



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Larabi Amel

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE

Thème

**Effet de l'utilisation de l'huile essentielle de
Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) sur
la croissance de *Staphylococcus aureus* et
Escherichia coli dans le fromage blanc réfrigéré.**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Mr. Allali khadidja	MCB.	Président
Mr. Mokhtar Rahmani Mohamed	MAA.	Examineur
Mr. Houicher Abderrahmane	Pr.	Rapporteur
Mr. Djokhdem Laid	MAA.	Co-Rapporteur

Promotion : Juin – 2021

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عمار ثليجي- الاغواط

كلية: العلوم

قسم العلوم الفلاحية

مذكرة ماستر

تقديم الطالبة: لعرابي امال

ميدان: علوم الطبيعية والحياة

شعبة: علوم غذائية

تخصص: صناعات غذائية ومراقبة النوعية

موضوع البحث

تأثير استخدام زيت عطري من العرعر الفينيقي (*Juniperus phoenicea*) على نمو *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* تم زرعها في الجبن الأبيض.

أعضاء لجنة المناقشة:

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية :	الصفة
السيدة علالي خديجة	أستاذ محاضر ب	رئيسا
السيد مختار رحمانى محمد	أستاذ مساعد أ	ممتحن
السيد هويشر عبد الرحمن	أستاذ تعليم عالي	مقرا
السيد جخدم العيد	أستاذ مساعد أ	مقرا مساعدا

الدفعة جوان-2021

Remerciement

Avant tout, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la santé, le courage et les moyens pour suivre nos études et la volonté, la patience et la chance pour la réalisation de ce travail.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre Monsieur Pr. Houicher Abderrahmane pour avoir accepté de diriger ce travail, pour sa patience, sa disponibilité.

Et sincères remerciements à Monsieur Dr. Djokhdem Laid pour avoir accepté d'être Co-promoteur et pour son aide dans le laboratoire.

Nous remercions également :

Dr. Allali khadidja pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Dr. Mokhtar Rahmani Mohamed pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont aussi à :

Dr. Benramdhan T et les ingénieurs de laboratoire, tous les enseignants, particulièrement les enseignants de la spécialité Sciences Alimentaires.

Pr. Yousfi M et Dr. Harath M (Laboratoire des sciences fondamentales).

Conclusion et Perspectives

Le présent travail a permis d'étudier l'effet de l'huile essentielle (HE) de *Juniperus phoenicea* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* inocuées dans le fromage blanc durant son stockage réfrigère à 4°C. Le rendement moyen d'extraction de l'huile essentielle de la plante *J. phoenicea* était d'environ 0.95% (m/m). De plus, le traitement par 0.5% (m/m) de l'HE de *J. phoenicea* a montré un effet très remarquable sur la réduction de la croissance de *S. aureus* et *E. coli* inocuées dans le fromage blanc durant la période de conservation à 4 °C, par rapport au témoin. D'après la littérature, cette huile essentielle de *J. phoenicea* constitue une source intéressante de molécules bioactives, tels que les terpènes et les alcools. Ils sont largement utilisés en pharmacie pour réduire la prolifération des microorganismes pathogènes.

En générale, les produits laitiers, comme le fromage blanc, sont l'une des produits sensibles à l'altération microbienne et peuvent causer des toxi-infections alimentaires collectives. Dans la présente étude, l'ajoute de l'HE *J. phoenicea* a effectivement réduit la croissance de *S. aureus* et *E. coli*. Bien que les souches testées n'aient pas été complètement inhibées, l'huile essentielle a permis de réduire efficacement la prolifération de ces agents pathogènes d'origine alimentaire dans le fromage blanc frais. Un tel retard de croissance des bactéries pathogènes pourrait notamment être utile en termes de sécurité alimentaire. Ces résultats mettent en évidence les avantages potentiels de l'utilisation de l'huile essentielle de *J. phoenicea* comme antimicrobien naturel dans les produits fromagers. Cependant, des enquêtes réglementaires et toxicologiques sont nécessaires avant d'utiliser cet antimicrobien comme additif alimentaire.

Enfin et pour faire suite à cette étude, plusieurs pistes de travail peuvent être envisagées comme perspectives :

- Caractériser la composition chimique de l'huile essentielle de *J. phoenicea*, afin de déterminer les composés majoritaires de cette huile,
- Etudier l'effet de l'HE de *J. phoenicea* sur la production de toxines Staphylococciques (*Staphylococcus aureus*) et Shiga-toxine (*Escherichia coli*) dans les matrices alimentaires,

- Tester l'effet de l'HE de *J. phoenicea* sur la croissance des autres germes pathogènes responsable des toxi-infections collectives comme *Salmonella* et *Listeria*.
- Enfin, il est nécessaire d'élargir et d'approfondir l'étude sensorielle liée à l'utilisation et la combinaison des HEs de plantes dans différents types de fromages.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avant à mes chers parents, qui ont tout sacrifié pour mon bien et qui ont éclairé ma route par leur compréhension, leur soutien. Je souhaite que dieu les garde en bonne et parfaite santé et leur donne une longue vie.

A mes frères Allal et Abed et petite sœur Imane, et mes meilleurs amis, Noufel et Basma.

A mes amies et mes collègues d'étude de la spécialité agroalimentaire et contrôle de qualité et promotion (2021/2021).

Nom et prénom : Larabi Amel

Thème : Effet de l'utilisation de l'huile essentielle de Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* inoculées dans le fromage blanc réfrigéré.

Résumé

Le présent travail a permis d'étudier l'effet de l'huile essentielle (HE) de *Juniperus phoenicea* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* inoculées dans le fromage blanc durant son stockage réfrigère à 4°C. après extraction d'huile essentielle de *juniperus phoenicea* et l'application de cette huile et l'inoculum de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sur le fromage blanc. Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *J. phoenicea* est de 0.95 % (m/m). De plus, le traitement par 0.5% (v/v) de l'HE de *J. phoenicea* a montré une fluctuation des valeurs de pH dans les groupes traités où les valeurs les faibles sont enregistrées dans le groupe traité et inoculé par *S. aureus*. Ce traitement a également exercé un effet très remarquable sur la réduction de la croissance de *S. aureus* et *E. coli* inoculées dans le fromage blanc durant la période de conservation à 4 °C, par rapport au témoin. Bien que les souches testées n'aient pas été complètement inhibées, l'huile essentielle a permis de réduire efficacement la prolifération de ces agents pathogènes d'origine alimentaire dans le fromage blanc. L'étude présente un grand intérêt pour l'industrie agroalimentaire car elle met en évidence les avantages potentiels de l'utilisation de l'huile essentielle de *J. phoenicea* comme antimicrobien naturel dans les produits fromagers.

Mots clés : *Juniperus phoenicea*, Huile essentielle, pH, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Fromage blanc.

Name and surname: Larabi Amel

Theme: Effect of the use of essential oil of Juniper of Phenicia (*Juniperus phoenicea*) on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* inoculated in refrigerated white cheese.

Abstract

The present work studied the effect of essential oil (EO) of *Juniperus phoenicea* on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* inoculated into white cheese during refrigerated storage at 4 °C. After extraction of essential oil of *Juniperus phoenicea* and application of this oil and the inoculum of *staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on the white cheese. The yield of essential oil from the aerial part of *J. phoenicea* is 0.95% (m/m). In addition, the treatment with 0.5% (v/v) of the EO of *J. phoenicea* showed a fluctuation of the pH values in the treated groups where the low values were recorded in the treated group inoculated with *S. aureus*. This treatment also exerted a very remarkable effect on the reduction of the growth of *S. aureus* and *E. coli* inoculated in the white cheese during the storage period at 4 °C, compared to the control. Although the strains tested were not completely inhibited pathogenic bacteria, the essential oil effectively reduced the proliferation of these food-borne pathogens in white cheese. The study is of great interest to the food industry because it highlights the potential benefits of using *J. phoenicea* essential oil as a natural antimicrobial in cheese products.

Keywords: *Juniperus phoenicea*, Essential oil, pH, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, White cheese.

الاسم واللقب: لعرابي امال

الموضوع: تأثير استخدام زيت عطري من العرعر الفينيقي (*Juniperus phoenicea*) على نمو *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* تم زرعها في الجبن الأبيض.

الملخص

أتاح العمل الحالي دراسة تأثير الزيت العطري (EO) من *Juniperus phoenicea* على نمو *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* تم زرعها في الجبن الأبيض أثناء التخزين المبرد عند 4 درجات مئوية. بعد استخراج الزيت الأساسي لـ *Juniperus Phoenicea* وتطبيقه مع بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* على الجبن الأبيض. مردود الزيت العطري للجزء الهوائي من *Juniperus phoenicea* هو 0.95% (م / م). بالإضافة إلى ذلك، أظهرت المعاملة بـ 0.5% (حجم / حجم) من الزيت العطري لـ *J. phoenicea* تذبذباً في pH في المجموعات المعالجة حيث تم تسجيل القيم المنخفضة في المجموعة المعالجة بـ *S. aureus*. كان لهذه المعاملة أيضاً تأثير ملحوظ للغاية في الحد من نمو بكتيريا *S. aureus* و *E. coli* التي تم زرعها في الجبن الأبيض خلال فترة التخزين عند 4 درجات مئوية، مقارنةً بالشاهد. على الرغم من أن السلالات المختبرة لم يتم تثبيطها كلياً، إلا أن الزيت العطري قلل بشكل فعال علي نمو مسببات الأمراض التي ينقلها الجبن الأبيض. الدراسة ذات أهمية كبيرة لصناعة المواد الغذائية لأن هذه النتائج تسلط الضوء على الفوائد المحتملة لاستخدام زيت عطري *J. phoenicea* كمضاد طبيعي للميكروبات في منتجات الجبن.

الكلمات المفتاحية: *Juniperus phoenicea* ، زيت عطري، pH، *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli*، الجبن الأبيض.

Table des matières

	Page
Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1
 Partie I Etude bibliographique	
 Chapitre 1 Généralité sur le fromage blanc	
1. Historique et origine de fromage.....	3
2.1 Fromage.....	3
2.1.1 Définition.....	3
2.2 Composition du fromage.....	4
2.3 Classification du fromage.....	4
3. Fromage blanc frais « Jben »	5
3.1. Définition :.....	5
3.2. Fabrication du fromage.....	5
3.2.1. Maturation.....	5
3.2.2. La coagulation.....	5
3.2.3. L'égouttage.....	6
4. Les enzymes coagulantes utilisées en technologie fromagère.....	6
4.1 Enzymes coagulants le lait.....	6
4.1.1 Enzymes coagulantes d'origine animale.....	6
4.1.1.1 La Présure.....	6
4.1.2 Enzymes Coagulantes d'origine végétale.....	7

5. Microflore du fromage.....	7
5.1. Flore originelle.....	7
5.1.1. Les bactéries lactiques.....	7
5.1.2. Champignons microscopiques.....	8
5.1.2.1. Levures.....	8
5.1.2.2. Moisissures.....	8
5.1.2.3. Flore de contamination.....	8

Chapitre 2 Intoxication alimentaire collective des produits laitiers

1. Les intoxications alimentaires.....	9
1.1. L'infection alimentaire.....	9
1.2. L'intoxication alimentaire.....	9
1.3. L'intoxination alimentaire.....	10
1.4. Les toxi-infections alimentaires collectives (T.I.A.C).....	10
1.5. Toxi-infections à <i>Escherichia coli</i>	10
1.6. Intoxination Staphylococcique.....	11
2. Aliments à risques.....	12
2.1. Produits laitiers.....	12
2.1.1. Fromages à pâte molle.....	12
2.1.2. Fromage blanc.....	13
2.1.3. Mécanisme de l'intoxication par le fromage.....	13

Chapitre 3 : Extraits de plantes

1. Les huiles essentielles.....	14
1.2. Composition chimique des huiles essentielles.....	14
1.3. Activité biologique des huiles essentielles.....	14

2. Généralités sur le <i>Juniperus phoenicea</i>	15
2.1. Description botanique.....	15
2.2. Classification et systématique de <i>Juniperus Phoenicea</i>	16
2.3. Habitat.....	17
2.4. Caractéristiques écologiques.....	18
2.5. Exigences climatiques	18
2.6. Composition chimique de l'huile de <i>Juniperus phoniecea</i>	18
2.7. Usages thérapeutiques.....	18

Partie III Etude expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif	20
2. Matériel végétale.....	20
2.1. Extraction de l'huile essentielle	21
2.2. Calcul du rendement en huile essentielle.....	22
3. Matériel biologique	22
4. Fabrication de J'ben :.....	23
4.1. L'application de l'huile essentielle et l'inoculum de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i> sur le fromage blanc.....	25
4.2 Mesure de pH	25
5. Analyses bactériologiques	26
5.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	26
5.2. Dénombrement des <i>Escherichia coli</i>	27
5.3. Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	27
5.4. Calcule des charges bactériennes	28

6. Analyses statistiques.....	28
Résultats et discussion	
1. Le rendement de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>	30
2. Propriétés organoleptique de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>	30
3. Résultats de pH.....	31
4. Résultats des analyses bactériologiques.....	32
4.1. Dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	33
4.2. Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i>	34
5. Discussion	36
Conclusion et perspectives	39
Références bibliographiques	41

Liste des tableaux

Tableau N°01 :	Composition moyenne des principaux fromages pour 100 g.	4
Tableau N°02 :	Classification de fromages	4
Tableau N°03 :	Composition de jben	5
Tableau N°04 :	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>	30
Tableau N°05 :	Tableau récapitulatif des résultats du pH de fromage blanc réfrigérer traité par 0.5% de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>	31
Tableau N°06 :	Tableau récapitulatif des résultats de la charge bactérienne de fromage blanc réfrigérer traité par 0.5% de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>	33

Liste des figures

Figure N°01 :	<i>Escherichia coli</i> coloré au microscope électrique à balayage (MEB) agrandissement (x8600)	11
Figure N°02 :	Micrographie électronique à <i>Staphylococcus aureus</i> sous un grossissement balayage (MEB) montre une souche de la bactérie	11
Figure N°03 :	Aspect du genévrier de Phénicie	15
Figure N°04 :	Feuilles et fruits de <i>J. phoenicea</i>	16
Figure N°05 :	Localisation géographique d'Oued Morra entourant, le site de récolte de Genévrier de Phénicie.	20
Figure N°06 :	Le Genévrier de Phénicie (<i>Juniperus phoenicea</i>) séchée et broyée en poudre	21
Figure N°07 :	Montage d'un hydrodistillateur de type Clevenger	21
Figure N°08 :	Spectrophotomètre de type biochrom Libra S6 (80-5000-10, UK)	23
Figure N°09 :	Diagramme de fabrication du fromage blanc (J'ben)	24
Figure N°10:	pH Spear Food Testing	26
Figure N°11 :	Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.	27
Figure N°12 :	Huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> obtenue par hydrodistillation	30
Figure N°13 :	Courbe croissance de pH de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i> durant la période de conservation dans le fromage blanc.	32
Figure N°14 :	Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Baird Parker	33
Figure N°15 :	Aspect d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu EMB	35

Liste des abréviations

AFNOR	Association française de normalisation
FAO	Food Agricultural Organisation
HE	Huile essentielle
INVS	Institut de veille sanitaire
MDO	Maladie infectieuse à déclaration obligatoire
Oms	Organisation Mondiale de Sante
T.I.A.C	Toxi-infections alimentaires collectives
R (%)	Rendement en huile essentielle

Introduction

Introduction

Les produits laitiers sont l'une des causes d'intoxication alimentaire les plus répondues chez l'homme. Parmi les produits laitiers traditionnels fabriqués en Algérie « le jben » c'est un fromage frais préparé traditionnellement à partir du lait cru de vache, de brebis ou de chèvre. Les bactéries présentes dans le lait sont dans la plupart des cas des auxiliaires de fabrication essentiels car elles participent à l'évolution du fromage au cours de l'affinage. Mais il existe aussi dans le lait des bactéries qui peuvent être dangereuses pour la sécurité alimentaire. La sécurité alimentaire constitue un défi permanent pour la filière laitière, car le lait est une matière première fragile qui, du fait de sa richesse alimentaire, est sensible à la contamination microbienne. Les principales bactéries pathogènes pour l'homme retrouvées dans le lait et les produits laitiers sont les coliformes (et particulièrement *Escherichia coli*), les staphylocoques, les streptocoques, des bactéries des genres *Clostridium*, *Bacillus*, *Salmonella* et *Listeria* (Unger et Munstermann, 2001).

Staphylococcus aureus et *Escherichia coli* sont souvent présentes dans les aliments couramment consommés comme le lait cru et les produits laitiers. Le staphylocoque doré ou *S. aureus* est une source constante d'infection, parfois mortelles, qui accompagnent l'homme au quotidien. L'intoxication alimentaire par staphylocoque est un problème majeur dans les programmes de santé publique du monde entier. L'évaluation du risque microbien pour *S. aureus* repose sur la l'identification et la quantification des isolats positifs à la coagulase dans les produits finis (Le Loiret et al., 2003) et le contrôle de cet agent dans les produits alimentaires devient une préoccupation majeure dans la politique de santé publique. De plus, *E. coli* est l'organisme facultatif prédominant dans le tube digestif humain. La présence régulière d'*E. coli* dans l'intestin et les fèces humains a conduit à définir la bactérie comme un indicateur de pollution fécale des produits alimentaires et de l'eau.

Puisque ces souches sont multirésistances, plusieurs études ont été réalisées pour trouver des solutions alternatives en utilisant les huiles essentielles des plantes aromatiques. Ces extraits ont été ajoutés comme alternative aux additifs synthétiques pour inhiber la croissance de pathogènes d'origine alimentaire (Gyawali et Ibrahim, 2014). L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût, aromatiser et colorer les aliments. D'autre part, les huiles essentielles possèdent des profils de composition chimique différents permettant de les utiliser comme agents naturels de conservation des aliments (Kehal, 2013).

Le Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) est une herbe populaire, appartient à la famille des Cupressacées, ses extraits (huile essentielle et extrait brut) ont été utilisés en médecine comme anti-inflammatoire, antimicrobienne, antifongique, antiseptique et diurétique (Ouelbani et al., 2016). L'utilisation d'huiles essentielles dans les aliments en tant que conservateurs est limitée en raison de l'odeur et du goût forts de ces substances lorsqu'elles sont utilisées à des doses efficaces. Cette efficacité est diminuée lorsqu'elles sont ajoutées à des matrices alimentaires compliquées par rapport aux milieux de culture microbiologiques (Soković, 2007).

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet de l'huile essentielle (HE) de *J. phoenicea* sur la croissance de *S. aureus* et *E. coli* inoculées dans le fromage blanc durant son stockage réfrigère à 4°C. Le fond de ce travail comprend deux grandes parties, la première partie est consacrée à l'étude bibliographique qui est scindée en trois chapitres :

- Des généralités sur le fromage blanc,
- Des données bibliographiques sur les intoxications alimentaires collectives provoquées par la consommation des produits laitiers,
- Une synthèse sur les huiles essentielles notamment l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

La deuxième partie ou la partie expérimentale s'intéresse au matériel et aux méthodes mises en œuvre pour réaliser ce travail, et traite les différents résultats obtenus au cours de cette étude ainsi que leur discussion. Enfin, ce travail est terminé par une conclusion générale et des perspectives.

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre 01 : Généralité sur le fromage blanc

1 Historique et origine de fromage

Le fromage de l'ancien français « fromage » du latin « *fonnaticus* » c'est -à-dire fait dans une forme. La première occurrence de l'utilisation du fromage comme aliment est inconnue, les ethnologues tiennent preuve que l'homme connue depuis longtemps le phénomène de coagulation du lait, des moules à caillé datant de 5000 ans av J-c, cependant l'origine exacte de la transformation du lait en fromage est incertaine, s'entend pour dire que le fromage serait originaire du sud-ouest asiatique et daterait d'environ 8000 ans, les romains auraient stimulés le développement de nouvelles variétés durant leur invasion de l'Europe entre 60 av. J-C et 300 après J-C, leur influence est reflété dans l'étymologie ; en effet le mot latin *caseus*, signifiant fromage est la racine donnera le mots caséine en français, nom qui désigne protéine coagulable du lait (**Gelais et al.2002**).

Il est probable que les fromages aient été la première fois faits accidentellement en transportant du lait dans des estomacs de mammifères. Il s'agissait en effet d'une pratique courante dans les temps anciens, en Europe de l'Est et en Asie de l'Ouest, pour transporter le lait. Certains facteurs ont été certainement nécessaires à la transformation du lait en fromage comme chaleur, l'acidité et les sucs de l'estomac. Ainsi, des extraits d'estomac de plusieurs types d'animaux (moutons, chèvres, vaches), mais également des extraits de plantes (comme le chardon) ont été utilisés pour la préparation des fromages (**Abi azar, 2007**).

2.1 Fromage

2.1.1 Définition

Le fromage est défini par le décret n° 88-1206 du 30 décembre 1988 de la manière suivante « La dénomination « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière (**Zeller, 1980**).

Le fromage, selon la norme **Codex Alimentaire (2013)**, est le produit solide ou semi-solide, frais ou affiné, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséines ne dépasse pas celui du lait.

2.2 Composition du fromage

Le fromage est un aliment de base, riche en graisses, protéines, calcium et phosphore, à longue conservation en comparaison de la durée de conservation du lait à partir duquel il est fabriqué.

Tableau01 : Composition moyenne des principaux fromages pour 100 g (Eck et Gillis, 2006)

Constituants	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu
Eau(g)	80	50	48
Glucides(g)	4	4	2.5
Protéines(g)	7.5	24	22
Lipides(g)	8,5	20	18
Vitamine (UI)	100	400	680
Calcium(mg)	40	700	1650
Sodium(mg)	170	1010	1200

2.3 Classification du fromage

La diversité des modes de fabrication des fromages et la variété des produits obtenus, ont conduit les spécialistes à des classifications usuelles. La classification la plus explicite est celle de **Pernodet (1984)**. Les fromages sont classés en fonction de la méthode de caillage (lactique ou présure), du mode d'égouttage et du type d'affinage appliqué.

Tableau02 : Classification de fromages (FAO/OMS., (1999))

Type	Caractéristique	Exemple
Fromages frais à pâte fraîche	Caillé lactique, égouttage peu poussé, pas d'affinage	Fromage blanc, petits suisses
Fromages à pâte molle	pas d'égouttage, affinage	Camembert
Fromages à pâte pressée cuite	Caillé mixte / présure, pressage, affinage	Gouda, cheddar
Fromages à pâte pressée non cuite	Caillé présure, chauffage du caillé, pressage, affinage	Tomme, Comté

3. Fromage blanc frais « Jben » :

3.1. Définition :

Le « Jben » est le fromage frais le plus connu et consommé depuis longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le « Jben » à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du « Jben », utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du « Jben », et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées sous la dénomination populaire commune de "Jben" (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

Tableau03 : Composition de jben (**Abdelaziz et Ait Kaci, 1992**)

Composition du Jben	Eau	Matière grasse	Protéine	Calcium
Les valeurs	65,27	18,72	13,73	0,14

3.2. Fabrication du fromage

La fabrication de fromages comprend toujours les trois phases initiales suivantes : Maturation, coagulation, égouttage (**Vignola, 2002**).

3.2.1. Maturation

C'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par adjonction de levains (**Randazo et al., 2009**).

3.2.2. La coagulation

C'est l'étape durant laquelle le lait passe de l'état liquide à l'état solide en formant un gel.

La coagulation du lait peut se faire selon deux voies :

a) Coagulation par voie acide

Elle consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique ($pH_i=4,6$) par acidification biologique à l'aide de bactéries productrices d'acide lactique (bactéries lactiques contaminant à l'état naturel le lait ou apportées sous forme de levains) (Mahaut et al., 2005).

b) Coagulation enzymatique

Elle est obtenue par l'hydrolyse des caséines par des enzymes protéolytiques de diverses origines. Certaines sont d'origine animale comme la présure (composée de 80% de chymosine et 20% de pepsine), d'autres sont d'origine végétale comme la cyprosine et le cardosine (gaillet, figuier et chardon), ou microbienne (*Mucor pusillus*, *Endothia parasitica*) (Bendimerad, 2013).

3.2.3 L'égouttage

Se traduit par une élimination progressive du lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement corrélatif du gel. Il s'agit donc d'une phase essentielle qui conditionne directement la composition du fromage (Eck et Gillis, 1997).

4 Les enzymes coagulantes utilisées en technologie fromagère

4.1 Enzymes coagulants le lait

Les enzymes coagulantes sont des enzymes protéolytiques retrouvées chez tous les organismes vivants. Ce sont des endopeptidases appartenant à la famille des protéinases aspartiques car elles possèdent deux résidus dans le site actif impliqués de manière décisive dans la catalyse (Rawlings et al., 2004). Elles sont utilisées depuis très longtemps dans la fabrication de fromage. Actuellement, la présure de veau est la plus largement utilisée en fromagerie (Mahaut et al., 2000 ; Ramet, 2006).

4.1.1 Enzymes coagulantes d'origine animale

4.1.1.1 La Présure

La présure est une enzyme protéolytique, extraite de la quatrième poche de l'estomac (abomasum ou caillette) des jeunes ruminants nourris exclusivement au lait (avant sevrage) (Eck et Gillis, 1997). Elle est composée de chymosine et de pepsine.

a) La chymosine

C'est la protéase majeure responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale (Eck et Gillis, 1997). Appartenant au groupe des protéases acides. Elle comporte 323 acides aminés. Elle est stable aux pH (5.3 à 6.3), inactivée aux pH 7 (vers 7.5) et dénaturée à pH. L'inactivation thermique à lieu 50 °C, elle est totale à 61°C (Scriban, 1999).

b) La pepsine

C'est le constituant mineur de la présure dont la sécrétion gastrique ne devient prépondérante qu'après sevrage (Ramet, 1993). La pepsine est relativement stable à des pH compris entre 5 et 5,5. Son activité enzymatique est plus élevée entre pH 1 et 4 avec un maximum vers 1,8 et varie selon la nature du substrat. C'est une enzyme thermosensible en solution après 55°C. Elle est dénaturée à des températures à 70°C (Graiday, 1978).

4.1.2 Enzymes Coagulantes d'origine végétale

De très nombreuses préparations coagulantes sont issues du règne végétal et sont extraites par macération de différentes parties de plantes supérieures (Eck et Gillis, 1997). On retrouve la papaine (feuilles de papaye), la broméline (tige de l'ananas) et la ficine (suc du figuier). (Llorente et al., 2004 ; Low et al., 2006 ; Egito et al., 2007). L'extrait coagulant de *Cynara cardunculus* (une variété de chardon) a été largement utilisé pour la fabrication traditionnelle de fromages de brebis (Roseiro et al., 2003). Trois protéases aspartiques (cynarase 1 à 3) ont été identifiées dans cet extrait (Heimgartner et al., 1990).

5. Microflore du fromage

5.1. Flore originelle

Les microorganismes occupent une place essentielle dans le domaine des produits laitiers et leur importance se situe à trois niveaux : l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits (Hermier et al., 1992).

5.1.1. Les bactéries lactiques

Elles appartiennent principalement à trois genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* qui se différencient, entre autres, par leur activité acidifiante (**Hassan et MonierDilhan, 2003 ; Chamba, 2008**).

5.1.2. Champignons microscopiques

5.1.2.1. Levures

Parmi les nombreuses espèces de levures comme *Kluyveromyces*, *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces*, *Candida* et *Yarrowia* peuplant le lait, seules certaines espèces peuvent se maintenir dans le caillé. Elles produisent des composés d'arôme (**Bouix et Leveau, 1993**).

5.1.2.2. Moisissures

Elles jouent un rôle très actif dans l'affinage de certains fromages, citons *penicillium caseicolum* dans le fromage de Brie, *Penicillium camembertii* et *Geotrichum* dans le Camembert. Ces moisissures ont une activité lipolytique et protéolytique intense. La caséine, les graisses du caillé sont métabolisées en un grand nombre de composés concurrent largement au développement des qualités organoleptiques du fromage (**Ghenem et Mechalikh, 2017**).

5.1.2.3. Flore de contamination

D'après **Eck et Gillis (2006)** le fromage est un aliment très susceptible aux contaminations, la présence de contaminants varie selon la capacité de leur développement.

Ces microorganismes responsables d'altération sont : Les bactéries (Les coliformes, les bactéries psychrotrophes (genre *Pseudomonas* principalement mais également *Bacillis*), les bactéries butyrique (*Clostridium tyrobutyricum*), levures et moisissures.

Les microorganismes potentiellement pathogènes sont *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes* (**Hermier J., Lenoir J., Weber F., (1992)**).

Chapitre 02 : Les intoxications alimentaires collectives

1. Les intoxications alimentaires

L'intoxication alimentaire est une maladie courante généralement bénigne mais qui, parfois, peut être mortelle. Elle se produit lorsqu'une personne ingère un aliment ou une boisson contaminée par une bactérie ou une toxine. Il peut arriver, très rarement, que les toxines provenant de produits chimiques ou de pesticides causent une intoxication alimentaire (**Schlundt et al, 2010**).

Lors d'une intoxication, les signes cliniques sont dus à l'action d'une toxine bactérienne qui a été préformée dans la denrée alimentaire. Le délai d'incubation est alors court puisqu'aucune multiplication bactérienne n'est nécessaire. L'évolution est apyrétique puisqu'aucun phénomène infectieux n'est associé. L'exemple type est celui des intoxications par les entérotoxines staphylococciques (**Fleming, 2014**).

1.1. L'infection alimentaire

Les infections alimentaires sont des maladies d'origine alimentaire qui surviennent lors de l'ingestion d'aliments ou de boissons contaminées par des microorganismes pathogènes (bactéries, virus, parasites), suivie d'une multiplication dans l'hôte, accompagnée par une invasion tissulaire et/ou la libération de toxines qui causent par la suite des troubles (**Prescott et al., 2010**).

Le trouble majeur de ces infections alimentaires est la gastro-entérite qui est une inflammation de la muqueuse de l'estomac, de l'intestin grêle, et du gros intestin. En général, la personne souffre de diarrhée aiguë (déshydratation), de nausées, de vomissement et de douleurs abdominales.

Le diagnostic se base sur les antécédents de contact récent avec des aliments contaminés ou de l'eau contaminée ou avec des personnes infectées (**Thomas et Boyce, 2019**).

1.2. L'intoxication alimentaire

Les intoxications alimentaires résultent de l'ingestion d'aliments contaminés des germes qui prolifèrent dans l'aliment et/ ou dans le tube digestif du consommateur. Ces germes peuvent être pathogènes ou reconnus normalement non pathogènes (**Bousseboua, 2005**).

L'attaque microbienne peut être liée aux propriétés invasives du micro-organisme et/ ou aux produits toxiques qu'il est capable d'élaborer au cours de sa croissance. Le concept englobe aussi bien les toxi-infections classiques à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, et *Clostridium perfringens*, que les pathologies infectieuses moins classiques liées à la consommation d'aliments contaminés par des virus, des parasites ou des prions. Les T.I.A bactériennes représentent la majorité des cas recensés (**Bourlioux, 2014**)

1.3. L'intoxication alimentaire

Les intoxications alimentaires sont provoquées par l'ingestion de toxines secrétées dans l'aliment par des germes de contamination. Par exemple toxine botulinique, entérotoxine Staphylococcique, mycotoxine. Les symptômes de la maladie sont seulement dus à la toxine et sans lien avec leur bactérie productrice qui généralement est absente (**Bousseboua, 2005**).

1.4. Les toxi-infections alimentaires collectives (T.I.A.C)

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est une maladie souvent infectieuse et accidentelle causé par l'ingestion d'aliments contaminés par certains agents infectieux ou par leur toxine.

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est une maladie infectieuse à déclaration obligatoire (MDO) qui a lieu lorsqu'il existe au moins deux cas groupés, avec des manifestations similaires dues à une contamination par un micro-organisme (bactéries en général) ou une toxine. Les plus grandes toxi-infections alimentaires collectives sont des « crises alimentaire » (**Diallo, 2010**).

Les agents infectieux les plus souvent en cause sont les bactéries (*Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Campylobacter*) et certains virus comme les rota virus (**Diallo, 2010**).

1.5. Toxi-infections à *Escherichia coli*

Ce sont des gastro-entérites dues à des souches entomopathogènes d'*E. coli* qui est un hôte normal du tube digestif, mais qui devient pathogène dans certaines conditions (**Figure 01**). Ces germes provoquent des troubles graves (diarrhées violentes, nausées, vomissements), 12 heures après provoquent des troubles graves le jeune qui peut en succomber. Chez l'adulte, des céphalées sont en plus observées. Les aliments dangereux sont les produits laitiers manipulés ainsi que les viandes. Les colibacillooses proviennent principalement de la mauvaise hygiène des mains (**Abdoulaye, 1988**).

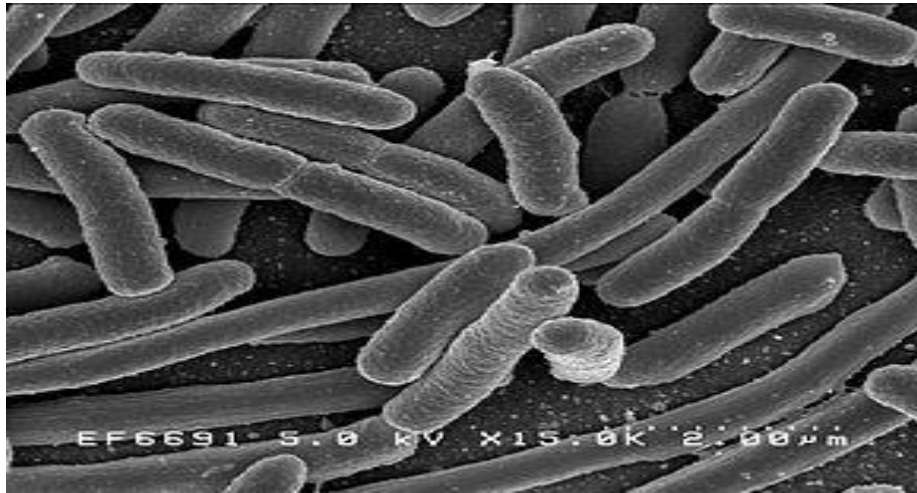


Figure N°01 : *Escherichia coli* coloré au microscope électrique à balayage (MEB) agrandissement (x8600) (Joffin et Joffin, 2010).

1.6. Intoxication Staphylococcique

Elle est provoquée par *Staphylococcus aureus* qui est une bactérie sphérique, aéroanaérobie facultative à gram positif (**figure 02**). Elle sécrète des entérotoxines thermostables. Les troubles apparaissent brutalement, 2 à 3 heures après l'ingestion et ne sont pas accompagnés de fièvre. Les signes digestifs et généraux sont très marqués, parfois impressionnants (pouls rapide, chute de tension, hypothermie, vomissements incoercibles, diarrhée importante, etc...) rappelant un empoisonnement.

Ils ne durent que quelques heures. Les aliments responsables sont rarement contaminés à l'origine. Cependant le lait de chèvre ou vache peut être contaminé dans le cas de mammite Staphylococcique de l'animal (Balma, 1989).

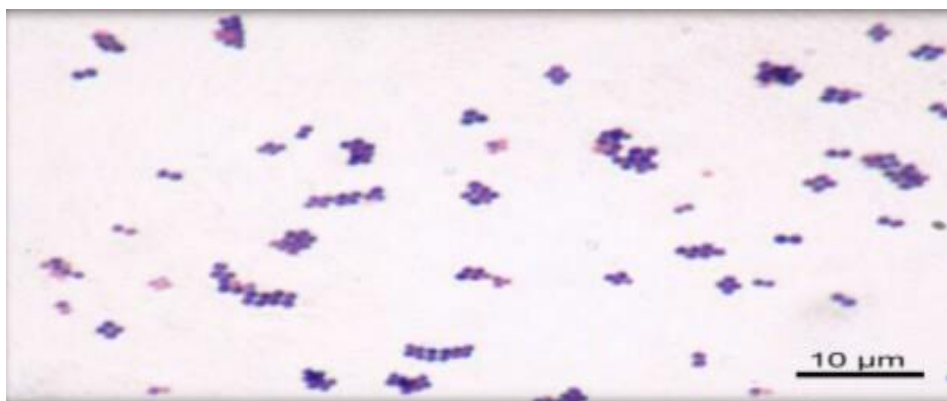


Figure N°02 : Micrographie électronique à *Staphylococcus aureus* sous un grossissement balayage (MEB) montre une souche de la bactérie (Joffin et Joffin, 2010).

2. Aliments à risques

D'après une étude de l'INVS de 2013, la consommation de viandes a été suspectée comme étant à l'origine de la toxi-infection dans 17% des foyers, suivie par les coquillages (9%), les volailles (8%), les poissons (8%), les œufs et produits à base d'œufs (5%), les produits de charcuterie (5%), les crustacés (3%) et les produits laitiers (3%). Les « autres aliments » (essentiellement des plats avec des aliments composés) ont été suspectés d'être la cause de 31% des TIAC en 2013.

2.1. Produits laitiers

Le lait et les produits laitiers renferment une flore microbienne naturelle mais ils possèdent également une flore supplémentaire à l'origine de la diversité des produits laitiers (différents fromages...). L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation. Il existe deux types de contamination :

- D'origine endogène : elle fait suite à une excrétion mammaire de l'animal malade (mammite ou infection systémique),
- D'origine exogène : par contact direct avec des troupeaux infectés (fèces, peau) ou d'un apport de l'environnement (eaux, personnel).

L'ensemble des procédés de traitement et de transformation du lait peut freiner la multiplication des germes éventuellement présents ou au contraire favoriser leur développement.

Différents types de produits sont impliqués dans des toxi-infections alimentaires : il s'agit de lait cru, fromage de chèvre, mozzarella, fromage de vache à pâte molle, cheddar, vacherin, crème et sauce à base de crème et de crème glacée (**Brisabois et al., 1997**).

2.1.1. Fromages à pâte molle

Des maladies infectieuses avec *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *S. aureus* et *Brucella* spp ont été causé par ingestion de fromages à pâte molle confectionné avec du lait pasteurisés et non pasteurisés. Des mesures doivent être mises en place pour prévenir la contamination post-pasteurisation durant la fabrication du fromage.

Les fromages bleus peuvent être contaminés au niveau de la croûte, l'agent pathogène va pouvoir être transférés à la pâte pendant le tranchage.

Une étude sur le gorgonzola a été réalisée pour connaître le risque pour le consommateur du développement de *L. monocytogenes* avant la date limite de consommation lors d'une conservation à 4°C.

La simulation de coupe avec des croûtes inoculées artificiellement a indiqué un pourcentage élevé d'échantillons contaminés. Ensuite la croissance de *L. monocytogenes* dépend des caractéristiques physico chimiques du fromage, du niveau de contamination et de la durée du stockage (**Lund, 2014** et **Berninia et al., 2016**).

2.1.2. Fromage blanc

Le lait utilisé pour la fabrication du jben est contaminé au niveau des fermes (écuries et étable non laver, animaux malades, machine à traire non nettoyer etc....) ou alors pendant la fabrication du produit où les règles d'hygiènes ne sont pas respectées.

2.1.3. Origine de l'intoxication par le fromage

Cet empoisonnement provient soit : a) de l'ustensile même qui a servi à la préparation du fromage ; b) des ptomaïnes ; c) des herbes consommées' par le bétail ; d) des microbes, champignons, bacilles et microorganismes du fromage (**Abdo Féghali**).

a) L'ustensile : C'est le cuivre, non étamé ou très mal étamé, qui a servi à la préparation du fromage, qui, par ses sels, sulfures et sulfates, etc., est incriminé dans la majorité des cas d'empoisonnements de ce genre. Les ustensiles faits en zinc, plomb, nickel, pourraient produire, de même, bon nombre d'intoxications.

b) Les ptomaïnes : Elles existent dans tous les fromages fermentés, et sont constituées par les résidus des champignons, bacilles, microbes, saprophytes divers du fromage.

c) Les herbes et céréales consommées par le bétail : On accuse populairement, en Orient, les diverses herbes et céréales, de la production des cas d'empoisonnements alimentaires mortels. Scientifiquement parlant, la petite quantité de ptomaïnes toxiques qui passent par le lait, réduit en fromage dans l'estomac du consommateur, est insignifiante.

d) Intoxication mortelle d'origine microbienne : C'est, sans contredit, la forme la plus fréquente sous nos climats, et partant la plus redoutable.

CHAPITRE 03 : Extraits des plantes

1. Les huiles essentielles

1.1. Définition

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, plus ou moins fluides, très odorantes, volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau (densité de l'ordre de 0.750 à 0.990). (Fabrice.,2009). Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe obtenue à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (Bruneton.,2009).

1.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes de différentes constituantes chimiques. Ces constituants peuvent être regroupés en deux grands groupes chimiques en fonction de leurs origines biogénétiques bien distinctes, il y a le groupe des terpénoïdes et celui des composés aromatiques (Pichersky et al., 2006).

a. Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont en général très nettement dominants dans les huiles essentielles et les plus rencontrés sont les monoterpènes (C10) et les sesquiterpènes (C15). Leurs structures sont obtenues à partir de la combinaison de deux ou trois unités isoprène (C5H8) (Bakkali et al., 2008).

b. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les terpénoïdes (ex : Eugénol). Ce sont très souvent des allyles et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C6-C1) comme la vanilline (Betts., 2001).

1.3. Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles de différentes plantes ont suscité un grand intérêt en raison de leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes, antitumorales, antifongiques et insecticides (Burt, 2004).

Les huiles essentielles ont un effet sur la croissance des bactéries. Elles agissent en empêchant leur multiplication, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Ces dernières attirent actuellement beaucoup d'attention parce qu'elles ont montré une activité contre les pathogènes résistant aux antibiotiques, tels que les staphylocoques dorés (Tohidpour et al., 2010 ; Warnke et al., 2013).

2. Généralités sur le *Juniperus phoenicea*

2.1. Description botanique

Le genévrier (figure 03) appartient à la famille des Cupressacées où il avoisine le Cupressus (Seigue, 1985). Il comprend environ 60 espèces réparties dans l'hémisphère Nord (Rezzi et al., 1999). Le genre *Juniperus* est divisé en trois parties : *Caryocedrus* (une espèce : *J. drupacea* Labille) ; *Oxycedrus* (neuf ou dix espèces) ; et *Sabina* (environ 50 espèces) (Adams, 1998).



Figure 03 : Aspect du genévrier de Phénicie (Achak, 2006)

Généralement, les peuplements de genévriers de Phénicie sont constitués par des arbustes de 1 à 3 m de hauteur mais pouvant atteindre jusqu'à 8 à 10 m de hauteur.

Les feuilles sont presque toutes squamiformes, en écailles très petites et courtes, à bords cartilagineux finement denticulés, serrées contre les rameaux. Les ramilles sont lisses au toucher (Cassan et al., 2009).

Les cônes ayant l'apparence de baies et en soudant les écailles entre elles, ils prendront un brun rougeâtre brillant à maturité (après 2 ans), d'un diamètre d'environ 6 à 10 mm, avec 6 à 9 graines par cône. Les graines sont 6 à 9 par cônes.

Le genévrier de Phénicie n'est pas dioïque mais généralement monoïque (Botineau, 2015). La floraison a lieu en hiver-printemps. Les parties utilisées sont les feuilles et les fruits (figure04) de baies (Molino, 2005).



Figure 04 : Feuilles et fruits de *J. phoenicea* (Abdelli, 2017).

2.2. Classification et systématique de *Juniperus Phoenicea*

La classification du genévrier de Phénicie est la suivante (Teibi, 1992 ; Adams, 2004) :

Règne : *Plantae*

Division : *Pinophyta*

Classe : *Pinopsida*

Ordre : *Pinales*

Famille : *Cupressaceae*

Genre : *Juniperus*

Espèce : *Juniperus phoenicea*

Autres noms : Genévrier rouge, Genévrier de Lycie, Araâr (عرعار en Arabe), Cade endormi. Les provençaux l'appellent « morven » ou genévrier à fruits rouges. L'étiquette phoenicea vient du latin phoenicus qui signifie rouge éclatant ou rouge pourpre qui décrit la couleur des baies (**Rameau et al., 2008**).

2.3. Habitat

Juniperus phoenicea est une espèce pionnière des climats méso- et thermo-méditerranéens (**Mazzoleni et al., 2004**), présente sur les sols rocaillieux, dans les rivages, les pinèdes, les maquis, les garrigues calcaires, sur les grandes parois des falaises et sur les sommets rocheux (**Ghrabi, 2001 ; Varlet, 2008 ; Yaniv et Dudai, 2014**). Il se caractérise par sa grande capacité à se développer et à s'adapter dans des environnements où les conditions écologiques sont difficiles (aridité, vent et pression anthropique, par exemple) (**Benabid, 2000 ; Aafi, 2003 ; Rameau et al., 2008**). Il est également indifférent au sol, supporte l'argile, les sables, les sols légèrement salés, calcaires ou dolomitiques, les marnes ou encore, les sols volcaniques (**Seigue, 1985**). Il paraît se plaire principalement dans les sols meubles et siliceux et il convient très bien pour la fixation des dunes (**Mathieu, 2008**).

Juniperus phoenicea est répartie dans tous les pays de la Méditerranée : Albanie, Algérie, Andorre, Bosnie-Herzégovine, Bulgarie, Croatie, Chypre, Egypte, France, Grèce, Italie, Jordanie, Liban, Libye, Maroc, Portugal, Roumanie, Espagne, Tunisie, Turquie ; Arabie saoudite (le long de la mer Rouge). Il est également présent en Macaronésie : îles Canaries et Madère Arquipelago (**Yaniv, 2014**).

En Algérie, le genévrier rouge occupe une superficie estimée à 227.000 ha, soit 10% de la superficie forestière de l'Algérie. Il est commun sur la côte, les hauts plateaux et l'Atlas du Sahara d'Oran, d'Alger et de Constantine. Il est rare dans d'autres endroits, en particulier sur les dunes de sable côtières, les collines et sur la côte de Barbarie et il constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès, notamment dans le sud de ce massif où il occupe une superficie de 1950 ha (**Abdelli, 2017**).

2.4. Caractéristiques écologiques

Cette espèce est présente sur les sols rocaillieux, dans les garrigues calcaires, sur les grandes parois des falaises et sur les sommets rocheux battus par les vents. Ce genévrier se trouve principalement sur le calcaire, dans des endroits très secs et en plein soleil, où les sols sont très fins, rocheux et avec un pH élevé (Adams et al., 1996).

2.5. Exigences climatiques

Le Genévrier de Phénicie se développe dans des conditions difficiles et même extrêmes. Il résiste aux conditions arides et semi-arides. Son nom latin « **Juniperus** » est issu du Celte *juniperus* qui signifie rude ou âpre. Il aime le plein soleil et pousse aussi bien sur le littoral que sur des endroits ventés. L'arbuste peut résister à des températures allant jusqu'à - 28 °C. À cette fin, il a développé avec succès une stratégie qui lui a permis de survivre dans un environnement très défavorable. Il change de sexe en fonction de l'environnement et peut survivre même si la majeure partie de son système racinaire est détruite (Jarry, 1993).

2.6. Composition chimique de l'huile de *Juniperus phoenicea* L.

L'huile essentielle de baie de *Juniperus phoenicea* contient (0,5-2%) dont l'aspect qualitatif et quantitatif dépend de l'origine de la plante et de la maturité des baies qui sont constitués par : Une résine, des oligosaccharides (environ 30%), des tanins catéchiques (3-5%), des biflavonoïdes, des leucanthocyanes, des acides alcooliques et un alcool terpénique (sabinol) (Molino, 2005).

73 des composés sont identifier par Ramdani et al, (2013), les principaux composés sont : l' α -pinène, le Δ^3 -carène, β - phellandrène, le myrcène, linalol-tetrahydroxy-, germacrène-D et β phellandrenedrene.

2.7. Usages thérapeutiques

Les plantes de genévrier ont été largement utilisées en médecine traditionnelle pour diverses maladies infectieuses et inflammatoires, telles que le rhume, la diarrhée, les infections fongiques, les hémorroïdes, les pertes vaginales, le diabète et les plaies. (Yesilada, 1993). En médecine populaire tunisienne, la décoction de feuilles de *J. phoenicea* a été fréquemment utilisée pour réguler les menstruations et soulager la douleur des crampes menstruelles (Yaniv, 2014).

Un mélange de baies et de feuilles de cette plante est traditionnellement utilisé comme médicament antidiabétique. **(Kékes, 2014).**

Les études antérieures sur les activités biologiques de *J. phoenicea* se sont principalement concentrées sur les huiles essentielles. Bien que la plante soit revendiquée comme étant utilisée pour ses effets anti-inflammatoires et analgésiques par les guérisseurs traditionnels tunisiens, aucun travail publié à ce jour ne porte sur l'utilisation de *J. phoenicea* à cette fin. *J. phoenicea* a une longue histoire d'utilisation dans le traitement de l'œdème dans la subdivision méditerranéenne **(Yesilada, 1993).**

Partie II : Etude expérimentale

1. Objectif

L'objectif de la présente étude était d'évaluer l'effet de l'huile essentielle de Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) à une concentration de 0.5% (v/v) sur la charge des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) inoculés dans le fromage blanc durant son stockage à 4°C.

2. Matériel végétal

Le Genévrier de Phénicie a été récolté dans les montagnes de Ain Ousmane de la commune d'Oued Morra située 34°12'07.0"N et 2°19'25.9"E, entourant la ville d'Aflou wilaya de Laghouat (Algérie) (**Figure 05**). Les parties aériennes fraîches de *J. phoenicea* ont été séchées dans l'obscurité à la température ambiante (<30°C). Le matériel végétal a été broyé individuellement à l'aide d'un broyeur en poudre fine et récupérées dans des sacs en papier propres pour servir ultérieurement à l'extraction de l'huile essentielle (**Figure 06**).

vfn



Figure 05 : Localisation géographique d'Oued Morra entourant, le site de récolte de Genévrier de Phénicie (Carte Michelin Aflou-plan, 2006-2016).



Figure 06 : Le Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) séché et broyé en poudre (Photo originale, 2021)

2.1. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation selon le protocole de British Pharmacopoeia (**British Pharmacopoeia, 1990**), utilisant un appareil de type Clevenger (**Figure 07**).



Figure 07 : Montage d'un hydrodistillateur de type Clevenger (Photo originale, 2021).

Cent cinquante grammes (150 g) du matériel végétal séché sont mises dans un ballon à fond rond et additionnés à 1500 ml d'eau distillée, puis sont portés à l'ébullition pendant 4 h à l'abri de la lumière. La vapeur est condensée dans le réfrigérant, le condensant (eau+ huile essentielle) est récupéré dans une ampoule à décanter. L'huile essentielle est obtenue par une simple décantation et conservée dans des tubes en verre à une température voisine de 4 °C à l'abri de la lumière, jusqu'à leur usage ultérieur.

2.2. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{le poids de l'huile essentielle}}{\text{le poids de l'échantillon}} \times 100$$

3. Matériel biologique

Les souches bactériennes de référence testées dans cette étude sont *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Escherichia coli* ATCC25922 obtenues du Laboratoire Vétérinaire Régional de Laghouat (LVRL). *S. aureus* et *E. coli* ont été stockées à -80 °C dans du bouillon BHI 10% de glycérol ajouté comme agent cryogénique. Une culture fraîche a été préparée en transférant une boucle de culture dans du BHIB, puis en l'incubant pendant 24 h à 35 °C. Les cultures de *S. aureus* et *E. coli* ont été repiquées, respectivement sur des boîtes de BHI agar et EMB de levine agar, puis incubées à 35 °C pendant 48 h. Pour obtenir une suspension de travail, l'inoculum a été préparé à partir des cultures récentes dans l'eau physiologique (0.9%), ajusté à la densité de 0.5 McFarland à l'aide d'un spectrophotomètre biochrom Libra S6 (80-5000-10, UK) à une longueur d'onde de 600 nm afin d'obtenir une concentration finale approximative de 10^7 UFC/ mL (**Figure 08**).



Figure 08 : Spectrophotomètre de type biochrom Libra S6 (80-5000-10, UK) (**Photo originale, 2021**).

4. Fabrication de J'ben :

Le fromage a été fabriqué traditionnellement à partir du lait cru de vache entier de petit mélange (environ 10 femelles) d'une ferme rurale de la zone daya de la commune de Laghouat. La traite est manuelle et a eu lieu en mois de février 2021. Le procédé de fabrication du jben est illustré dans la figure 09. Le lait a été d'abord chauffé température de 65 °C pendant 30 min et rapidement refroidi à une température inférieure ou égale à 4 °C. Ensuite, le lait est caillé à 45 °C en ajoutant la présure de type CHY-MAX® (Plus/Ultra/Extra, Danemark) (**Figure 09**). Après approximativement 12 heures de coagulation, le fromage a subi un égouttage qui a duré environ 24 heures. Le lactosérum a été retiré et le fromage a été emballé immédiatement et stockés à 4 °C.

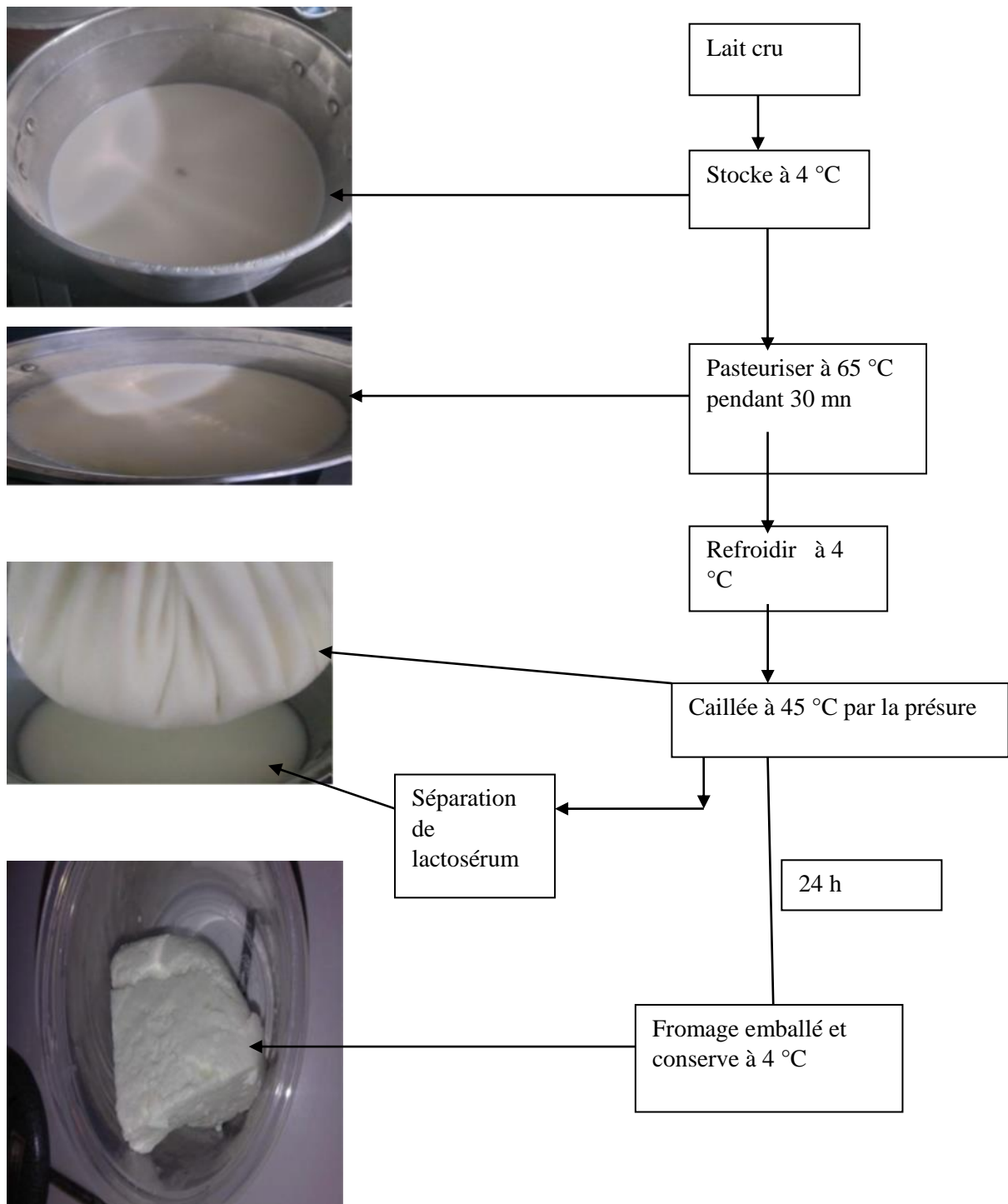


Figure 09 : Diagramme de fabrication du fromage blanc (J'ben) (Photo originale 2021)

4.1. L'application de l'huile essentielle et l'inoculum de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sur le fromage blanc

Huit cent gramme (800 g) de fromage blanc, précédemment préparés, ont été pesés dans une boîte stérile. Ensuite, le fromage a été coupé en morceaux uniformes d'environ 10 ± 0.1 g pour les analyses bactériologiques. Des échantillons de fromage ont été répartis au hasard en quatre groupes distincts dans des barquettes en polystyrène : deux contrôles et deux groupes traités. Pour les groupes traités, les morceaux de fromage ont été traités par immersion dans 1 litre d'eau distillée stérile additionnée de 5 ml de l'huile essentielle de *J. phoenicea* (0.5%, v/v) pendant 4 minutes à 25 °C. La concentration 0.5% (v/v) d'extrait de plante a été choisie dans cette étude sur la base des tests préliminaires, donnant le meilleur aspect et absence d'odeur et de couleur dans le fromage. Notons que, l'huile essentielle a été précédemment diluée dans 0.2 ml de Tween 20 pour faciliter leur diffusion dans l'eau distillée (Zhang, 2017). Les échantillons de fromage ont ensuite été inoculés séparément par 0.1 ml de suspensions bactériennes de 10^7 UFC/ml de populations de *S. aureus* ou *E. coli* selon la répartition suivante :

- **Témoin 1** : contient du fromage blanc inoculé par *S. aureus* et conservé à 4 °C.
- **Groupe 1** : contient du fromage blanc inoculé par *S. aureus*, traité par 0,5% d'huile essentielle et conservé à 4 °C.
- **Témoin 2** : contient le fromage blanc inoculé par *E. coli* et conservé à 4 °C.
- **Groupe 2** : contient le fromage blanc inoculé par *E. coli*, traité par 0,5% d'huile essentielle et conservé à 4 °C.

Notons que, la concentration finale approximative des groupes inoculés est de 10^5 UFC/g de fromage. Tous les groupes ont été conservés dans le réfrigérateur à une température de 4 °C pendant 120 heures.

4.2 Mesure de pH

Le pH était mesuré à l'aide d'une électrode de pénétration de type aiguille (EUTECH Instruments, Germany) enfoncée dans la pâte de fromage (Figure 10). La mesure de pH est répétée trois fois pour chaque groupe durant la période expérimentale.



Figure 10: pH Spear Food Testing (Photo originale, 2021).

5. Analyses bactériologiques

5.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Les analyses ont été effectuées de façon aseptique pour éviter toute contamination. La préparation de la suspension mère s'est effectuée selon le protocole suivant : 10 g de l'échantillon de fromage blanc ont été pesés et homogénéisés avec 90 ml d'eau physiologique pendant 2 minutes (**figure 11**). Cette suspension constitue alors la dilution mère qui correspond à la dilution 1/10 ou (10^{-1}). À l'aide d'une micropipette réglée, un millilitre de la suspension mère (10^{-1}) est prélevé aseptiquement et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. On obtient ainsi la dilution (10^{-2}) et on prépare de la même procédure pour les autres dilutions décimales (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) (**JORADP, 2014**). Dans ce cas, nous disposons de cinq dilutions décimales à partir desquelles les milieux de cultures seront ensemencés.

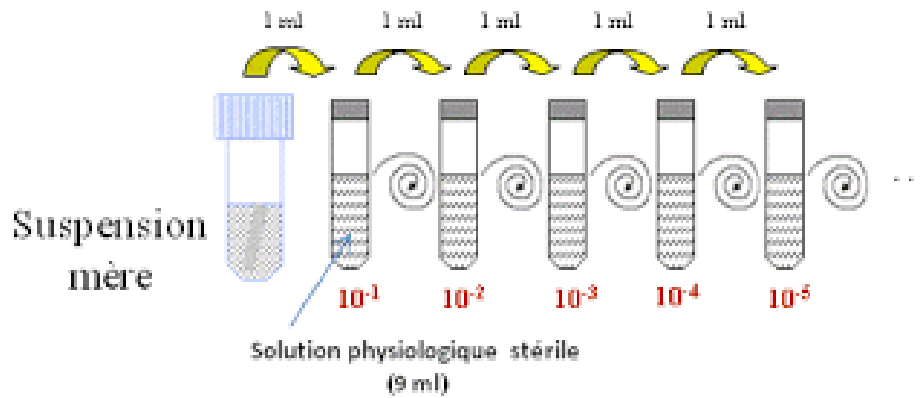


Figure 11 : Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.

5.2. Dénombrement des *Escherichia coli*

La gélose EMB de Levine est un milieu sélectif pour l'isolement et le dénombrement des entérobactéries. L'utilisation de l'éosine et du bleu de méthylène permettent la différenciation entre les organismes fermentant le lactose et non fermentant. Il est largement utilisé pour la détection et le dénombrement des coliformes, des contaminants des aliments et de l'eau potable. L'ensemencement a été effectué par l'étalement en surface de 0.1 ml de chaque dilution décimale à la surface de la gélose sans toucher les bords de la boîte. Ensuite, les boîtes sont incubées à l'étuve à une température de 37 °C pendant 24 h. Après incubation, les colonies sont toutes dénombrées sur les boîtes contenant entre 30 à 300 colonies. Dans la gélose EMB, les colonies typiques d'*E. coli* sont d'une couleur verte avec éclat métallique avec une zone claire distincte dans la gélose après la période d'incubation.

5.3. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Le milieu Baird Parker a été utilisé pour la recherche et le dénombrement des Staphylocoques. Ce milieu est additionné de jaune d'œuf (élément nutritif et révélateur enzymatique) et de téllurite de potassium (indicateur de noircissement des colonies) qui est souvent le milieu le plus favorable à la sélection et la différenciation des staphylocoques à partir des produits alimentaires, selon la méthode décrite par AFNOR : N F-V08-014. L'ensemencement a été effectué par l'étalement en surface de 0.1 ml de chaque dilution décimale à la surface de la gélose sans toucher les bords de la boîte. Ensuite, les boîtes sont incubées à l'étuve à une température de 35 °C pendant 24 à 48 h. Dans la gélose Baird Parker, les colonies typiques de *S. aureus* sont d'une couleur noir brillant avec une zone claire distincte dans la gélose après la période d'incubation.

5.4. Calcule des charges bactériennes

Selon le **JORADP N°68 du 2014**, le nombre N des microorganismes présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée partir des deux dilutions successives, a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

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

Où :

$\sum C$: est la somme des colonies comptées sur toutes les boites retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient 15 colonies.

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boite, en millilitre.

n1 : est le nombre des boites retenues à la première dilution.

n2 : est le nombre des boites retenues à la seconde dilution.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

6. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, calculés à partir des données obtenues de trois répétitions expérimentales. Les données ont été réalisées par le test de student à l'aide de logiciel Microsoft Excel (Excel, 2007). Les différences sont considérées significatives au seuil de 5% ($p < 0.05$) entre les groupes traités et ses témoins. Toutes les statistiques et les figures ont été réalisées avec le logiciel Microsoft Excel.

Résultats

1. Le rendement de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

L'huile essentielle extraite à partir de la plante *Juniperus phoenicea* par hydrodistillation est de couleur transparent proche de jaune clair et forte odeur de genévrier (**Figure 12**). Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *J. phoenicea* est de 0.95 % (m/m)



Figure 12 : Huile essentielle de *Juniperus phoenicea* obtenue par hydrodistillation (**Photo originale ,2021**).

2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

Le tableau 04 montre les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*.

Tableau 04 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* obtenue et celle de (**Proenca da Cunha et al., 1977**)

Caractéristiques organoleptiques	HE de <i>J. phoenicea</i> obtenue	HE de <i>J.phoenicea</i> selon (Proenca da Cunha et al., 1977)
Aspect	Liquide pâle	Liquide pâle
Couleur	Transparent proche de jaune clair	Jaune de couleur paille
Goût	Goût de genévrier	Goût piquant
Odeur	Forte odeur de genévrier	Légèrement désagréable

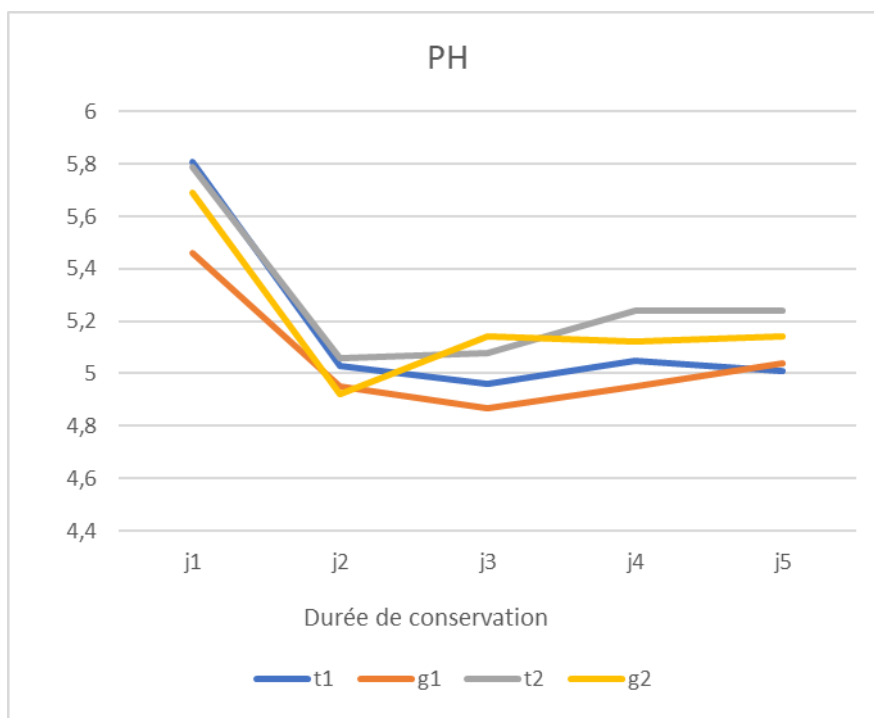
3. Résultats de pH

Le tableau n°05 montre les résultats du pH de fromage blanc réfrigéré traité par 0.5% de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Le pH initial de fromage blanc est de 6.05.

Tableau N°05 : Tableau récapitulatif des résultats du pH de fromage blanc réfrigéré traité par 0.5% de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

Traitement	pH*					
	Durée de conservation (jours)					
	J0	J1	J2	J3	J4	J5
Témoin 1	6.05	5.81±0.13	5.03±0.06	4.96±0.03	5.05±0.02	5.1±0.03
Groupe 1	6.05	5.46±0.05	4.95±0.07	4.87±0.05	4.95±0.03	5.04±0.04
Témoin 2	6.05	5.79±0.02	5.06±0.06	5.08±0.01	5.24±0.03	5.24±0.07
Groupe 2	6.05	5.69±0.10	4.98±0.05	5.14±0.22	5.12±0.04	5.14±0.06

*Valeurs sont exprimés en moyenne ± écart (n=3) ; Témoin 1 : (groupe inoculé par *Staphylococcus aureus*/4 °C) ; Groupe 1 : (groupe inoculé par *Staphylococcus aureus* et traité par 0,5% d'huile essentielle/4 °C) ; Témoin 2 : (groupe inoculé par *E. coli*/4 °C) ; Groupe 2 : (groupe inoculé par *E. coli* et traité par 0,5% d'huile essentielle/4 °C).



t1 : Témoin 1 : (groupe inoculé par *Staphylococcus aureus*/4 °C) ; g1 : Groupe 1 : (groupe inoculé par *Staphylococcus aureus* et traité par 0,5% d'huile essentielle/4 °C) ; t2 : Témoin 2 : (groupe inoculé par *E. coli*/4 °C) ; g2 : Groupe 2 : (groupe inoculé par *E. coli* et traité par 0,5% d'huile essentielle/4 °C).

Figure 13 : Courbe croissance de pH de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* durant la période de conservation dans le fromage blanc.

Le tableau 05 montre une fluctuation des valeurs de pH dans les groupes inoculés par *S. aureus* où la valeur du pH du témoin était de 5.81 supérieurs à celle du groupe traité (5,46). Les valeurs du pH ont diminué dans le 2^e et le 3^e jour dans les deux groupes pour revenir à augmenter durant le reste de la période de conservation.

Pour les groupes inoculés par *E. coli*, la valeur du pH du témoin était de 5.79 supérieurs à celle du groupe traité (5,69). Les valeurs du pH ont diminué dans le 2^e jour dans les deux groupes pour revenir à augmenter durant le reste de la période de conservation. Notons que le groupe traité et inoculé par *S. aureus* a présenté des valeurs de pH la plus faibles par rapport autres groupes expérimentaux (**Figure 13**).

4. Résultats des analyses bactériologiques

Les résultats de dénombrement des *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* dans le fromage blanc traité par 0.5% (v/v) de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sont présentés dans le tableau 6.

Tableau N°06 : Tableau récapitulatif des résultats de la charge bactérienne de fromage blanc réfrigérer traité par 0.5% de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

Microorganismes	Groupes	Charge bactérienne (Log UFC/g) ^a				
		Temps de stockage				
		J1	J2	J3	J4	J5
<i>S. aureus</i>	Témoin 1	5.00±0.01	5.00±0.01	5.00±0.01	4.74±0.16	5.40±0.19
	Groupe 1	4.46±0.04	4.39±0.06	4.25±0.13	4.11±0.08	4.17±0.36
	P (probabilité)	0.00027	0.0002	0.0014	0.0036	0.0075
	Signification	***	***	**	**	**
<i>E. coli</i>	Témoin 2	7.54±0.05	7.29±0.15	6.98±0.25	6.59±0.18	6.82±0.12
	Groupe 2	7.16±0.12	6.40±0.02	6.34±0.25	6.27±0.21	6.46±0.01
	P (probabilité)	0.007	0.0006	0.035	0.12	0.0075
	Signification	**	***	*	NS	**

^aValeurs sont exprimés en moyenne ± écart (n=3); Témoin 1: (groupe inoculé par *Staphylococcus aureus*/4 °C) ; Groupe 1: (groupe inoculé par *Staphylococcus aureus* et traité par 0,5% d'huile essentielle/4 °C) ; Témoin 2: (groupe inoculé par *E. coli*/4 °C) ; Groupe 2: (groupe inoculé par *E. coli* et traité par 0,5% d'huile essentielle/4 °C). NS : différence non significative ; * : p < 0,05 : différence significative ; ** : p < 0,01 : différence hautement significative ; ***: p < 0,001 : différence très hautement significative.

4.1. Dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Dans la présente étude, les colonies de *Staphylococcus aureus* dénombrées sur milieu Baird Parker sont rondes brillantes, de couleur noir et de taille moyenne (**Figure 14**).

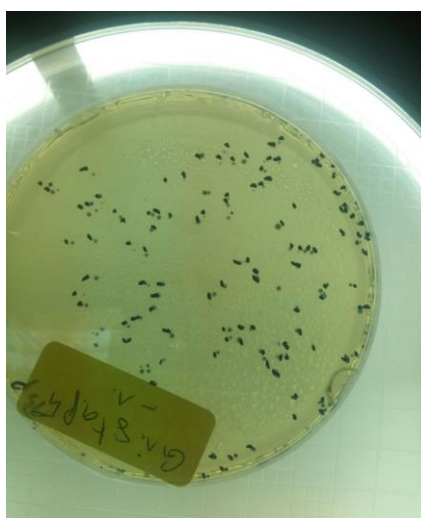


Figure 14 : Aspect de *Staphylococcus aureus* sur milieu Baird Parker (**Photo originale,2021**).

Le tableau n° 06 montre les résultats de dénombrement des *S. aureus* inoculés à la surface du fromage blanc, traité par l'huile essentielle de *J. phoenicea* et conservée pendant 120 heures (5 jours) à 4°C. Au premier jour, la charge initiale des *S. aureus* dans le groupe témoin est égale à 5 Log UFC/g et qui reste stable durant le temps de stockage réfrigéré. Le traitement avec l'HE de *J. phoenicea* a montré une réduction très hautement significative ($p < 0,001$) de la croissance de *S. aureus* dans le fromage blanc durant le 1^e et 2^e jour de conservation, par rapport au témoin, et cette réduction est de 0.5 et 0.6 Log UFC/g, respectivement. La charge de *S. aureus* continue à diminuer durant toute la période de stockage, enregistrant une réduction hautement significative ($p < 0,01$) de 1.2 Log UFC/g au cinquième jour par rapport au témoin. A la fin du temps de stockage, la croissance de *S. aureus* est restée stable et n'a pas dépassé 4.17 Log UFC/g dans le groupe traité avec 0.5% l'huile de *Juniperus phoenicea*. En générale, le traitement par l'HE de *J. phoenicea* a montré un effet très remarquable sur la réduction de la croissance de *S. aureus* inoculé dans le fromage blanc durant la période de conservation à 4 °C, par rapport au témoin.

4.2. Dénombrement d'*Escherichia coli*

Dans la présente étude, les colonies d'*Escherichia coli* dénombrées sur milieu EMB (Eosine Méthylène Bleu Agar) sont de grande taille et de couleur bleu-noir brillant vert avec éclat métallique (**Figure 15**).

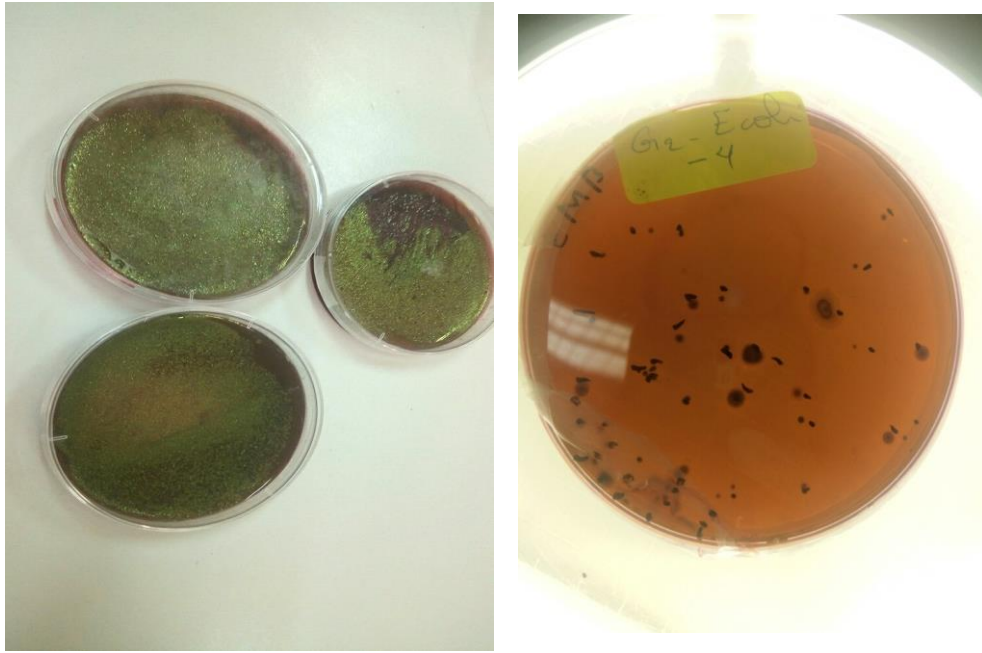


Figure 15 : Aspect d'*Escherichia coli* sur milieu EMB (Photo originale ,2021).

Le tableau n°06 montre les résultats de dénombrement d'*Escherichia coli* inoculée dans le fromage blanc, traité par l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* et conservée pendant 120 heures (5 jours) à 4°C. Au premier jour de stockage, la charge initiale d'*E. coli* dans le groupe témoin est égale à 7.54 Log UFC/g, et qui diminuée progressivement durant la période de conservation. A l'exception du 4^e jour de conservation, le traitement par l'HE de *J. phoenicea* a montré une nette réduction de la croissance d'*E. coli* dans le fromage blanc pendant la durée de stockage réfrigère, par rapport au témoin. Cette réduction est d'environ 0.4 Log UFC/g après 24 h de conservation. La croissance d'*E. coli* continue à diminuer durant toute la période de stockage, enregistrant une réduction très hautement significative ($p < 0,001$) au 2^e jour (réduction de 0.9 Log UFC/g) et significative ($p < 0,05$) au 3^e jour de conservation (réduction de 0.6 Log UFC/g). A la fin de la période de stockage, la croissance d'*E. coli* est restée stable et n'a pas dépassé 6.46 Log UFC/g dans le groupe traité avec 0.5% l'huile de *J. phoenicea*, enregistrant une réduction hautement significative de 0.3 Log UFC/g, par rapport au témoin. Notons que, le traitement avec 0.5% de l'huile de *J. phoenicea* a réduit effectivement la croissance d'*E. coli* inoculée dans le fromage blanc pendant le stockage réfrigéré.

Discussion

Le rendement moyen d'extraction de l'huile essentielle de la plante *Juniperus phoenicea* était d'environ 0.95% (m/m). Conformément à nos résultats, les rendements en huiles essentielles obtenue à partir *J. phoenicea* récoltée de différentes régions d'Algérie varient de 0.7 % (station de Menâa à Batna) à 0.75% (station de Boussâada à M'sila) et de 0.8% (station de Boutaleb à Sétif) à 0.92% (station de T'Kout à Batna et station d'Elhadjab à Biskra) (**Ramdani et al., 2013**). Une autre étude faite par **Bekhechi et al. (2012)** sur plusieurs stations réparties le long du territoire national a montré des teneurs très variables en huiles essentielles obtenue à partir *J. phoenicea*, et qui sont comme suit : à l'ouest : 0.32 – 0.89% (station de Aïn Sefra à Naâma) et 0.79 – 1.32% (station de Honaine à Tlemcen), au centre : 0.87 – 1.52% (station de Berine à Djelfa) et à l'est : 0.59 – 1.13% (station de Fesdis à Batna). En général, les huiles essentielles des espèces *Juniperus* sont composées de 85–95% de monoterpènes et près de 0.1–12% d'alcools (**Angioni et al., 2003**). L'huile essentielle des feuilles de *J. phoenicea* connaît une grande variation chimique, cependant, un grand nombre de travaux rapporte la prédominance de celle-ci en monoterpènes avec le α -pinène comme constituant majeur, suivi de α -terpinyl acétate, δ -3-carène, myrcène, α -phellandrène et β -phellandrène (**Afifi et al., 1992 ; Rezzi et al., 2001 ; Angioni et al., 2003 ; El-Sawi et al., 2007 ; Ennajjar et al., 2009 ; Mazari et al., 2010**). L'huile essentielle des baies de *J. phoenicea* est composée majoritairement de monoterpènes, suivi des sesquiterpènes, où le α -pinène étant le constituant caractéristique. Camphène, δ -3-carène et trans-verbénol sont également présents à des taux variables (**Delitala, 1980 ; Lawrence, 1989 ; Rezzi et al., 2001**). Cette variation dans la composition de l'huile essentielle peut être attribuée à divers facteurs tels que les conditions géographiques et climatiques, la méthode utilisée pour le séchage et l'extraction de l'huile essentielle ainsi que le stade de croissance de la plante (**Bouyahyaoui et al., 2017 ; Brahmi et al., 2016**).

Il est connu depuis l'antiquité que les huiles essentielles présentent des nombreuses propriétés médicinales, telles que les propriétés antiseptiques, antimicrobiennes, antitoxiques, antivenimeuses, antioxydantes, antiparasitaires, diurétiques et anticancéreuses (**Valero et Salmerón, 2003 ; Bakkali et al., 2008**). L'utilisation des huiles essentielles de *J. phoenicea* dans des matrices alimentaires est souvent limitée en raison de considération d'arôme et de goût. Au cours des dernières années, des recherches ont montré que ces produits naturels possèdent également des applications potentielles pour la conservation des aliments (**Calo, 2015**). Par conséquent, il est difficile de définir et de mesurer la quantité spécifique de

matière végétale à ajouter dans l'aliment pour garantir un effet antimicrobien attendu, en plus du besoin de méthodes analytiques pour une détermination plus précise de ces composés (Calo et al., 2015). Un autre aspect important dans l'utilisation des plantes et leurs constituants dans les aliments est l'effet phytotoxique. Bien que les plantes aromatiques pouvant être utilisées dans la préparation des aliments depuis longtemps, il y a un manque d'informations toxicologiques spécifiques telles que la dose journalière acceptable (DJA) (Negi, 2012). Cependant, les huiles essentielles sont généralement classées comme substances généralement reconnues comme sûr (GRAS) (FDA, 2016).

Comme le fromage est un aliment à haute teneur en protéines et lipides, les concentrations de composés actifs à ajouter pour obtenir un effet d'inhibitrices des microorganismes devraient éventuellement être supérieures à ceux testés *in vitro* (Moro et al. 2015). Gamariello et coll (2008) et Shan et al. (2011) ont rapporté que la concentration de composés actifs utilisés pour inhiber la croissance des microorganismes pathogènes dans le fromage Fiordi Latte était effectivement plus élevée que le niveau testé *in vitro*. Dans la présente étude, le traitement par 0.5% (m/m) de l'HE de *J. phoenicea* a montré un effet très remarquable sur la réduction de la croissance de *S. aureus* et *E. coli* inoculées dans le fromage blanc durant la période de conservation à 4 °C, par rapport au témoin. Cela pourrait s'expliquer par la possible affinité existante entre les composants de l'HE (non polaires) et la matrice alimentaire utilisée (fromage blanc frais), qui est composée d'environ 26.9% de lipides (O'Callaghan et al, 2017). Cette caractéristique facilite la migration de l'HE vers la surface du produit et permet une meilleure dissolution et dispersion dans l'aliment (Dannenberg et al, 2017). De plus, le pH du fromage testé est inférieur à 6 dans tous les groupes étudiés durant toute la période de conservation. Le pH a un effet très important sur l'inhibition du développement des germes indésirables, car un pH trop bas entraîne une plus forte perte en eau à la surface du fromage, donc une réduction de l'absorption de sel. Ce paramètre présente également un effet sur l'activité des huiles essentielles. Jay et Rivers (1984) ont constaté une augmentation de l'activité de 11 composés des huiles essentielles dont l'eugénol, le maltol et le menthole à pH 6 par rapport au pH 8.

Certaines études ont rapporté l'inefficacité des huiles essentielles de *J. phoenicea* contre certains germes incluant *E. coli* (Ait-Ouazzou et al., 2012 ; Ramdani et al., 2013). Il a été démontré que la majorité des huiles essentielles testées pour leur propriété antimicrobienne ont un effet plus prononcé contre les souches Gram positives que contre les Gram négatives (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Trombetta et al., 2005). Cela est dû aux différences

structurales entre les parois cellulaires. En effet, les Gram négatifs possèdent une membrane externe composée de chaînes de lipopolysaccharides. Cette couche forme une barrière de perméabilité hydrophile qui restreint la diffusion de composés hydrophobes tels que ceux présents dans les huiles essentielles (Nikaido et Vaara, 1985 ; Trombetta et *al.*, 2005). Les résultats montrent que la bactérie Gram négative (*E. coli*) est plus résistante que la bactérie Gram positive (*S. aureus*). De plus, une activité inhibitrice remarquable contre *S. aureus* pourrait être due à l'effet synergique entre les constituants majoritaires et minoritaires de l'huile essentielle de *J. phoenicea* testée dans cette étude.

Références Bibliographiques

Aafi A., (2003). Ecosystèmes naturels des zones semi-arides, arides et hyper-arides du Maroc. Dakar. Edition Enda, Maghreb,78.

Abdelaziz S., et Ait Kaci F., (1992). Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger,67.

Abdelli W., (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. of Essentials,18:168.

Abdoulaye A., (1988). Contribution à l'étude de l'hygiène dans la restauration collective au centre des œuvres universitaires de Dakar (COUD). Thèse en Médecine Vétérinaire. Université CHEIKH ANTA DIOP-DAKAR,39 :26.

Abdo Féghali. Enquêtes et recherches récentes sur l'intoxication par le fromage dans le proche et moyen orient. Le Lait, INRA Editions,33,323_324,139-142. ffhal-00928085f.

Abi azar R., (2007). Complexation de protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier Propriétés technologiques des coagulums obtenus. Thèse doctorat. Agroparistech,196.

Achak N., (2006). Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région Tensift Al Haouz-Marrakech. Thèse III° cycle, Université de Marrakech, Maroc,304.

Adams R.P., Barrero A.F., Lara A., (1996). Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. Eu- mediterranea Lebr.et Thiv. And *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss) Parl. J. Essent. Oil Res,8,367-371.

Adams R.P., (1998). The leaf Essential Oils and Chemotaxonomy of *Juniperus Sect. Juniperus*.Biochem. Syst.Ecol,26,637-645.

Adams P. R., (2004). *Juniperus* of the world: The genus *Juniperus*. Trafford Publishing, Vancouver, B. C.

Affi M.S., El-Sharkawy S.H., Maatoog G.T., Sohly M., Rosazza J.P.N., (1992). Essential oils of *Thuja occidentalis*, *Thuja orientalis*, *Cupressus sempervirens* and *Juniperus phoenicea*. Mandura. J. Pharm. Sci.8,37-46.

Angioni A., Barra A., Russo M.T., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., (2003). Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. J. Agric. Food. Chem.51,3073-3078.

Ait-Ouazzou A., Lorán S., Arakrak A., Laglaoui A., Rota C., Herrera A., Pagán R., Conchello P., (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Research International,45,313-319.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., and Idaomar M., (2008). Biological effects of essential oils. A review. Food and Chemical Toxicology,46,446-475.

Balma L., (1989). Contribution à l'étude de l'hygiène de la restauration collective commerciale moderne dans la région de Dakar. Thèse : Méd, vêt. Université CHEIKH ANTA DIOP-DAKAR,39,132.

Bekhechi C., Atik Bekkara F., Consiglio D., Bighelli A., Tomi F., (2012). Chemical variability of the essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Algeria. Chemistry & Biodiversity,9(12),2742-2753.

Benabid A., (2000). Flore et écosystèmes du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité. Ibis Press, Paris,360.

Bendimerad N., (2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire D'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type « Jben ». Thèse de Doctorat, Université de Aboubekr Belkaid, Tlemcen,255.

Benkerroum N., and Tamime A.Y., (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. Food Microbiol,21,399-413.

Betts T.J., (2001). Chemical characterization of the different types of volatile oil Constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel Commercial gas chromatographic stationary phases. Journal of Chromatography,936,33-46.

- Berninia V., Dalzina E., Lazzia C., Bottaria B., Gattia M., Neviana E., (2016).** Cutting procedures might be responsible for *Listeria monocytogenes* contamination of foods: The case of Gorgonzola cheese. *Food Control*,61,54–61
- Botineau M., (2015).** Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Ed Lavoisier. France,128-129.
- Bouix M., et Leveau J.Y., (1993).** Les Actinomycètes. Les microorganismes d'intérêt industriel. Ed : Florent J. Edition Tec et Doc. Lavoisier Apria,424-480.
- Bourlioux P., (2014).** Les toxi-infections alimentaires. Université de Paris sud-Châtenay-Malabry. Rapport scientifique.
- Bousseboua H., (2005).** Eléments microbiologie, 2ème édition-université de Constantine. Algérie,363.
- Bouyahyaoui A., (2017).** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des Cupressacées de la région de l'Atlas algérien. Thèse de doctorat, Université de Mostaganem, Algérie.
- Brahmi F., Adjaoud A., Marongiu B., Falconieri D., Drifa Y., Madani K, & Anonyme M C., (2016).** *Journal of Essential Oil Research*,28 (3), 211-220.
- Brisabois A., Lafarge V., Brouillaud A., de Buyser M.-L., Collette C., Garin-Bastuji B., Thorel M-F., (1997).** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe,16(1),452-471
- Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales .3eme Ed : Lavoisier, Paris,1269.
- Burt S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: à review. *Int. J. Food Microbiol*,94,223-253.
- Calo J.R., et al., (2015).** Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. *Food Control*,54;111119.
- Cassan A., Saichi N., Durand PH., Durand A.B., (2009).** Antimicrobial Properties of Some Essential Oils against Some Pathogenic Microorganisms. *Czech Food Sciences*,26 (3),174–181.

Chamba J. F., (2008). Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères', in bactéries lactiques lors de la fabrication fromagères. In : bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G et Luquet F.M). Tec&Doc, Lavoisier, Paris,787–821.

Codex Alimentaire S., (2013). 'Norme Générale Codex Pour Le Fromage. CXS 3-1981.

Dannenberg et al., (2017). Dannenberg, G.d.S., Funck, G.D., Santos Cruxen, C.E.d., Marques, J.d.L., Silva, W.P.d., Fiorentini, Â.Maria., Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: Potential for application as active packaging for sliced cheese, LWT – Food Science and Technology (2017), doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.002.

Delitala F.L., (1980) Recherche chemiotassonomiche Sul genre *Juniperus* Linnaeus. Riv Ital EPPOS,62,303-309.

Diallo M. L., (2010). Contribution à l'étude de qualité bactériologique des repas servis par Dakar Catering selon les critères du groupe SERVIAIR Thèse. Université de Dakar,4.

Eck A et Gillis J.C., (1997). Le fromage. 3eme édition, Lavoisier, Paris, France,874.

Eck A et Gillis J.C., (2006). Le fromage. 3ème Edition, Tec et Doc, Lavoisier, Paris,891.

Egito A.S., Girardet J.M., Laguna I.E., Poirson C., Molle D., Miclo L., Humbert G., Gaillard J.L., (2007). Milk clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine κ - casein. Int. Dairy J,17,816–825.

El-Sawi S.A., Motawae H.M., Ali A.M., (2007). Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. Afr. J. Trad. CAM,4 (4),417-426.

Ennajar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Abderraba M., Raies A., Romdhane M., (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressacees). Journal of Food Science,74 (7),364-371.

Fabrice B., (2009). Les huiles essentielles Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Santé pratique. Ed : Lanore,352.

FAO/OMS., (1999). Norme générale pour le fromage. CODEX STAN A-6- 1978, Rev.1,6.

F.D.A. (Food and Drug Administration). Substances generally recognized as safe. Electronic code of federal regulations 21 cfr 182. U.S. Government Publishing Office, 2016.

Fleming A., (2014). Toxi-infection Alimentaires (TIAC) En Région Rhône-Alpes : Bilan Et Analyse Des Causes. Thèse de doctorat en Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie : université Claude-Bernard-Lyon I,217.

Gammariello D. et al., (2008). Effects of natural compounds on microbial safety and sensory quality of Fior di Latte cheese, a typical Italian cheese. *Journal of Dairy Science*,91,4138-4146.

Ghrabi Z., (2001). La végétation de la zone littorale de Zouarâa. Edition APAL, 25.

Gelais St. D., Tirard C.P., Belonger G., Couture R., Et Drapeau R., (2002). Science et Technologie du lait. Transformation du lait. Coord VIGNOLA. Edition école polytechnique,600.

Ghenem M., Mechalikh N., (2017). Contribution à la fabrication d'un fromage local à base de lait de chèvre. Mémoire de master, Université de Khemis-Miliana, Algérie,86.

Ghrabi Z., (2001). La végétation de la zone littorale de Zouarâa. Edition APAL,25.

Graiday P., (1978). Détermination de l'activité enzymatique d'extraits coagulants d'origine animale. *Revue du Technicien du lait*,83,5-47.

Gyawali R., et Ibrahim S A., (2014). Natural products as antibacrobial agents. *Food control*,46,412-429.

Hassan D., and Monier-Dilhan S., (2003). 'Valorisation des signes de qualité dans l'agroalimentaire : exemple des fromages à pâte persillée. In Séminaire DADP / recherches pour et sur le développement régional,269-277.

Heimgartner U., Pietrzak M., Geertsen R., Brodelius P., Dasilva figueiredo A.C., Pais M.S.S., (1990). Purification and partial characterization of milk clotting proteases from flowers of *Cynara cardunculus*. *Phytochemistry*,29,1405–1410.

Hermier J., Lenoir J., Weber F., (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Edition CEPIU, paris,62-88.

Jay J.M., Rivers G.M., (1984). Antimicrobial activity of some food flavouring compounds. *J. Food saf*,6,129-139.

- Jarry C., (1993).** Deux genévriers toxiques *juniperus sabina L.* et *juniperus phoenicea L.* Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges,43.
- Joffin N-J., et Joffin. C., (1992).** Microbiologie alimentaire. Centre régional de documentation Pédagogique de Bordeaux. France. 3ème édition,204.
- Kalembe D., Kunicka A., (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem*,10,813-829 p.
- Kehal F., (2013).** Utilisation des huiles essentielles de Citrus limon comme agent de conservateur et aromatique dans la crème fraîche. Université de Constantine,47.
- Kékes H., Mnafgui K., Hamden K., Damak M., El Feki A., Allouche N. (2014).** In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperusphoenicea L.* leaves from Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* ;4,649– S655
- Lawrence B.M., (1989).** Juniper-berry oil. *Essential oils (1987-1988)*. Allured Publishing Corporation, Wheaton,240-241.
- Le loir Y. &, Baron F., & Gautier M., (2003).** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res*,2 (1),63-76.
- Liorente B.E., Brutti C.B., and Caffini N.O., (2004).** Purification and characterization of a milkclotting aspartic proteinase from globe artichoke (*Cynara scolymus L.*). *J. Agric. Food Chem*,52, 8182–8198.
- Low Y.H., Agboola S., Zhao H., and Lim M.Y., (2006).** Clotting and proteolytic properties of plant coagulants in regular and ultrafiltered bovine skim milk. *Int. Dairy J*,16,335–343.
- Lund B., (2014).** Microbiological food safety and a Low-microbial diet to protect vulnerable people. *Foodborne pathogens and disease*,11(6),413-424
- Mahaut M., Jeantet R., Brule G. and Schuck P., (2000).** Les produits industriels laitiers. Tec and Doc, Paris, France,41.
- Mahaut M., Jeantet R., et Brule G., (2005).** Initiation à la technologie fromagère. Tec & Doc, Paris, France,1-21.
- Mathieu A., (2008).** Flore forestière : Description et histoire des végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importantes de l'Algérie. 2 -ème édition, Nicolas Grosjean-Mme et Bouchard Huzard,455.

Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C., Fernandez X., (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*,4(10),959-964.

Mazzoleni S., di Pasquale G., Mulligan M., di Martino P., Rego F., (2004). Recent dynamics of the Mediterranean vegetation and landscape. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK,320.

Moro A. et al., (2015). Dairy matrix effect on the transference of rosemary essential oil compounds during cheese making. *Journal of the Science of Food and Agriculture*,95,1507-1513.

Molino, P., (2005). A guide to medicinal plants in North Africa, Ed IUCN, Espagne,141.

Negi, P.S., (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*,156,7-17.

Nikaido H., Vaara M., (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol Rev*,49(1),1-32.

O’callaghan Y.C., T.P. O’connor., and N.M. O’brien (2017). Nutritional Aspects of Cheese. In Patrick F. Fox., Timothy P. Guinee., Timothy M. Cogan., Paul L. H. McSweeney. *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition. Springer, New York,803.

Ouelbani R., Bensari S., Mouas T.N., Douadi K., (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*,194,196-218.

Pichersky E., Noel J.P and Dudareva N., (2006). Biosynthesis of plants volatils: nature’s diversity and ingenuity. *Science*,311,808–811.

Pernodet G., (1984). Le fromage. Edition: Lavoisier. Paris, France,219-248.

Prescott LM., Harly JP., Klein DA., Willey JM., Scherwood LM., Woolverton CJ., (2010). *Microbiologie ; 3éme édition*. Pari : Edition de boeck,126.

Proenca da Cunha A., Roque O.R., Cardoso do Vale J., (1977). Nouveaux essais en substance de *Juniperus phoenicea*.L. *Bol. Faculté de Pharmacie. Université de Coimbra*,2,9-23.

- Ramet J.P., (1993).** La Technologie des Fromages au Lait de Dromadaire (*Camelus dromedarius*). Etude FAO, production et santé animale,113, Rome.
- Ramet J.P., (2006).** Les Agents De La Transformation Du Lait ; in : « Le fromage » éd. Eck et Gillis. Technique et Documentation, 3ème éd., Lavoisier, Paris,891.
- Randazzo C.L., Caggia C. et Neviani C.L.E. (2009).** Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. J. Microbiol. Methods,78,1–9.
- Rawlings N.D. Tolle D.P., and Barret A.J., (2004).** MEROPS: the peptidase database. Nucleic Acid Res 32, Database issue, D160-D164. <http://www.merops.sanger.ac.uk>.
- Rezzi S., Cavaleiro C., Salgueiro L., Bighelli A., Casanova J., and Proença DA Cuncha A., (1999).** Intraspecific Chemical Variability of The Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea* subsp. *turbinata* from Corsica. Biochemical systematics and Ecology,29, 179- 188.
- Roseiro I.B., Barbosa M., Ames j.M. and Wilbey R.A., (2003).** Cheesemaking with vegetable coagulants-the use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. Int. J. Dairy Tech,56,76–85.
- Seigue A., (1985).** Le foret circumméditerranéen et ses problèmes. Edition : G.P Maisonneuve et Larose.2016.
- Scriban R., (1999).** Biotechnologie.5^e édition. Tec et Doc. Lavoisier. Paris.
- Soković M., Marin P D., Brkic D. & van Griensven L J., (2007).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils against human pathogenic bacteria. Food,1(2),220-226.
- Shlundt J., Toyofuku H., (2010).** Intoxication Alimentaire : Manuel-Contrôle des Maladies transmissible,2.
- Teibi M., (1992).** Contribution à l'étude de l'estimation de biomasse aérienne d'un taillis de chêne vert (*Quercus ilex*) et de deux Genévriers : Genévrier oxycèdre, Genévrier de Phénicie dans la région de Kasserou. Mémoire d'ingénieur en agroalimentaire, Université de Batna, Algérie, 80.
- Thomas G., Boyce, MD., MPH., (2019).** Gastro-entérites. University of North Carolina School of Medecine.

Tohidpour A., Sarrari M., Omidbaigi R., Yadegar A., Nazemi J., (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17, 142-145.

Unger F., Munstermann S., (2001). Project n° 9. Food hygiene and consumer safety unit. ITC, Banjul, The Gambia.

Varlet E., (2008). Découvrez les fruits sauvages. Edition Ellebore, Paris, 254.

Vignola C.L., Michel J.C., Laquin P., Moineau M., Ponlont M et Simpson R., (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Technique et documentation Lavoisier,600.

Warnke P.H., Becker S.T., Podschun R., Sivananthan S., Springer I.N., Russo P.A., Wiltfang J., Fickenscher H., Sherry E., (2013). The battle against multi-resistant strains: Renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. *J Craniomaxillofac Surg*, 37(7), 392-397.

Yaniv Z., Dudai N., (2014). Medicinal and aromatic plants of the Middle-East. Vol 2, Springer, 337.

Yeşilada E., Honda G., Sezik E., Tabata M., Goto K., Ikeshiro Y. (1993). Traditional medicine in Turkey IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. *Journal of Ethnopharmacology* ; 39(1),31–38.

Zeller B., (1980). Le fromage de chèvre : spécificités technologiques et économiques. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,81.

Zhang Y, Li D, Lv J, et al. (2017). Effect of cinnamon essential oil on bacterial diversity and shelf-life in vacuum-packaged common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*; May ;249,1-8.