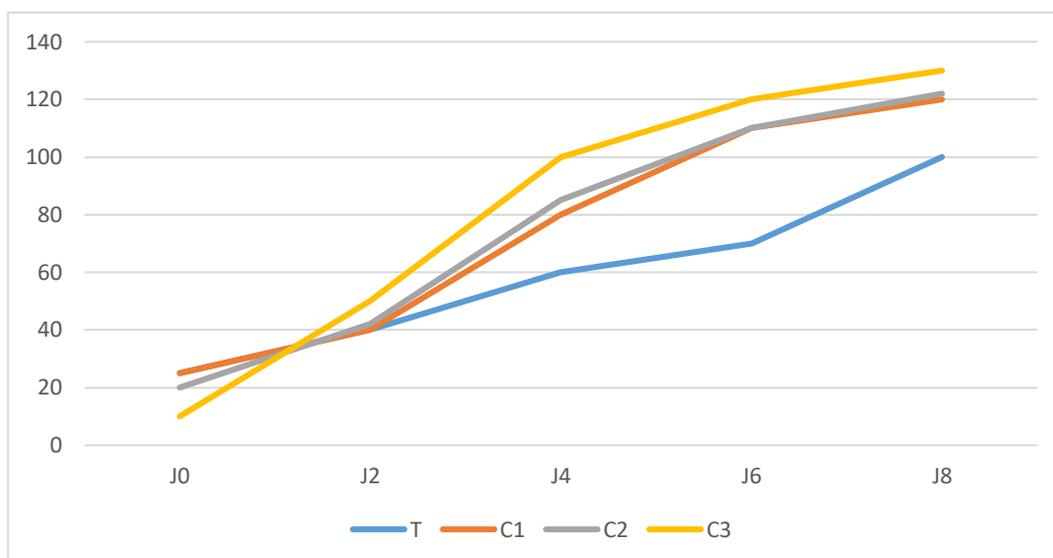
végétal sur l'acidité initiale du lait. Au fil des jours, le pH est diminué progressivement dans tous les lots. Cependant, on note que l'acidification est plus prononcée dans les échantillons traités, notamment pour C3 (4,3 à J8), par rapport au témoin (4,54 à J8), tandis que pour C1 (4,51), la baisse du pH reste proche de celle du témoin.



**Figure 24:** Suivi de l'évolution de pH des échantillons du lait au cours de 8 jours.

### 1.2.2.2. Variation de l'acidité

Les échantillons du lait conservés à 4°C ont fait l'objet d'un suivi de l'évolution de l'acidité pendant huit jours à intervalle de 48h. L'analyse de l'évolution de l'acidité (°D) au cours du temps montre une augmentation progressive pour l'ensemble des échantillons (**Figure 25**). Dans l'échantillon témoin, l'acidité passe de 25°D au J0 à 100°D au J8, traduisant une importante activité métabolique des bactéries lactiques produisant des acides organiques. Concernant les échantillons additionnés de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus*, une augmentation plus marquée de l'acidité est observée, particulièrement pour les concentrations les plus faibles. Ainsi, à J8, l'acidité atteint 120°D pour C1 (10 mg/ml), 122°D pour C2 (5 mg/ml) et 130°D pour C3 (2,5 mg/ml). Cette différence pourrait s'expliquer par une action partielle de l'extrait qui, à faible concentration, ne parvient pas à inhiber totalement la croissance des bactéries acido-gènes, voire favoriserait indirectement la croissance de certaines souches lactiques. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* exerce une activité dose-dépendante sur la microflore lactique responsable de l'acidification du lait au cours du stockage (**Annexe 11**).



**Figure 25:** Suivi de l'acidité Dornic des échantillons du lait au cours de 8 jours.

## 2. Discussion

Les feuilles de *Cymbopogon citratus* ont donné un rendement en extrait aqueux égale à 10,697 % qui est inférieur aux pourcentages rapportés dans d'autres travaux tels que **Denou et al. (2016)**, où le rendement des feuilles était 17,5%, et supérieure au pourcentage rapporté par **Djeugap et al. (2011)** qui ont trouvé un rendement de 8,1%.

En comparaison, des travaux plus récents montrent une plus grande diversité de rendements selon le solvant utilisé : **Tazi et al. (2024)** signalent un rendement de 28,98 % avec de l'eau.

D'autres recherches montrent mêmes des rendements variés avec des solvants mixtes : **Sohail et al. (2024)** rapportent un rendement de 48,1 % pour un extrait méthanol-aqueux à 80 % (80 % de méthanol et 20 % d'eau) comme solvant d'extraction.

Concernant les paramètres de la cinétique de croissance bactérienne de la flore totale aérobie mésophile de différents échantillons :

L'analyse des valeurs de X initiale (Log UFC/mL) montre que les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* ont présenté des variations modérées de la charge microbienne initiale. Le témoin présente une valeur de 3,77 Log UFC/mL, tandis que les échantillons additionnés de l'extrait varient entre 3,65 et 3,89 Log UFC/mL. Ces légères différences pourraient s'expliquer par une dispersion naturelle des bactéries résiduelles dans le lait après pasteurisation et avant stockage, ainsi que par l'effet immédiat de l'extrait au moment de l'incorporation. Ces résultats concordent avec ceux de **Hojjatoleslamy et al. (2022)**, qui ont

observé une stabilisation des charges initiales après l'ajout d'extrait végétale (extraits aqueux) dans le lait pasteurisé, en raison de l'action antimicrobienne précoce des composés bioactifs tels que le citral et le géraniol présents dans *Cymbopogon citratus*. Selon **Hashemi et al. (2017)**, l'ajout d'extrait de *Cymbopogon citratus* au lait pasteurisé n'a pas toujours un effet immédiat sur la population initiale, mais son action antimicrobienne devient plus évidente au cours de la conservation. De plus, **Siddique et al. (2021)** ont rapporté que l'effet bactéricide initial des extraits aqueux est souvent limité sur les flores mésophiles mais devient plus prononcé après exposition prolongée.

Concernant la phase de latence ( $\lambda$ ), nos résultats montrent une réduction modérée dans les échantillons traités par rapport au témoin (1,641 h pour le témoin contre 1,624 h, 1,501 h et 1,432 h pour C1, C2 et C3 respectivement). Cette diminution traduit une adaptation plus rapide des microorganismes en présence de l'extrait végétal, probablement en raison d'une sélection de flores plus résistantes aux composés antimicrobiens de *Cymbopogon citratus*. Ces observations corroborent celles de **Siddique et al. (2021)**, qui ont montré qu'une exposition prolongée à des extraits aqueux de *Cymbopogon citratus* pouvait favoriser la survie de certaines bactéries tolérantes, raccourcissant ainsi la phase d'adaptation. **Pranoto et al. (2005)** expliquent que certains extraits végétaux peuvent, à faibles doses, stimuler la phase d'adaptation microbienne avant d'exercer leur effet inhibiteur. De plus, **Mohamed et al. (2022)** ont observé une réduction de la phase de latence dans les laits traités par des extraits aqueux de *Cymbopogon citratus*, soulignant un effet dose-dépendant.

L'analyse de la vitesse maximale de croissance ( $\mu_{max}$ ) révèle une nette augmentation dans les échantillons traités, notamment pour la concentration de 10 mg/mL ( $1,9 \text{ h}^{-1}$ ), suivie de  $1,78 \text{ h}^{-1}$  et  $0,976 \text{ h}^{-1}$  pour les autres concentrations, contre  $0,968 \text{ h}^{-1}$  pour le témoin. Cette augmentation pourrait sembler paradoxale, mais peut s'expliquer par le fait que l'extrait de *Cymbopogon citratus*, en réduisant initialement certaines populations bactériennes sensibles, permet à des populations résistantes ou opportunistes de croître plus rapidement en absence de compétition, phénomène déjà rapporté par **Pranoto et al. (2005)**. Une telle dynamique est fréquente lorsqu'un conservateur naturel exerce une pression de sélection sur la flore microbienne. Cela rejoint les observations de **Siddique et al. (2021)** où l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* a montré des effets parfois paradoxaux selon la dose et le type de la flore présente, pouvant initialement stimuler certaines bactéries avant de provoquer un effet bactéricide aux doses critiques.

Enfin, compte tenu de nos résultats, l'évolution de X max montre des valeurs légèrement supérieures dans les échantillons traités (variant entre 8,521 et 8,703 log UFC/mL) par rapport au témoin (8,431 log UFC/mL). Cette tendance suggère qu'en dépit de l'effet antimicrobien initial, certaines souches bactériennes peuvent continuer leur développement lorsque les conditions de conservation deviennent favorables, en particulier pour les flores mésophiles opportunistes (**Hashemi et al., 2017**). L'activité antibactérienne de l'extrait est donc plus manifeste au début du stockage, mais tend à diminuer avec le temps en fonction des conditions de température, de pH et de la disponibilité nutritionnelle.

Cette étude a examiné l'effet de différentes concentrations d'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* (C1=10mg/ml, C2=5mg/ml, C3=2,5mg/ml) sur la cinétique de variation du pH dans les échantillons de lait pasteurisé. Il est important de souligner que les valeurs de pH initiales de tous les échantillons de lait étaient légèrement supérieures à la norme (6,54 à 6,64) (**Siahaan et al., 2021**), avec des valeurs comprises entre 7,17 et 6,52 au jour 0.

Au huitième jour de stockage, les mesures de pH des différents échantillons de lait ont montré des valeurs comprises entre 4,27 et 4,54, avec une moyenne globale de 4,41. Ces résultats indiquent une légère acidification du lait au cours du temps, traduisant une activité microbiologique malgré la réfrigération. Cette diminution du pH montre que le lait devient plus acide au fil de temps à cause de l'activité des bactéries lactiques qui produisent de l'acide lactique.

Pour l'évolution d'acidité des échantillons de lait stockés à 4°C supplémentés en extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à différentes concentrations (C1, C2, C3), les résultats ont montré que les niveaux d'acidité initiaux étaient supérieurs à la norme (**Vázquez-Román et al. 2016**), qui spécifie des valeurs comprises entre 15 et 22 °D, indiquent que les échantillons de lait présentent dès le départ une qualité microbiologique insuffisante.

L'évolution de l'acidité (exprimée en degré Dornic) au cours du stockage des échantillons de lait pasteurisé additionné d'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* a montré une augmentation progressive pour l'ensemble des lots. L'échantillon témoin (sans ajout d'extrait) a présenté une acidité croissante de 25°D à J0 à 100°D à J8, traduisant une activité normale des bactéries lactiques présentes naturellement dans le lait. Les échantillons supplémentés ont également montré une augmentation de l'acidité, atteignant respectivement 120°D (C1 = 10 mg/mL), 122°D (C2 = 5 mg/mL) et 130°D (C3 = 2,5 mg/mL) à la fin de la période de conservation.

Par ailleurs, **Siddique et al. (2020)** ont confirmé que l'ajout d'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* préparé à partir des feuilles fraîches récoltées localement (Mataram, Indonesia) permet de prolonger la durée de conservation du lait pasteurisé tout en limitant partiellement l'élévation de l'acidité pendant les premiers jours de stockage, mais sans une inhibition totale à long terme.

Ainsi, l'évolution de l'acidité observée dans cette étude confirme que l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus*, bien qu'ayant une activité antimicrobienne intéressante (**Valková et al. 2022**), reste insuffisant seul pour contrôler totalement le développement de la flore lactique sur une période prolongée de stockage.

Et d'après **Rahhal et al. (2024)**, l'extrait aqueux pur de *Cymbopogon citratus* n'a pas montré d'activité antimicrobienne significative en test de micro-dilution, confirmant que cette forme d'extraction est souvent moins efficace que les huiles essentielles ou les extraits éthanoliques pour agir sur la flore microbienne.

# *Conclusion*

---

## Conclusion

L'objectif de ce travail de recherche était d'étudier l'effet de l'ajout de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* sur la qualité microbiologique et physico-chimique du lait pasteurisé au cours de sa conservation réfrigérée. L'analyse des résultats obtenus au cours de cette étude a permis de tirer plusieurs conclusions en évidence plusieurs constats importants.

Les résultats obtenus ont montré qu'au cours de la période de stockage, la flore mésophile aérobique est développée de manière progressive dans tous les échantillons, y compris ceux additionnés de l'extrait végétal. L'analyse des paramètres de croissance microbienne ( $X$  initiale,  $X$  max,  $\mu$  max et phase de latence) n'a pas permis de mettre en évidence un effet inhibiteur net et constant de l'extrait aqueux sur la prolifération bactérienne. Les charges microbiennes ont évolué de façon comparable, voire parfois plus élevée, dans les échantillons traités par rapport au témoin, notamment à certaines concentrations.

Tout d'abord, l'ajout de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* n'a pas permis de démontrer une efficacité antimicrobienne significative contre la flore totale aérobique mésophile. En effet, les différentes concentrations testées (10 mg/mL, 5 mg/mL et 2,5 mg/mL) n'ont pas montré une réduction notable du développement microbien par rapport à l'échantillon témoin. Les valeurs de  $X$  initiale,  $X$  max,  $\mu$  max et de la phase de latence n'ont pas mis en évidence un effet inhibiteur de l'extrait. Aucune prolongation significative de la phase de latence ( $\lambda$ ) n'a été observée, indiquant l'absence de ralentissement du démarrage de la croissance bactérienne. De même, les valeurs maximales de la densité microbienne ( $X$  max) sont restées proches, voire légèrement supérieures à celles du témoin, traduisant l'absence d'un effet inhibiteur durable pendant la période de conservation.

Sur le plan physico-chimique, l'évolution du pH et de l'acidité (exprimée en °Dornic) a montré une diminution progressive du pH accompagnée d'une augmentation de l'acidité au fil des jours, traduisant l'activité fermentaire des bactéries résiduelles. Toutefois, cette chute a été plus modérée dans les échantillons enrichis en extrait de *Cymbopogon citratus*, notamment à la concentration de 10 mg/mL, soulignant l'effet protecteur de l'extrait contre l'acidification excessive du lait durant le stockage réfrigéré.

Ces résultats indiquent que, dans les conditions expérimentales de cette étude, l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* n'a pas exercé d'effet antimicrobien significatif sur la flore totale aérobique mésophile du lait pasteurisé. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette absence d'effet, notamment la nature aqueuse de l'extrait, une concentration insuffisante en composés

bioactifs, ou encore des interactions avec la matrice complexe du lait qui peuvent limiter l'activité antimicrobienne.

### **Perspectives**

Il serait pertinent, dans de futures recherches :

- d'évaluer d'autres formes d'extraits (huile essentielle, extraits méthanoliques ou éthanoliques),
- de tester des concentrations plus élevées,
- d'explorer des combinaisons avec d'autres agents antimicrobiens naturels, afin d'améliorer l'efficacité de conservation du lait.

*Références*

---

*Bibliographique*

## Références bibliographique

### A :

**Agroscope. (2016).** Matière grasse du lait, crème et beurre.  
<https://www.agroscope.admin.ch/agroscope/fr/home/themes/denrees-alimentaires/qualite/kaese-milch-milchprodukte/milchfett-rahm-butter.html>

**Ahn, J., Grün, I. U., & Mustapha, A. (2007).** Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food microbiology*, 24(1).

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

**Albert Fanny. (2023).** Qualité nutritionnelle et spécificités du lait et produits laitiers de brebis.  
<https://idele.fr/detail-article/qualite-nutritionnelle-et-specificites-du-lait-et-produits-laitiers-de-brebis>

**Amiot, J., Fourniers, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simsoud, R. (2002).** Composition Propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait dans Science et technologie du lait, Edition : école polytechnique de Montreal. 28p. (P600)

### B :

**Balkissa Seyni Issa et Ozairou Talata. (2023).** La pasteurisation du lait cru pour les petites unités de transformation laitières. 1p-2p

**Bayala Bagora. (2014).** Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse pour obtenir le grade de Docteur d'université. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; Université Joseph Ki-Zerbo (Ouagadougou, Burkina Faso), 2014. Français. ffNNT : 2014CLF22502ff. fftel-01166321f. <https://theses.hal.science/tel-01166321v1/document>

**Beuvier Eric, Feutry Fabienne. (2005).** Gestion des écosystèmes microbiens des laits et des fromages. 5p. Créé le : 23/06/2005. Modifiée le : 20/05/2009. LEF France.  
<https://www.rmtfromagesdeterroirs.com/wp-content/uploads/2023/08/FS-bases-sur-la-microbiologie-du-lait-et-du-fromage.pdf>

**Beyza H. Ulusoy & Kefyalew Chirkena., (2019).** Two perspectives of *Listeria monocytogenes* hazards in dairy products: the prevalence and the antibiotic resistance. Faculty

of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Near East University, Nicosia, Cyprus. Received 1 August 2019; revised 22 August 2019; Editorial decision 8 September 2019. *Food Quality and Safety*, 2019, 3, 233–241. OXFORD ACADEMIC. <https://academic.oup.com/fqs/article/3/4/233/5613233?utm>

**Bouaziz Amira. (2021).** Microbiologie du lait. Université de Batna 2, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de microbiologie et de biochimie. Année universitaire 2021/2022. Disponible en ligne : [https://staff.univ-batna2.dz/sites/default/files/bouaziz-amira/files/2\\_microbiologie\\_du\\_lait.pdf](https://staff.univ-batna2.dz/sites/default/files/bouaziz-amira/files/2_microbiologie_du_lait.pdf)

**Boukantar Zahia. (2004).** Valeur Alimentaire Du Lait Et Des Produits Laitiers En Algerie. Ecole nationale supérieure vétérinaire – Alger. <https://theses-algerie.com/2219497306084010/memoire-de-fin-d-etude/ecole-nationale-superieure-veterinaire---alger/valeur-alimentaire-du-lait-et-des-produits-laitiers-en-algerie>

**Boyd Cecilia., (2023).** Nutrient Content and Core Microbiota of Packaged Pasteurised Milk Products Characterised during Storage. Department of Food and Drug, University of Parma, Parma, Italy. *Journal of Food & Industrial Microbiology*. Mini Review Volume 9:1, 2023. <https://www.hilarispublisher.com/open-access/nutrient-content-and-core-microbiota-of-packaged-pasteurised-milk-products-characterised-during-storage.pdf?utm>

**C :**

**Celagri. (2020).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition et la santé. <https://Celagri.be>

**Chilliard, Y. et Lambert, G. (1984).** [La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variation, signification pratique.](#) 64eme Edite. 551p. (578p)

**Cortes-Torres Ana G., López-Castillo Guiee N., Marín-Torres Josefina L., Portillo-Reyes Roberto., Felix Luna., Beatriz E. Baca., Sandoval-Ramírez Jesús and Carrasco-Carballo Alan., (2023).** Cymbopogon citratus Essential Oil: Extraction, GC–MS, Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity, and In Silico Molecular Docking for Protein Targets Related to CNS. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2023, 45, 5164–5179. <https://www.mdpi.com/1467-3045/45/6/328>

**Crameri Reto. (2017).** Poaceae pollen as the leading aeroallergen worldwide. Première publication : 22 mai 2017. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/all.13210>

**Cudec. (2017).** Le lait. Université Libre de Bruxelles. <https://Cudec.ulb.be>

**D :**

**Darinmou. (2000).** Conseil pour le consommateur. Laboratoire darinmoub.Site darinmoub.Com/conseils.pdf

**Degnon René. G., Adjou\* Euloge. S., Metome Grâce et Dahouenon-Ahoussi Edwige. (2016).** Efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et de *Mentha piperita* dans la stabilisation du lait frais de vache au Sud du Bénin. Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée. Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 01 BP : 2009 Cotonou, Bénin. Int. J. Biol. Chem. Sci. 10(4): 1894-1902, August 2016. ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print). Available online at <http://www.ifgdg.org>

**Denise. (2023).** La pasteurisation détruit la valeur nutritive du lait. 20 Juin 2023. <https://www.extenso.org/article/la-pasteurisation-detruit-la-valeur-nutritive-du-lait/>

**Denou Adama., Koudouvo Koffi., Haidara Mahamane., Togola Adiaratou., Sanogo Rokia., Essien Komlan., Aklikokou Kodjo., Diallo Drissa et Gbeassor Massanvi., (2016).** Activité analgésique de quatre plantes utilisées dans la prise en charge traditionnelle du paludisme au Mali et au Togo. Int. J. Biol. Chem. Sci. 10(3): 1342-1349, June 2016 ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print). <https://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/view/149065>

**Djeugap. J. F., Fontem. D. A., Tapondjou. A. L., (2011).** Efficacité in vitro et in vivo des extraits de plantes contre le mildiou (*Phytophthora infestans*) de la morelle noire. Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(6): 2205-2213, December 2011. <https://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/view/77224>

**Drouault Sophie, Corthier Gérard. (2000).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. 102p-103p. Unité d'Écologie et de Physiologie du Système Digestif, Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France. Reçu le 19 octobre 2000 ; accepté le 11 décembre 2000. <https://hal.science/hal-00902692/document>

**Dutertre J. (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France,33 p. <https://www.sudoc.abes.fr/cbs/DB=2.1//SRCH?IKT=12&TRM=157014207>

**E :**

**Ekpenyong Christopher., Ernest E. Akpan., Nyebuk E. Daniel., (2014).** Phytochemical Constituents, Therapeutic Applications and Toxicological Profile of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) Leaf Extract. ISSN 2278-4136 ISSN 2349-8234 JPP 2014 ; 3 (1): 133-141 Received: 12-04-2014 Accepted: 02-05-2014. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2014. [https://www.phytojournal.com/vol3Issue1/Issue\\_may\\_2014/32.1.pdf](https://www.phytojournal.com/vol3Issue1/Issue_may_2014/32.1.pdf)

**Équipe S V T. (2020).** Composition et valeur nutritive du lait. <http://mediatheque.accesmad.org/>

**Ezugwu Roseline Ifeyinwa., (2023).** Isolation of Salmonella and Shigella spp from Spoilt Pasteurized Liquid Milk. Department of Applied Microbiology and Brewing, Enugu State University of Science and Technology, P.M.B. 01660, Enugu, Enugu State, Nigeria. International Journal of Innovative Science and Research Technology ISSN No:-2456-2165

**F :**

**FAO/OMS. (2004).** Code d'usages en matière d'hygiène pour le lait et les produits laitiers. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires-Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire, 26e session, 29 mars-2 avril 2004, Washington, DC, États-Unis.

**Fao. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine (Chapitre 9). Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. <https://www.fao.org/4/t4280f/T4280F09.htm>

**Fedala, N. Mokhtari, M. (2022)** Le lait et ses dérivés. Editions Itinéraires Scientifiques (ITSC) Dépôt légal, N°D12 MAQTAA KOUDIES JOUL LOT.08 ET 09 DOUERA-ALGER, 1p-3p-4p-5p-9p-10p-11p

**Fédération Romande des Consommateurs. (2010).** Lait entier, UHT, écrémé, homogénéisé, pasteurisé... comment s'y retrouver dans la mer de laits? Fédération Romande des Consommateurs. Disponible sur : <https://www.frc.ch/entier-uht-ecreme-homogeneise-pasteurise-comment-sy-retrouver-dans-la-mer-de-laits/>

**Freitas R., Nero L. A., † and Carvalho A. F., (2009).** Technical note : Enumeration of mesophilic aerobes in milk : Evaluation of standard official protocols and Petrifilm aerobic count plates. Department of Food Technology, and † Department of Veterinary, Federal

University of Viçosa, Viçosa MG, Brazil, 36570-000.  
<https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302%2809%2970623-X/fulltext?utm>

**Fuller Daniel. (2024).** <https://www.ozbreed.com.au/poaceae-plant-family/>

## **G :**

**Gandhi K et al., (2020).** Chemical Quality Assurance of Milk and Milk Products, Springer Nature Singapore Pte Ltd. 33p

**Gaucheron F. (2004).** Minéraux et produits laitiers. 922 p.

**Génin G. (2020).** Pasteurisation du lait ; ses avantages et ses inconvénients ; méthode de pasteurisation basse. *Le Lait*, 15 (150), pp.1101-1103. fahal-00895217f. Submitted on 11 May 2020. HAL Open science. <https://hal.science/hal-00895217v1/document>

## **H :**

**Hellali Naima. (2017).** Caractérisation physico-chimique et phytochimique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de Poacées, Lamiacées et Astéracées, utilisées en médecine traditionnelle dans la région d'Illizi. Thèse En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences. Soutenu le 28/09/2017. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA. <https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/bitstream/123456789/37503/1/Hellali-naima.pdf>

**Hashemi, M., Khaneghah, A. M., & Tavakoli, J., (2017).** Application of essential oils and plant extracts in dairy products preservation : a review. *Food Science & Nutrition*, 5(5), 941–952. <https://doi.org/10.1002/fsn3.497>

**Hojjatoleslamy Mohammad., Fariba Ataei Nukabadi., Hajar Abbasi., (2022).** Effect of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) extract on shelf life extension of pasteurized milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), e16527. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16527>

**Huck, J.R., et al., (2007).** "Microbial diversity of consumption milk during processing and storage". *International journal of food microbiology*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160517304890?utm>

## **J :**

**Jay, J. M., M. J. Loessner, and D. A. Golden. (2005).** *Modern Food Microbiology*. Chapman and Hall, New York, NY.

**Jean C et Dijon C. (1993).** Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3

**Jeantet, R., croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P., Baule, G. (2008).** Les produits laitiers. 2eme édition : Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 14p. (185p)

**Júnior Ribeiro., Tamanini. R., Alfieri. † A. A., Beloti. A., (2018).** Genetic diversity of thermophilic spoilage microorganisms of milk from Brazilian dairy farms. <https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302%2818%2930494-6/>

## **K :**

**Koudoro. Alain Y., Konfo Christian T. R., Sessou Philippe., Sohounhloué Dominique C. K., (2018).** Status of research results in chemistry of biologically active substances in Benin. 127p-131p. International Journal Of Phytomedicine. 2018 ; 10(3):125-136. Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 2009, Cotonou, Bénin. Received: 02 Apr 2018, Accepted: 03 Jun 2018. <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/78936982/1141-libre.pdf>

**Kroner Arno., (2024).** Health Benefits of 10 Healing Herbs. Updated on November 28, 2024. <https://www.verywellhealth.com/healing-herbs-5180997>

**Kuete Victor. (2017).** Medicinal spices and vegetables from Africa, Therapeutic Potential against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases. P397-399-413. University of Dschang Dschang, Cameroon. [https://www.researchgate.net/profile/Opeyemi-Avoseh/publication/312686177\\_Cymbopogon\\_citratus/links/5ec284d5299bf1c09ac4e3a8/Cymbopogon-citratus.pdf#page=418](https://www.researchgate.net/profile/Opeyemi-Avoseh/publication/312686177_Cymbopogon_citratus/links/5ec284d5299bf1c09ac4e3a8/Cymbopogon-citratus.pdf#page=418)

## **L :**

**Lakhdara N. (2021).** Cour de zootechnie A3. Le lait. Fac.umc.edu.dz. 07p

**Lan Xinyi., Wu Shuyan., Du Qijing., Min Li., (2024).** The Investigation of Changes in Bacterial Community of Pasteurized Milk during Cold Storage. PMID: PMC10855270. 2024 Jan 31;13(3):451. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10855270/>

**Ledenbach, L.H., & Marshall, R.T. (2009).** "Dairy Spoilage: Organisms, Mechanisms, and Modeling". Food Research Institute. [https://fri.wisc.edu/files/Briefs\\_File/2023-02-02\\_1706\\_Dairy%20Spoilage%20Mechanisms.pdf](https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/2023-02-02_1706_Dairy%20Spoilage%20Mechanisms.pdf)

**Leite JR., Seabra ML., Maluf E., Assolant K., Suchecki D., Tufik S et al., (1986).** Pharmacology of Lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf) 111. Assessment of Eventual Toxic, Hypnotic and Anxiolytic effects on humans. J Ethnopharmacol 1986; 17(1):75-83.

**Likibi Ndzeli Belline., Tsiba Gouollaly., Madiélé Mabika Aimé Bertrand., Etou Ossibi Arnaud Wilfrid., Nsikabaka Samuel., Ouamba Jean-Maurille., (2019).** Composés carbonylés majeurs et indices physico-chimiques des huiles essentielles de deux espèces du genre *Cymbopogon* (Poaceae) du Congo-Brazzaville. International Journal of Engineering and Applied Sciences (IJEAS) ISSN: 2394-3661, Volume-6, Issue-10, October 2019. <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/67397522/ijeas.6.10-libre.pdf?>

**Lott., Wiedmann & Martin., (2023).** Shelf-life storage temperature has a considerably larger effect than high-temperature, short-time pasteurization temperature on the growth of spore-forming bacteria in fluid milk. 2023 Jun;106(6):3838-3855. doi: 10.3168/jds.2022-22832. Epub 2023 Mar 29. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37002135/>

## **M :**

**Machraoui. M., Kthiri. Z., Ben jabeur. M., Hamada. W., (2018).** Ethnobotanical and phytopharmacological notes on *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Plant Production Department, Laboratory of Genetics and Plant Breeding, National Institute of Agronomy (INAT), 43, Av Charles Nicolle, 1082 Tunis, Tunisia. Published July, 01, 2018. <https://www.jnsiences.org/agri-biotech/83-volume-55/519-ethnobotanical-and-phytopharmacological-notes-on-cymbopogon-citratus-dc-stapf.html>

**Madi. Yasmine F., Meselhy. Meselhy R., El-Kashoury, El-Sayeda A et Choucry. Mouchira A., (2022).** Morphological and Anatomical Characterization of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Cultivated in Egypt, 58p. Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University. Vol. 60 : Iss. 1 , Article 6. (12/2022). <https://www.bfopcu.eg.net/journal/vol60/iss1/6/>

**Martin, N.H., et al., (2021).** "Dairy Spoilage: Organisms, Mechanisms, and Modeling". Food Research Institute. [https://fri.wisc.edu/files/Briefs\\_File/2023-02-02\\_1706\\_Dairy%20Spoilage%20Mechanisms.pdf](https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/2023-02-02_1706_Dairy%20Spoilage%20Mechanisms.pdf)

**Martin Nicole., Trmcic Aljoša., Tsung-Han Hsieh., Kathryn J. Boor and Martin Weidmann., (2016).** The Evolving Role of Coliforms As Indicators of Unhygienic Processing Conditions in Dairy Foods. 30 September 2016. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2016.01549/full>

**M'Boya J.C. et al., (2001).** Le lait pasteurisé. AGRIDOC. <http://www.hubrural.org>

**Milhaud, C. L. (1999).** Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux : point de vue vétérinaire. Revue Française des laboratoires N°310. 80p.

**Mirandole. (2019).** Différence entre stérilisation et pasteurisation. 10 juillet 2019  
<https://jeretiens.net/difference-entre-sterilisation-et-pasteurisation/>

**Mocquot. G. (1956).** Lait pasteurisé – Lait stérilisé. II. Aspects techniques et hygiéniques du problème des laits destinés à la consommation. Deuxième partie : Destruction des microbes de la flore banale au cours de la pasteurisation et qualité de conservation du lait pasteurisé (Fin.). Le Lait, 1956, 36 (357), pp.388-399. fhal-00928169ff. Submitted on 11 May 2020.  
<https://hal.science/hal-00928169v1/document>

**Munkuamo Gonzaleze Jean Rufin., Tamasala Ndombe., Talimbo Lenti Tali Grace., (2024).** Les plantes médicinales, une ressource précieuse et véritable trésor à protéger : Une étude ethnobotanique de l'écosystème forestier d'Eyalé en République Démocratique du Congo. Université pédagogique nationale (UPN), RD Congo. International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 43 No. 1 Jul. 2024, pp. 82-95.  
<http://www.ijias.issr-journals.org/>

**N :**

**Negrelle, R. R. B., & Gomes, E. C., (2007).** *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Chemical composition and biological activities. Revista Brasileira de Plantas Medicinai, 9(1), 80-92  
[https://oikos.ufpr.br/publicacoes/artigos/01\\_lemon%20grass%20chemical%20revision.pdf](https://oikos.ufpr.br/publicacoes/artigos/01_lemon%20grass%20chemical%20revision.pdf)

**O :**

**Omotade I. Oloyede., (2009).** Chemical profile and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* leaves. Department of Biochemistry, University of Ado-Ekiti, Nigeri. (Received 10 April 2009; Revised 19 April- 26 May 2009; Accepted 03 June 2009.  
[https://www.academia.edu/89775579/Chemical\\_profile\\_and\\_antimicrobial\\_activity\\_of\\_Cymbopogon\\_citratus\\_leaves](https://www.academia.edu/89775579/Chemical_profile_and_antimicrobial_activity_of_Cymbopogon_citratus_leaves)

**Otmane Rachedi Khadidja\*, Remadni Mouchira, Badi Yahiaouia., (2022).** Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques des différents laits crus (chamelle, chèvre et vache) de la région d'El-Oued et Bougous (Wilaya d'El-Tarf). 2p. épartement de Chimie,

Université Chadli BendjedidEl-Tarf, Faculté des sciences et de la Technologie, PB 73, El-Tarf, Algerie, 3600. Received : 20/07/2022. Revised : 06/09/2022. Accepted : 06/09/2022.  
<https://www.ajol.info/index.php/srst/article/view/246932/233574>

**P :**

**Pranoto, Y., Salokhe, V. M., & Rakshit, S. K. (2005).** Synergistic effect of essential oils and chitosan on growth inhibition of food spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 104(3), 343–349.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.016>

**Pougheon Sandra. (2001).** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et leurs conséquences en technologies laitières. *Médecine vétérinaire et santé animale*. ffdumas-04650637. Submitted on 16 Jul 2024. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04650637v1/document>

**Q:**

**QualiTru Sampling Systems. (2025).** Post-pasteurization contamination monitoring. Consulté le 22 mai 2025, à l'adresse : <https://qualitru.com/post-pasteurization-contamination-monitoring/>

**R :**

**Rabbani Ahmad., Ayyash Mutamed., Crystal D.C. D'Costa., Gang Chen., Yajun Xu., Kamal-Eldin Afaf., (2025).** Effect of heat pasteurization and sterilization on milk safety, composition, sensory properties, and nutritional quality. <https://www.mdpi.com/2304-8158/14/8/1342>

**Rahhal Belal., Qneibi Mohammad., Jaradat Nidal., Hawash Mohammed., Qadi Mohammad., Issa Linda., Bdir Sosana., (2024).** Multi-biological activity assessment and phytochemical characterization of an aqueous extract of the *Cymbopogon citratus* grown in Palestine. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24, 338. DOI : 10.1186/s12906-024-04338-z. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12906-024-04338-z>

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

**Renard. (2014).** À propos du lait cru complet. P1. [Consulté en ligne](#)

**Randriamanantena Niriantafy Tantely. (2024).** Extraction de l'huile essentielle du *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Citronnelle de Madagascar), Analyses de ses propriétés et détermination de ses activités antimicrobiennes et antifongiques. École supérieur polytechnique. Soutenu le 30 Septembre 2024. <https://polytechnique.mg/these/Licence-Tantely.pdf>

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

**Rossi Franca., (2023).** Special issue functional characterization of lactic acid bacteria: editorial. 2023 may 1; 11(5):1190. PMID: PMC10220900. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10220900/>

**RTL. (s.d.). (2018).** Agriculture : l'alimentation des vaches impactes la qualité du lait. RTL. Disponible sur : <https://www.rtl.fr/actu/debats-societe/agriculture-l-alimentation-des-vaches-impacte-la-qualite-du-lait-7795245698>

## **S :**

**Sagar Aryal, (2022).** Preservation of milk and milk products from microbial spoilage. March 28, 2022 . <https://microbenotes.com/preservation-of-milk-and-milk-products/>

**Sahi L. (2016).** La dynamique des plantes aromatiques et médicinales en Algérie [Troisième partie]. pages 101-140. <http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=00007156>

**Sarkar. S. (2015).** Microbiological considerations: pasteurized milk. International journal of dairy science, 10: 206-218. Received : June 22, 2015 ; Accepted: August 01, 2015; Published : September 19, 2015. quality assurance, metro dairy limited, Barrackpore-Barasat Link Road, Subhasnagar, P.O. Box Neelgunj Bazar, Kolkata, 700121, West Bengal, India. <https://scialert.net/fulltext/?doi=ijds.2015.206.218&utm>

**Serrer Asma. (2023).** Etude de l'effet de l'addition des extraits de quelques plantes de la région de Mila sur la conservation du lait à froid. 1p. Thèse de doctorat. Aout 2023. Centre universitaire abdalhafid boussouf – MILA. <https://dspace.centre-univ-mila.dz/jspui/handle/123456789/2618>

**Shao Yiwei., Yiting Yuan., Yanmei Xi., Tong Zhao., Nasi Ai., (2023).** Effects of homogenization on organoleptic quality and stability of pasteurized milk samples. beijing

Advanced innovation center for food nutrition and human health, Beijing Technology & Business University, Beijing 100048, China. Agriculture 2023, 13(1), 205. Submission received 22 November 2022 / Revised: 9 January 2023 / Accepted: 9 January 2023 / Published: 13 January 2023. <https://doi.org/10.3390/agriculture13010205>

**Siahaan H.M., Sumerta IN. S., Lindawati S.A., (2021).** Organoleptic evaluation of fresh cow milk fortified with lemongrass post pasteurization. *Vol 24 No 2 (2021) : Vol. 24 No. 2 (2021)*. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/mip/article/view/80784>

**Siddique, F., Latif, A., Arshad, M., & Lashari, M. H et al., (2020).** Effect of lemongrass extracts on the shelf life and microbial quality of milk. *International journal of food studies. Pure appl. biol.*, 10(2): 378-387, June 2021. Received: 07/03/2020 Revised: 01/10/2020 Accepted: 02/10/2020 Online First: 08/10/2020. <https://www.thepab.org/files/2021/March-2021/PAB-MS-2003-088.pdf>

**Siddique, M. A. B., Hossain, M. I., & Kabir, M. H., (2021).** Antimicrobial activity of aqueous extract of *Cymbopogon citratus* against some foodborne pathogens in milk. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 8(3), 443–449. <https://doi.org/10.5455/javar.2021.h506>

**Silva, R., AG Cruz, JA Faria, MM Moura, LM Carvalho, EH Water et AS Sant'Ana, (2010).** Lait pasteurisé : efficacité de la pasteurisation et conditions microbiologiques au Brésil. *Foodborne Pathog. Dis.*, 7 : 217-219.

**Sitamahalakshmi S., Dr. P. Raja Rao., (2019).** Microbial Load, Microflora and Quality of Pasteurised Milk. Volume 4, Issue 7, July – 2019. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*. ISSN No:-2456-2165. [https://ijisrt.com/assets/upload/files/IJISRT19JL173\\_%281%29.pdf](https://ijisrt.com/assets/upload/files/IJISRT19JL173_%281%29.pdf)

**Sohail, U. A., Mona Hassan Syeda., Sabir Tehseen Muhammad., Hadiya Shahzad Hafiza., Perveen Gulshan., Asif Ibrahim Muhammad., Hassan Khuram Syed., (2024).** Phytochemical characterization and biological evaluation of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) extracts: comparison of extraction techniques and bioactivities. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis*, 11(3), 253–259. <https://lgujls.lgu.edu.pk/lgujls/article/view/337/271>

**Stapf, O. (1906).** *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Bulletin of miscellaneous information (Royal Botanic Gardens, Kew)*, 1906: 322. <https://powo.science.kew.org/taxon/396896-1>

T :

**Tahri Nabila., El basti Abdelkrim., Zidane Lahcen., Rochdi Atmane., Douira Allal., (2012).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de Settat (Maroc). Université Ibn Tofail. Laboratoire de botanique et de protection des plantes. Faculté des Sciences. B.P. 133. MAKénitra (Maroc). Received date:18.01.2012. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/159587>

**Tapernoux. M. A. (1928).** Les relations entre l'acidité actuelle et l'acidité potentielle du lait. Le Lait, 1928, 8 (78), pp.686-698. fihal-00894924f. Submitted on 11 May 2020. <https://hal.science/hal-00894924v1/document#:~:text=Le%20degr%C3%A9%20Dornic%2C%20en%20effet,15%20%C3%A0%2016%C2%B0%20D.>

**Tazi Ahmed., El Moujahed Sara., Jaouad Nouara., Saghrouchni Hamza., Al-Ashkar Ibrahim., Liu Liyun., Errachidi Faouazi., (2024).** Exploration du potentiel bioactif de la citronnelle marocaine (*Cymbopogon citratus* L.) : études sur la distribution du poids moléculaire et les potentiels antioxydants et antimicrobien. 23 août 2024 ; 29(17) : 3982. Doi. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11395846/pdf/molecules-29-03982.pdf>

**Tsion Kassahun., Biruktawit Girma., Rakesh Kumer Joshi., Bihonegn Sisay., Kidus Tesfaye., Sameson Taye., Samuel Tesema., Tigist Abera and Frehiwot Teka., (2020).** Ethnobotany, traditional use, phytochemistry and pharmacology of *Cymbopogon citratus*: Review article. Received: 01-05-2020 Accepted: 03-06-2020. International Journal of Herbal Medicine 2020; 8(4): 80-87. [https://www.researchgate.net/profile/Firehiwot-Teka/publication/345724511\\_Ethnobotany\\_traditional\\_use\\_phytochemistry\\_and\\_pharmacology\\_of\\_Cymbopogon\\_citratus\\_Review\\_article/links/6061e9f1458515e8347d6dba/Ethnobotany-traditional-use-phytochemistry-and-pharmacology-of-Cymbopogon-citratus-Review-article.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Firehiwot-Teka/publication/345724511_Ethnobotany_traditional_use_phytochemistry_and_pharmacology_of_Cymbopogon_citratus_Review_article/links/6061e9f1458515e8347d6dba/Ethnobotany-traditional-use-phytochemistry-and-pharmacology-of-Cymbopogon-citratus-Review-article.pdf)

V :

**Valková Veronika., Ďúranová Hana., Galovičová Lucia., Borotová Petra., L. Vukovic Nenad., Vukic Milena., Kačániová Miroslava., (2022).** *Cymbopogon citratus* essential oil: its application as an antimicrobial agent in food preservation. Submission received 9 December 2021 / Revised: 31 December 2021 / Accepted: 5 January 2022 / Published: 8 January 2022. <https://www.mdpi.com/2073-4395/12/1/155>

**Vázquez-Román Sara., Escuder-Vieco Diana., Nadia Raquel García-Lara., Clara Alonso-Díaz., David Lora., María Dolores Martín-Pelegrina., Carmen Rosa Pallás-Alonso., (2016).** Impact of freezing time on dornic acidity in three types of milk: Raw donor milk, mother's own milk, and pasteurized donor milk.

**Velez Alix. (2017).** Étude bibliographique du rapport bénéfices-risques de la consommation de lait cru de vache. 7p. Médecine vétérinaire et santé animale. 17 janvier 2017. ffdumas-05030561f. Ecole Nationale vétérinaire d'Alfort. Submitted on 11 Apr 2025. HAL Id: dumas-05030561. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-05030561v1/file/A-2017-014.pdf>

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

**W :**

**Walter S. (2002).** Alimentation de la vache laitière et composition du lait. Station fédérale de recherches en production animale. Posieux, Suisse. <https://Ira.agroscope.ch>

**Y :**

**Yvette Soustre et Anne-Sophie Royant. (2015).** Le lait. Centre National Interprofessionnel de l'Économie Laitière (CNIEL). Iplc.fr.

# *Annexes*

---

## Annexes

### Annexe 01: Matériels utilisé, verreries, appareils, outils, ...

Autoclave	pH mètre	Boîtes de Pétri en plastique
Bain marie	Balance	Bécher
Plaque chauffante agitatrice	Compteur de colonies	Portoir
Réfrigérateur	Etuve	Pissette
Bec Bunsen	Agitateur	Papier filtre
Vortex	Erlenmeyer	Petits flacons sombre
Micropipettes	Flacons en verre 250ml	Verre de montre
Boîtes de Pétri en verre	Tubes à vis	Balance de précision
Entonnoir	Eprouvette graduée	Burette

### Tableau 02: Produits et réactifs utilisés

Solvants et réactifs	Milieu de culture
Eau distillée	GN (Gélose nutritive)
NaOH (Hydroxyde de sodium)	
Phénolphtaléine	
NaCl (Chlorure de sodium)	
Eau physiologique	

### Annexe 03 : La composition de la gélose nutritive (GN) :

- Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée
  - Peptone 5,00
  - Extrait de viande de bœuf 3,00
  - Chlorure de sodium 5,00

➤ Agar

15,00

**Annexe 04** : Tableau des Moyennes de log UFC/mL.

Echantillons		0	2	4	6	8
Témoin		3.98720363619414	4.24849911315018	6.46920196437674	7.73675856522542	8.47712125471966
C1=10 mg/ml	Moyenne Log UFC	3.88991383214489	4.51697167615342	6.41434724096012	8.32675856522542	8.68712125471966
C2=5 mg/ml		3.94991383214489	4.29419446502516	6.48239799789896	7.69712125471966	8.59512125471966
C3=2,5 mg/ml		3.99147995814989	4.29114562952784	6.51138532946236	7.52112125371922	8.51312125471966

**Annexe 05** : Les étapes de l'utilisation par le modèle **Baranyi et Roberts** (Combase).

Google search results for "combase".

Search results include:

- ComBase (.gov)**  
<https://combase.ercr.ars.usda.gov> · Traduire cette page  
**ComBase Home**  
 The ComBase Browser enables you to search thousands of microbial growth and survival curves that have been collated in research establishments and from ...  
[ComBase Login](#) [ComBase Updates](#) [About Us](#) [FAQs](#)
- USDA (.gov)**  
<https://combasebrowser.ercr.ars.usda.gov> · Traduire cette page  
**ComBase Login**  
 Log in to get started or Sign Up · Forgot password?
- Food and Agriculture Organization**  
<https://www.fao.org/tools/details> · Traduire cette page  
**ComBase: Combined Database for Predictive Food ...**  
 ComBase is a highly useful tool for food companies to understand safer ways of producing and storing foods. This includes developing new food products and ...

Active Windows  
Accédez aux paramètres pour é

**ComBase** Home About Donate data FAQ Contact us

The **ComBase Browser** enables you to search thousands of microbial growth and survival curves that have been collated in research establishments and from publications

The **ComBase Predictive Models** are a collection of software tools based on ComBase data to predict the growth or inactivation of microorganisms

[Login/Register](#) 58,500 + records | 70,000 + users

A Web Resource for Quantitative and Predictive Food Microbiology

It includes:

- A systematically formatted database of quantified microbial responses to the food environment with more than 60,000 records
- ComBase Predictor and Food Models – to predict the growth and inactivation of microorganisms in food

New updates

Click [here](#) to see the new updates to data and features

Tutorials Windows

Accédez aux paramètres pour activer Windows.  
Click [here](#) to access the ComBase

**ComBase**

Log in to get started or Sign Up

Forgot password? [Log In](#)

Activer Windows  
Accédez aux paramètres pour activer Windows.

**ComBase** English 中文

DMFit (Disclaimer)

Time	Logc

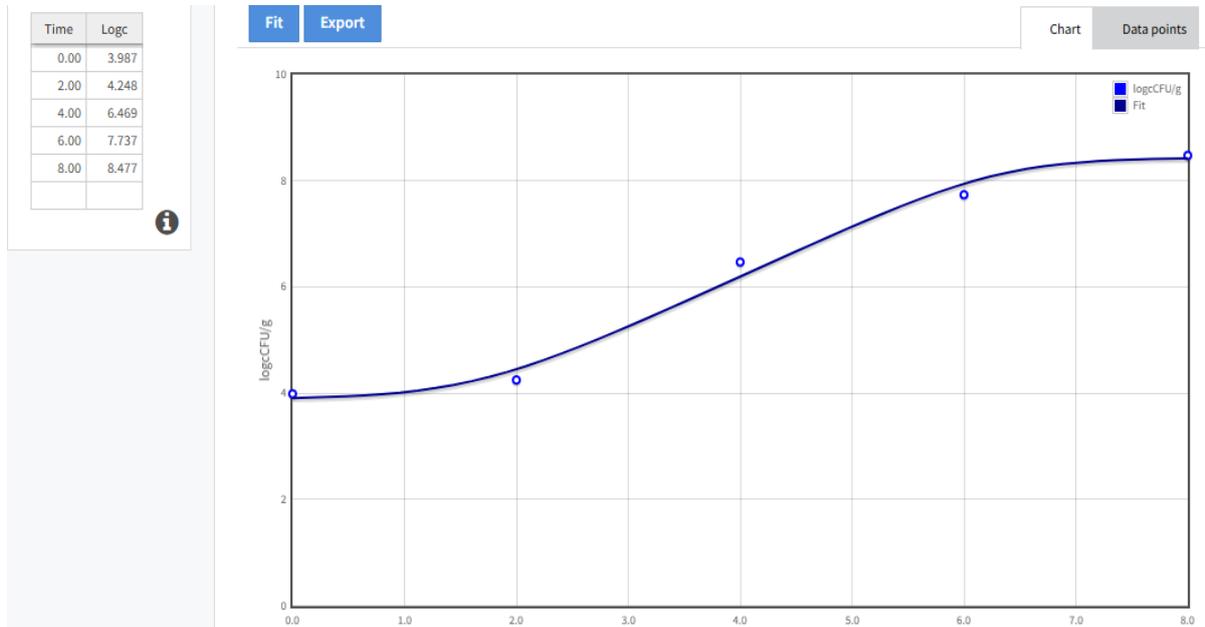
Fit Chart Data points

logcCFU/g

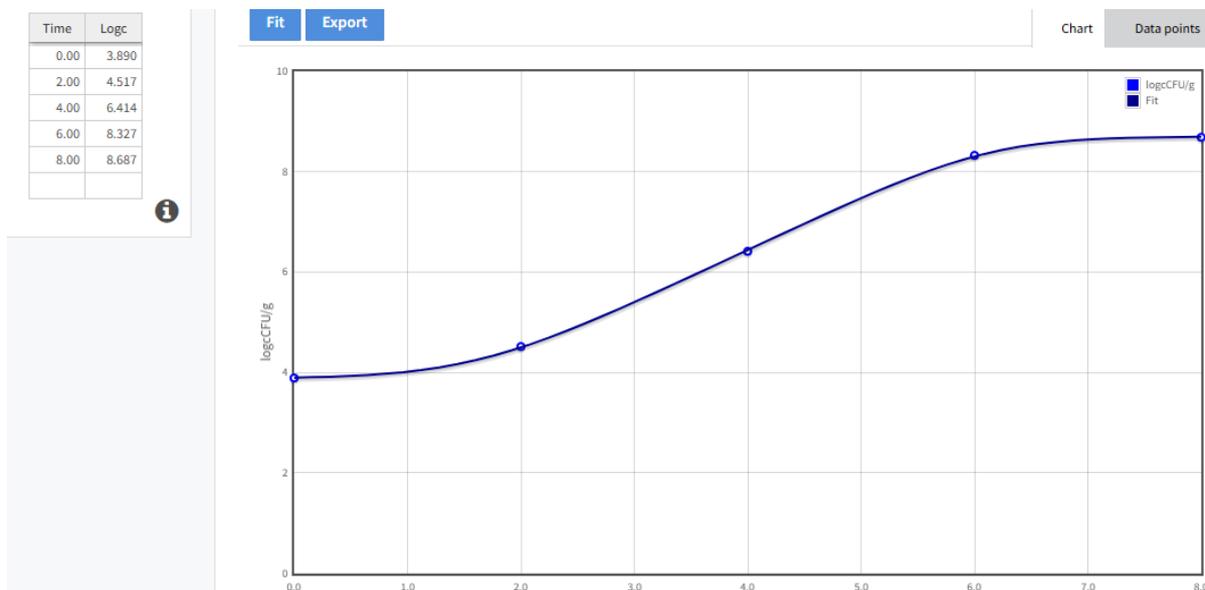
While you're using DMFit to analyze your data, please consider donating your data to ComBase. We make it easy at [this link!](#) We'll show you how many times your data are accessed by others and you'll also be eligible for a travel award! Thank you!

Activer Windows  
Accédez aux paramètres pour activer Windows.

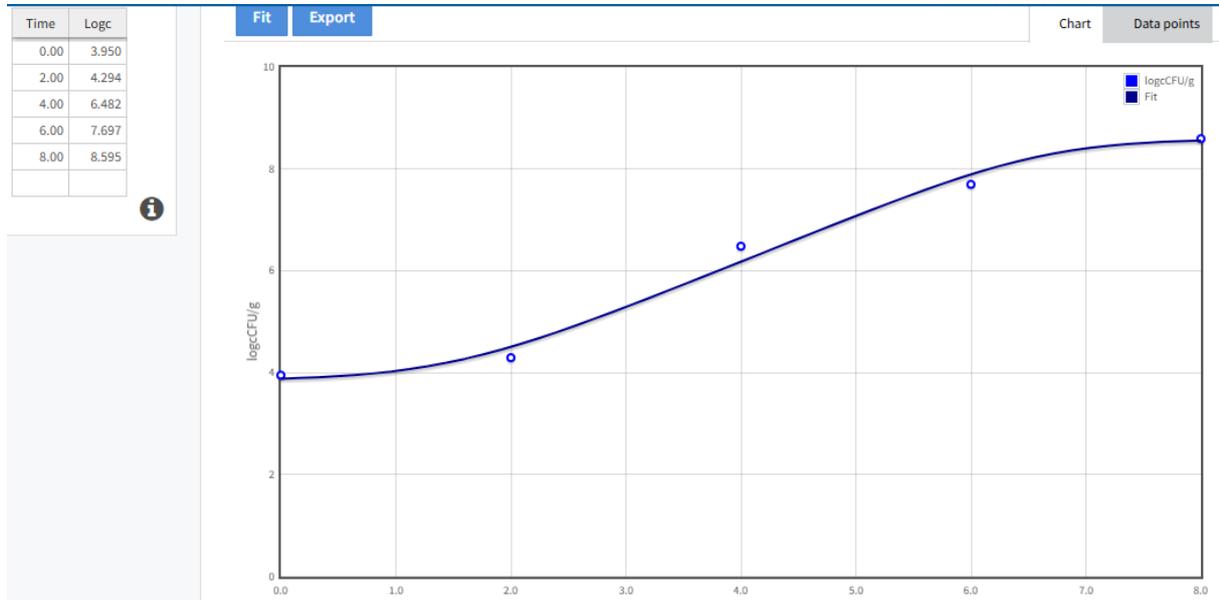
**Annexe 06 :** L'évolution de la croissance microbienne du lait Témoin réfrigéré à 4°C, obtenue avec le modèle **Baranyi et Roberts** (Combase).



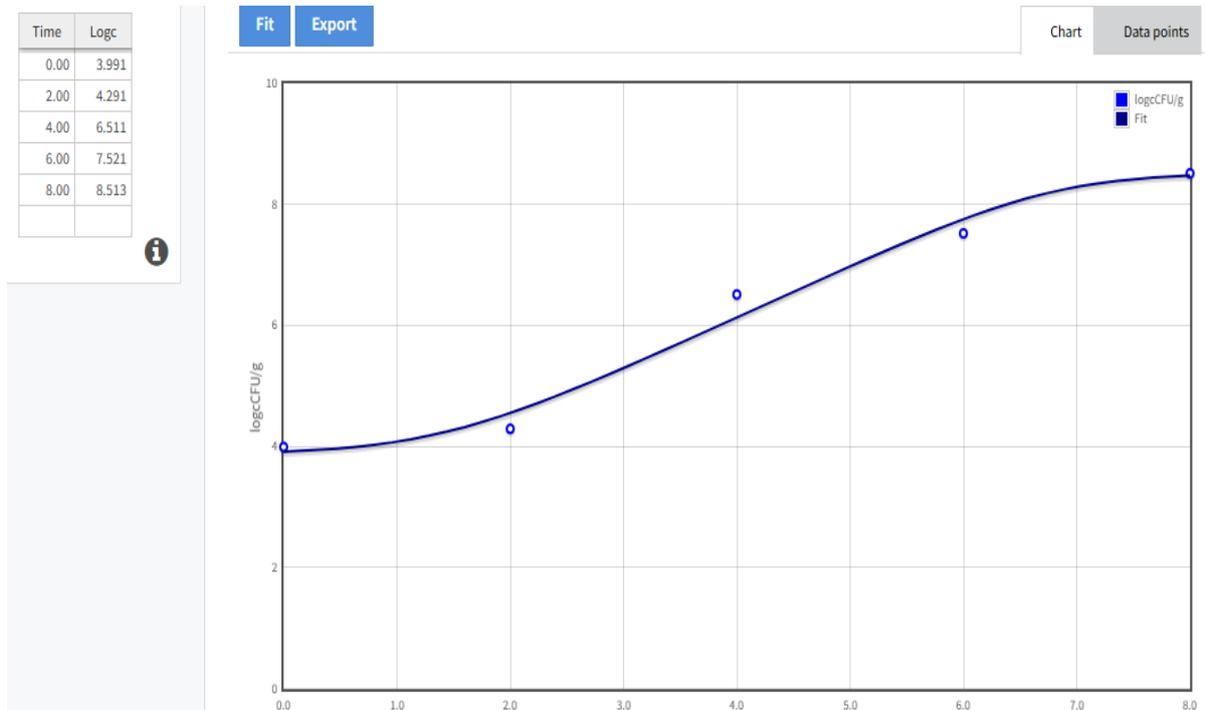
**Annexe 07 :** L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à 10 mg/mL, obtenue par le modèle **Baranyi et Roberts** (Combase).



**Annexe 08 :** L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à 5 mg/mL, obtenue par le modèle **Baranyi et Roberts** (Combase).



**Annexe 09 :** L'évolution de la croissance microbienne du lait réfrigéré à 4°C additionné de l'extrait aqueux de *Cymbopogon citratus* à 2,5 mg/mL, obtenue par le modèle **Baranyi et Roberts** (Combase).



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

Echantillons Jours	T	C1	C2	C3
J0	7,62	7,32	7,23	6,52
J2	6,38	6,65	6,5	6,41
J4	5,36	5,18	5,05	4,86
J6	4,62	4,67	4,41	4,4
J8	4,54	4,51	4,27	4,3

**Annexe 11 :** Variation de l'acidité de différents échantillons du lait durant 8 jours.

Echantillons Jours	T	C1	C2	C3
J0	25	25	20	10
J2	40	40	42	50
J4	60	80	85	100
J6	70	110	110	120
J8	100	120	122	130

## Résumé

Le lait pasteurisé, malgré le traitement thermique appliqué, reste sensible à l'altération microbienne durant la conservation. L'utilisation de composés naturels d'origine végétale suscite un intérêt croissant pour améliorer sa stabilité microbiologique. Le présent travail a pour but d'évaluer l'effet de l'ajout de l'extrait aqueux du *Cymbopogon citratus* sur la dynamique de la croissance microbienne globale et la qualité physico-chimique du lait pasteurisé durant sa conservation réfrigérée. Trois concentrations de l'extrait aqueux ont été testées pour déterminer les paramètres cinétiques de la croissance bactérienne ( $X_{initiale}$ ,  $X_{max}$ ,  $\mu_{max}$  et la phase de latence  $\lambda$ ): 10 mg/mL (C1), 5 mg/mL (C2) et 2,5 mg/mL (C3), en comparant avec un témoin sans addition. L'évolution du pH et l'acidité titrable ( $^{\circ}D$ ) ont été aussi suivies. Le rendement d'extraction aqueuse de la citronnelle a été satisfaisant, 10,697%, et les résultats obtenus ont montré que son ajout au lait n'a pas permis d'inhiber significativement la croissance microbienne par rapport à l'échantillon témoin. Les valeurs de  $X_{initiale}$  (3,65 à 3,89 Log UFC/mL) et  $X_{max}$  (8,521 à 8,703 Log UFC/mL) ont été restées proches de celles du témoin (3,77 et 8,431 log UFC/mL respectivement). De même, les vitesses spécifiques de croissance ( $\mu_{max}$ ) n'ont pas montré de diminution marquée, atteignant même des valeurs légèrement supérieures pour certaines concentrations (jusqu'à 1,02 Log UFC/mL/h pour C1). La phase de latence a également varié légèrement (1,432 à 1,624 h), sans retard significatif de la croissance microbienne. Concernant l'acidité et le pH, une augmentation progressive de l'acidité et une diminution du pH ont été observées dans tous les échantillons au fil du temps, traduisant l'activité métabolique des bactéries lactiques durant la conservation. Nous pouvons conclure que l'extrait de *C. citratus*, dans les concentrations testées et sous la forme aqueuse, n'a pas exercé d'effet conservateur significatif sur la flore totale aérobie mésophile du lait pasteurisé.

**Mots clés :** *Cymbopogon citratus*, lait pasteurisé, extrait aqueux, lait additionné, effet bioconservateur.

## Abstract

Pasteurized milk, despite the applied heat treatment, remains susceptible to microbial alteration during storage. The use of natural compounds of plant origin is attracting increasing interest to improve its microbiological stability. The present work aims to evaluate the effect of the addition of the aqueous extract of *Cymbopogon citratus* on the dynamics of overall microbial growth and the physicochemical quality of pasteurized milk during its refrigerated storage. Three concentrations of the aqueous extract were tested to determine the kinetic parameters of bacterial growth (initial X, max X, max  $\mu$  and the lag phase  $\lambda$ ): 10 mg/mL (C1), 5 mg/mL (C2) and 2.5 mg/mL (C3), comparing with a control without addition. The evolution of pH and titratable acidity ( $^{\circ}D$ ) were also monitored. The aqueous extraction yield of lemongrass was satisfactory, 10.697%, and the results obtained showed that its addition to milk did not significantly inhibit microbial growth compared to the control sample. The values of X initial (3.65 to 3.89 Log CFU/mL) and X max (8.521 to 8.703 Log CFU/mL) remained close to those of the control (3.77 and 8.431 log CFU/mL respectively). Similarly, the specific growth rates ( $\mu_{max}$ ) did not show a marked decrease, even reaching slightly higher values for some concentrations (up to 1.02 Log CFU/mL/h for C1). The lag phase also varied slightly (1.432 to 1.624 h), without significant delay in microbial growth. Regarding acidity and pH, a gradual increase in acidity and a decrease in pH were observed in all samples over time, reflecting the metabolic activity of lactic acid bacteria during storage. We can conclude that the *C. citratus* extract, at the tested concentrations and in aqueous form, did not exert a significant preservative effect on the total mesophilic aerobic flora of pasteurized milk.

**Keywords:** *Cymbopogon citratus*, pasteurized milk, aqueous extract, supplemented milk, biopreservative effect.

## ملخص

يظل الحليب المبستر، على الرغم من المعالجة الحرارية المطبقة، عُرضةً للتغيرات الميكروبية أثناء التخزين. ويحظى استخدام المركبات الطبيعية ذات الأصل النباتي باهتمام متزايد لتحسين استقراره الميكروبيولوجي. يهدف هذا العمل إلى تقييم تأثير إضافة المستخلص المائي لنبات (*Cymbopogon citratus*) على ديناميكيات النمو الميكروبي الكلي والجودة الفيزيائية والكيميائية للحليب المبستر أثناء تخزينه المبرد. اختُبرت ثلاثة تراكيز من المستخلص المائي لتحديد المعلمات الحركية لنمو البكتيريا ( $X_{الابتدائي}$ ،  $X_{الاقصى}$ ،  $\mu_{الاقصى}$ ، ومرحلة التأخر  $\lambda$ ): 10 ملغ/مل (C1)، 5 ملغ/مل (C2)، و 2.5 ملغ/مل (C3)، وذلك بالمقارنة مع عينة ضابطة بدون إضافة. كما رُصد تطور الرقم الهيدروجيني (pH) والحموضة القابلة للمعايرة ( $^{\circ}D$ ). كان العائد من الاستخلاص المائي لعشبة الليمون مرضياً بنسبة 10.697%، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن إضافته إلى الحليب لم يُثبط نمو الميكروبات بشكل كبير مقارنةً بعينة التحكم. وظلت قيم  $X_{الأولية}$  (3.65 إلى 3.89 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل) و  $X_{القصى}$  (8.521 إلى 8.703 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل) قريبة من قيم عينة التحكم (3.77 و 8.431 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل على التوالي). وبالمثل، لم تُظهر معدلات النمو النوعية (ميكرومتر أقصى) انخفاضاً ملحوظاً، بل وصلت إلى قيم أعلى قليلاً لبعض التركيزات (حتى 1.02 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل/ساعة لـ C1). كما تبينت مرحلة التأخر قليلاً (1.432 إلى 1.624 ساعة)، دون تأخير كبير في نمو الميكروبات. وفيما يتعلق بالحموضة والرقم الهيدروجيني، لوحظت زيادة تدريجية في الحموضة وانخفاض في الرقم الهيدروجيني في جميع العينات بمرور الوقت، مما يعكس النشاط الأيضي لبكتيريا حمض اللاكتيك أثناء التخزين. نستنتج أن مستخلص فطر سيمبوبوغون ستراتوس، بالتركيزات المختبرة وفي المستخلص المائي، لم يُظهر تأثيراً حافظاً يُذكر على إجمالي البكتيريا الهوائية المحبة للحرارة المتوسطة في الحليب المبستر.

**الكلمات المفتاحية:** *Cymbopogon citratus*، حليب مبستر، مستخلص مائي، حليب مُضاف، تأثير حافظة حيوية.