République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
En : Science biologique.
Option : Microbiologie appliquée.

Présenté par :

Melle.Boubtana Meriem **Melle.Naceur Malak**
&
Melle .Maatoub Latifa

Intitulée :

Incorporation de la nisine et l'huile essentielle de *Mentha piperita* pour l'amélioration de la qualité et la stabilité d'un fromage frais à caillé lactique

Devant le jury :

Mme. SMAALI. S	MCA	Université de Tébessa	Présidente
M. MECHAI. A	Professeur	Université de Tébessa	Encadrant
Mme. DEBABZA.M	Professeur	Université de Tébessa	Co-encadrante
Mme. AZIZI. N	MCB	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 08 / 06 / 2026

Remerciement

Avant toute chose, nos plus vifs remerciements vont à ALLAH, pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail ; Alhamdoulilah.

Nous exprimons notre profonde gratitude et notre sincère reconnaissance à notre encadrant, Pr. Mechai Abdelbasset, Professeur à l'université de Tébessa, pour son accompagnement bienveillant, son investissement constant et sa précieuse disponibilité tout au long de ce mémoire. Sa confiance, ses conseils éclairés et son soutien moral ont été d'un apport inestimable. Grâce à son engagement et à son professionnalisme, nous avons pu mener à bien ce travail dans les meilleures conditions.

Nos remerciements s'adressent également à notre co-encadrante, Pr. Debabza Manel, Professeure en microbiologie à l'Université de Tébessa, pour son encadrement rigoureux, ses remarques constructives et ses orientations pertinentes qui ont enrichi considérablement notre réflexion et notre démarche scientifique.

Nous remercions également les membres du jury, Dr. Smaali Sawsen, maitre de conférences A à l'Université de Tébessa, présidente du jury, et Dr. Azizi Nassima, maitre de conférences B à l'Université de Tébessa, examinatrice, pour avoir accepté d'évaluer notre travail et pour leurs remarques enrichissantes.

Nous tenons à remercier chaleureusement toutes les personnes qui nous ont aidés. Dans le laboratoire et ont facilité notre travail, en particulier Naïma, dont l'aide et l'engagement ont été d'une grande valeur dans la réussite de ce projet.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à l'ensemble des enseignants. Qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours universitaire, en particulier ceux du département de microbiologie, pour la qualité de leur enseignement et leur engagement pédagogique.

À vous tous, un grand merci du fond du cœur pour votre soutien, vos encouragements et vos efforts dévoués.



Dédicace

Alhamdoulillah, qui m'a guidée et soutenue tout au long de ce chemin. Sans Sa volonté, je ne serais jamais arrivée jusqu'ici. Alhamdoulillah.

À la source de ma force, à mon cher père ***Béchir****, tu as toujours été mon pilier, mon inspiration, mon roc inébranlable. Tu as été, tu es, et tu resteras le meilleur des pères, un compagnon loyal et un soutien fidèle. Merci pour ton amour, ta présence, et ton dévouement sans faille. Je te dédie ce travail avec tout mon amour et ma gratitude profonde.*

À celle qui a consacré sa vie pour moi, ma chère mère ***Zina****, toi qui as veillé, élevé, aimé sans compter. Tu es l'incarnation du courage, de la tendresse et de la foi. Tu es et tu resteras la meilleure des mères, un refuge de douceur et de force. Merci pour tes prières, ton amour infini et ton encouragement constant. Ce travail t'est dédié avec tout mon cœur.*

À mes frères, ***Taki et Mesbah****, compagnons de toujours, vous avez été mes soutiens les plus solides, mes confidents et mes moteurs dans les moments difficiles. Vous avez cru en moi, vous m'avez portée par votre affection et votre présence. Merci d'avoir été là, toujours. À toi, présence discrète et précieuse, qui as su rester près de moi tout au long de ce chemin… Ta confiance, ton soutien indéfectible et ton aide silencieuse ont été des lumières dans mes pas. Du fond du cœur, merci infiniment.*

À ma sœur de cœur, celle que la vie m'a offerte, ***Sabrina****, merci pour tout. Ton amitié, ta fidélité et ton soutien comptent plus que les mots ne peuvent l'exprimer.*

À mes collègues et partenaires de mémoire, ***Meriem et Malak****, merci pour votre compréhension, votre soutien constant et votre collaboration précieuse.*

À celles que la vie m'a généreusement accordées comme compagnes fidèles : ***Karima, Nour, Raounak et Anfal****. Merci pour votre amour sincère, votre présence lumineuse et vos encouragements inestimables.*

À tous ceux qui m'aiment sincèrement, ce travail vous est dédié. Merci d'être là. Qu'ALLAH vous garde à mes côtés.

Latifa...



Dédicace

Avant tout, je remercie Dieu le Tout-Puissant de m'avoir accordé la force, la patience et le courage nécessaires pour surmonter les difficultés, accomplir ce modeste travail et poursuivre mon parcours universitaire.

Je dédie ce modeste travail :

*À mes chers parents **Louardi et Theldja**, que Dieu les garde, pour leur soutien indéfectible, leurs sacrifices et leurs encouragements tout au long de mes études. Je leur exprime ma profonde gratitude et leur souhaite santé, bonheur et longue vie. Je suis très fière de vous.*

*À mes chères sœurs **Souaad, Houda et Saliha**, ainsi qu'à mon petit frère **Salim**, pour leur affection, leur présence et leurs encouragements.*

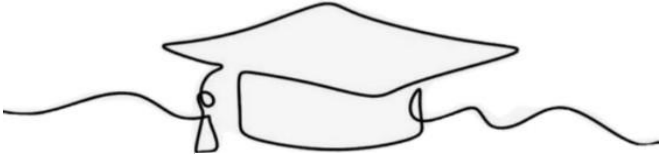
*À mes chères binômes **Latifa et Malak**, avec qui j'ai partagé cette expérience universitaire. Je leur souhaite réussite, bonheur et épanouissement dans leur vie professionnelle et personnelle.*

*À mon amie intime **Karima**, ainsi qu'à toutes mes amies sans exception, pour leur soutien, leur amitié sincère et les précieux moments partagés.*

***À moi-même**, pour ma persévérance, ma patience et ma détermination. Malgré les moments de doute, de fatigue et les nombreuses difficultés rencontrées tout au long de ce parcours, je n'ai jamais cessé d'avancer. Je suis fière du chemin parcouru, des obstacles surmontés et des efforts fournis qui m'ont permis d'atteindre cet objectif et d'achever ce travail avec succès.*

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce projet, je leur adresse mes sincères remerciements.

Meriem…



Dédicace

Avant tout, je remercie ***Allah*** *qui m'a guidée et soutenue tout au long de ce chemin. Sans sa volonté, je ne serais jamais arrivée jusque-là.* ***Alhamdoulillah***

Je dédie ce précieux travail :

À mes chers parents,

À ma tendre mère ***Benlakhdar Noudjoud****, ce cœur rempli de tendresse, d'amour infini et de pureté, dont les prières sacrées m'ont accompagnée à chaque étape de ma vie. Tu es ma plus grande force, mon privilège et mon plus beau refuge.*

À mon très cher père ***Abdelhak****, l'homme qui a porté mes soucis avant même que je ne les exprime, qui a sacrifié son confort pour me voir réussir et atteindre mes objectifs. Aucun mot ne pourra exprimer toute ma gratitude. Ce travail est le fruit de vos sacrifices, de votre soutien inconditionnel et de votre amour absolu. Qu'Allah vous protège, vous accorde une longue vie et une santé de fer.*

À mes chers frères, Alaa, Nidal et Yezen

Merci pour votre présence constante à mes côtés, votre précieux soutien et votre affection qui me donnent toujours de la force. Merci pour vos sourires qui ont toujours su alléger mes moments de fatigue. Vous êtes mes piliers et ma fierté. Je vous souhaite un avenir brillant, plein de succès.

À mes chères tantes, Lamis et Radia

Merci pour votre amour, votre bienveillance et votre soutien chaleureux tout au long de mon parcours. Qu'Allah vous protège, vous bénisse et vous accorde le bonheur et la santé.

À la mémoire de ma chère grand-mère, Saifi Laila

Partie le 11 juillet 2025... Ton départ a laissé un grand vide, mais ton amour reste gravé dans mon cœur. Qu'Allah t'accorde Sa miséricorde et t'accueille dans Son vaste paradis. Tu me manques tellement.

À mes collègues de mémoire, Meriem et Latifa *Merci pour nos efforts partagés et notre collaboration tout au long de ce travail.*

À moi-même,*Pour clore ce chapitre, je me remercie pour ma persévérance, mon courage et ma patience face à chaque défi. Je suis fière de ce parcours et prête pour l'avenir.*

Malak...

Résumé

Cette étude met en évidence le rôle conservateur et aromatisant de l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita*) incorporée en combinaison avec la nisine dans un fromage traditionnel algérien. Le produit a été fabriqué à partir de lait de vache selon un processus semi-industriel. Les analyses physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques ont été effectuées en triple essai sur des échantillons de fromage à caillé lactique incorporés avec des concentrations croissantes d'huile essentielle (1 %, 2 % et 3 %). L'activité antimicrobienne de cette combinaison a également été évaluée *in vitro*.

Les propriétés physico-chimiques montrent une qualité satisfaisante du lait. L'élévation du taux d'huile essentielle a entraîné des modifications dans la teneur en lactose (4,24 ± 0,26 % pour le lot à 3 %) et la matière sèche (lots à 1% et 3 %). Sur le plan microbiologique, une absence totale de *Salmonella* est enregistrée, tandis que la présence de *Clostridium* sulfito-*réducteurs* est détectée. Une population élevée en bactéries lactiques (entre $3,65 \times 10^7$ UFC/g et $1,60 \times 10^9$ UFC/g) a été remarquée, ainsi qu'une nette diminution des coliformes totaux et fécaux dans les lots traités. Sur le plan sensoriel, le fromage additionné à 3% d'huile essentielle a été très bien accepté par les panélistes.

Enfin, l'huile essentielle seule a révélé des diamètres d'inhibition allant de 10,00 ± 0,00 mm à 34,00 ± 0,74 mm, avec une concentration minimale inhibitrice de 1,25 µl/ml pour la nisine et 12,5 µl/ml pour l'huile essentielle. L'étude combinée par diffusion sur disque montre un effet antagoniste ou indifférent, tandis que la méthode de micro-dilution révèle une association additive contre *Staphylococcus aureus*.

Mots-clés : Conservation, aromatisation, analyses physico-chimiques, qualité sensorielle, analyses microbiologiques, activité antimicrobienne.

Abstract

This study highlights the preservative and flavoring roles of peppermint essential oil (*Mentha piperita*), incorporated in combination with nisin, in a traditional Algerian cheese. The product was manufactured from cow's milk using a semi-industrial process. Physicochemical, microbiological, and organoleptic analyses were performed in triplicate on lactic curd cheese samples supplemented with increasing concentrations of essential oil (1%, 2%, and 3%). The antimicrobial activity of this combination was also evaluated in vitro.

The physicochemical properties showed satisfactory milk quality. Increasing the essential oil concentration resulted in changes in lactose content (4.24 ± 0.26% for the 3% batch) and dry matter content (1% and 3% batches). From a microbiological point of view, a complete absence of *Salmonella* was recorded, whereas the presence of *sulfite-reducing Clostridium* was detected. A high population of lactic acid bacteria (ranging from 3.65×10^7 CFU/g to 1.60×10^9 CFU/g) was observed, together with a marked reduction in total and fecal coliforms in the treated batches. Sensory evaluation revealed that the cheese supplemented with 3% essential oil was highly appreciated by the panelists.

Finally, the essential oil alone exhibited inhibition zone diameters ranging from 10.00 ± 0.00 mm to 34.00 ± 0.74 mm, with a minimum inhibitory concentration of 1.25 µl/ml for nisin and 12.5 µl/ml for the essential oil. The combined study using the disk diffusion method showed an antagonistic or indifferent effect, whereas the microdilution method revealed an additive association against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Preservation, Flavoring agents, Physicochemical analyses, Sensory evaluation, Microbiological analyses, Antimicrobial activity.

ملخص

هدفت هذه الدراسة إلى إبراز الدور الحافظ والمنكّه للزيت العطري للنعناع الفلفلي (*Mentha piperita*) عند دمجه مع النيسين في جبن تقليدي جزائري. تم تصنيع المنتج انطلاقًا من حليب الأبقار وفق عملية شبه صناعية. وأُجريت التحاليل الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية والحسية بثلاث مكررات على عينات من الجبن المتخثر لبنيًا والمدعمة بتراكيز متزايدة من الزيت العطري (1%، 2% و3%). كما تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لهذا المزيج مخبريًا.

أظهرت النتائج الفيزيائية والكيميائية جودة مرضية للحليب المستخدم. كما أدى ارتفاع تركيز الزيت العطري إلى إحداث تغيرات في محتوى اللاكتوز (4.24 ± 0.26% بالنسبة للعينة المحتوية على 3% من الزيت العطري) وفي نسبة المادة الجافة بالنسبة للعينتين المحتويتين على 1% و3%. ومن الناحية الميكروبيولوجية، سُجل غياب تام لبكتيريا السالمونيلا، في حين تم الكشف عن وجود بكتيريا الكلوستريديوم المختزلة للكبريتيت. كما لوحظت كثافة مرتفعة للبكتيريا اللبنية تراوحت بين 3.65×10^7 و1.60×10^9 وحدة مكوّنة للمستعمرات/غرام، إلى جانب انخفاض ملحوظ في أعداد القولونيات الكلية والبرازية في العينات المعالجة. أما التقييم الحسي فقد أظهر أن الجبن المدعم بنسبة 3% من الزيت العطري حظي بقبول مرتفع لدى أعضاء لجنة التذوق.

وأخيرًا، أظهر الزيت العطري بمفرده أقطار تثبيط تراوحت بين 10.00 ± 0.00 مم و34.00 ± 0.74 مم، مع تركيز مثبط أدنى بلغ 1.25 ميكرولتر/مل للنيسين و12.5 ميكرولتر/مل للزيت العطري. كما أظهرت الدراسة المشتركة باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص تأثيرًا تضاديًا أو غير مبالٍ، في حين كشفت طريقة التخفيف الدقيق عن تأثير إضافي ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) .

الكلمات المفتاحية: الحفظ، المنكهات، التحاليل الفيزيائية والكيميائية، التحليل الحسي، التحاليل الميكروبيولوجية، النشاط المضاد للميكروبات.

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1 : composition moyenne du fromage frais pour 100 g de produit frais.	**12**
Tableau 2 : Classification des bactériocines, leurs caractéristiques et les principales souches.	**19**
Tableau 3 : Classification de *Mentha piperita.*	**34**
Tableau 4 : Composition chimique de la menthe poivrée.	**35**
Tableau 5 : Valeurs des dilutions utilisées dans la détermination des CMI de l`huile essentielle et de la nisine.	**62**
Tableau 6: les combinaisons entre l'huile et la nisine.	**63**
Tableau 7 : Résultats d'analyse physicochimique des fromages frais.	**66**
Tableau 8 : Résultats d'analyse microbiologique du fromage frais.	**71**
Tableau 9 : l'effet de combinaison de l'HE de *Mentha piperita* et de la nisine par la méthode de diffusion sur disques.	**86**
Tableau 10 : Effet de différentes combinaisons contre les trois souches testées pour les différentes concentrations d'HE et la nisine**.**	**86**
Tableau 11 : Résultat de CMI de de HEMP et de la nisine sur la souche indicatrice.	**88**
Tableau 12 : Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) de la combinaison de l'HE de *Mentha piperita* et de la nisine sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.	**90**

Liste des figures

Figures	Page
Figure 1 : Schématisation des étapes intervenant lors de la coagulation acide des micelles de Caséine.	**06**
Figure 2 : Schématisation du processus intervenant au cours de la coagulation.	**06**
Enzymatique des caséines du lait. CMP : caséinomacropeptide, partie hydrophile de la micelle, libérée suite à l'action de L'enzyme.	**07**
Figure 3 : les espèces végétales utilisées pour accélérer la coagulation du lait.	**07**
Figure 4 : Représentation schématique des deux formes de nisine A et Z.	**21**
Figure 5 : Mécanisme d'action de la nisine.	**22**
Figure 6 : structures chimiques des principaux constituants des huiles essentielles.	**27**
Figure 7 : Illustration du dispositif d'hydrodistillation type Clevenger.	**29**
Figure 8 : Dispositif de la distillation par entrainement à la vapeur.	**30**
Figure 9 : Schéma du processus d'extraction par fluide supercritique.	**32**
Figure 10 : Représentation schématique de l'équipement d'extraction assistée par micro-ondes.	**33**
Figure 11 : Feuilles de *Mentha piperita.*	**34**
Figure 12 : *Mentha piperita.*	**42**
Figure 13 : L'extraction d'huile essentielle de *Mentha piperita***.**	**44**
Figure 14 : Préparation de levain lactique mésophile.	**45**
Figure 15 : Les différentes étapes de la fabrication du fromage frais à caillé lactique.	**46**
Figure 16 : Incorporation de la nisine et de l'huile essentielle de *Mentha piperita* dans le fromage frais.	**48**
Figure 17 : La préparation de la solution mère et les dilutions décimales.	**55**
Figure 18 : Dénombrement des coliformes totaux (à 37 °C) et fécaux (à 44 °C).	**56**
Figure 19 : Recherche et dénombrement des Staphylocoques**.**	**57**
Figure 20 : Dénombrement des levures et moisissures par la méthode d'étalement.	**57**
Figure 21 : Dénombrement de la flore lactique.	**58**
Figure 22 : Recherche des Salmonelles.	**59**
Figure 23 : Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfato-réducteurs.*	**60**
Figure 24 : Schéma de microplaque utilisée dans la détermination des CMI de la combinaison de l'huile essentielle et la nisine vis-à-vis d`une souche indicatrice.	**64**

Figure 25 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 1% de l'huile essentielle. de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).	**76**
Figure 26 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 2% de l`huile essentielle de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).	**77**
Figure 27 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 3% de l'huile essentielle de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).	**78**
Figure 28 : Effet de la combinaison HE- NIS à différentes concentrations sur *E. coli* ATCC 25422.	**83**
Figure 29 : Effet de la combinaison HE- NIS à différentes concentrations sur *B. subtilis* ATCC 9372.	**84**
Figure 30 : Effet de la combinaison HE- NIS à différentes concentrations sur *S. aureus* ATCC 25923.	**86**
Figure 31 : Lecture de la microplaque de HEMP et NIS vis-à-vis la souche indicatrice.	**90**

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

µl/ml: Microlitre par millilitre

AFNOR : Association Française de Normalisation

Ag^+ : Ion Argent

ATCC : American Type Culture Collection

Aw : Activité de l'eau

BHT : Butylhydroxytoluène

BL : Bactéries Lactiques

BMH : Bouillon Mueller-Hinton

BN : Bouillon Nutritif

BNCC : Banque Nationale de Cultures de Collection

CI50 : Concentration Inhibitrice 50 %

cm : Centimètre

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMP : Caséinomacropeptide

CO_2 : Dioxyde de carbone

Da : Dalton

DHA : Acide Docosahexaénoïque

DHB : Acide 2,3-Dihydroxybenzoïque

DL_{50}: Dose Létale 50 %

DMSO : Diméthylsulfoxyde (*Dimethyl Sulfoxide*)

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

°D : Degré Dornic

E : Echantillon

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (*Food and Agriculture Organization*)

FDA: *Food and Drug Administration*

FICI : Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire (*Fractional Inhibitory Concentration Index*)

FIL : Fédération Internationale de Laiterie (*Fédération Internationale du Lait*)

g : Gramme.

g/cm^3 : Gramme par centimètre cube

g/l : Gramme par litre

GN : Gélose Nutritive

GRAS : "Generally Recognized As Safe" (Généralement reconnue comme saine)

h : Heure

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

HEMP : l`huile essentielle de *Mentha piperita*

HEs : Huiles essentielles

His: Histidine

ISO : Organisation Internationale de Normalisation (*International Organization for Standardization*)

J.C : Jésus-Christ

Kg: Kilogramme

KOH/g : Milligramme d'hydroxyde de potassium par gramme

Lan : Lanthionine

Mg : Magnésium

MG : Matière Grasse

mg/ml : Milligramme par millilitre

MH : Mueller-Hinton.

min : Minute

ml : Millilitre

MRS : Milieu de Man, Rogosa et Sharpe

MRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

MS : Matière Sèche

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NIS : Nisine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PC : pression critique

PH : Potentiel Hydrogène

SS : Gélose *Salmonella-Shigella*

Ssp : Sous-espèce (*Subspecies*)

TC : conditions de température

UFC/g : Unités Formant Colonie par gramme

UFC/ml : Unités Formant Colonie par millilitre

UI/ml : Unités Internationales par millilitre

VF : Viande Foie

VRBL : Gélose Violet Red Bile Lactose

XIXème : Dix-neuvième siècle

Table de matière

Remerciements.....i
Dédicace.....ii
Résumé iii
Abstract iv
ملخص..... v
Liste de tableaux.....vi
Liste de figures.....vii
Liste des abréviations……..…….. ix
Introduction générale.....01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : Le fromage

1. Généralités sur le fromage……04
1.1 Aperçu historique du fromage……04
1.2. Définition du fromage……04
1.3. Technologie du fromage……04
1.3.1. Sélection et prétraitement du lait de fromagerie 04
1.3.2. Coagulation 05
1.3.2.1. La coagulation enzymatique 06
1.3.2.2 La coagulation mixte 07
1.3.3. Égouttage……07
1.3.4. Salage 07
1.3.5. Affinage 08
1.4 Classification de fromage 08
1.5. Principaux fromages traditionnels algériens 08
1.5.1. *Jben* 09
1.5.2. *Kemariya* 09
1.5.3. *Michouna* 09
1.5.4. *Madghissa* 10
1.5.5. *Takammart* 10
1.5.6. *Klila* 10
1.5.7. *Bouhezza* 11
2. Fromages frais 11

2.1 Définition **11**
2.2 Composition de fromage frais **11**
2.3. Caractéristiques de fromage frais **12**
2.3.1. Caractéristiques sensorielles **12**
2.3.2. Caractéristiques physicochimiques **12**
2.3.3. Caractéristiques microbiologiques **13**
2.3.3.1. Flores indigènes **13**
2.3.3.2. Flores de contamination **13**
2.3.3.3. Flores apportées **14**
2.4. Conservation et stabilité de fromage frais **15**
Chapitre 2 : Les conservateurs alimentaires
1. Les conservateurs alimentaires **17**
1.1 Définition **17**
1.2 Types de conservateurs alimentaires **17**
1.3 Mécanismes d'action de conservateurs **18**
2. Bactériocines **18**
2.1.Définition **18**
2.2. Classification **18**
2.3. Biosynthèse **20**
3. Nisine **20**
3.1 Définition **20**
3.2 Structure et propriétés physicochimiques **20**
3.3 Spectre d'activité et mode d'action **21**
3.4 Toxicité **22**
3.5 Utilisation de la nisine comme conservateur alimentaire **23**
Chapitre 3 : Les huiles essentielles
1. Généralité sur les huiles essentielles **25**
1.1 Historique et l'origine **25**
1.2 Définition **25**
1.3 Composition des huiles essentielles **26**
1.3.1 Les terpènes **26**
1.3.2 Les composés aromatiques **26**
1.3.3 Composés d'origines diverses **27**
1.4 Localisation des huiles essentielles dans la plante **27**
1.5 Caractéristiques des huiles essentielles **28**

2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles **28**
2.1. Extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau **29**
2.2. Extraction à froid **30**
2.3. Extraction par les solvants organiques **30**
2.4. L'extraction par CO_2 supercritique **31**
2.5. Extraction assistée par micro-ondes **32**
3. *Mentha piperita* L **33**
3.1. Composition chimique **35**
3.2. Répartition géographique **35**
3.3. Huiles essentielles de *Mentha piperita* **36**
3.3.1. Propriétés physiques et composition chimique **36**
3.3.2. Activités biologiques **36**
3.3.2.1. Activité antioxydante **36**
3.3.2.2. Activité antimicrobienne **36**
3.4. Domaines d'utilisation **37**
3.4.1. Phytothérapie **37**
3.4.2. Alimentaire **37**
3.4.3. Toxicité d'huiles essentielles **37**
4. Combinaison bactériocine-huile essentielle **38**
4.1. Principe et intérêt de la combinaison **38**
4.2 Exemples de combinaison **38**

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et méthodes

1. Cadre d'étude et objectifs **41**
2. Matériel **41**
2.1. Matériel non biologique **41**
2.2. Matériel biologique **42**
3. Méthodes **42**
3.1. Extraction de l'huile essentielle de *Mentha piperita* **43**
3.2. Préparation de levain lactique mésophile (le même jour que la préparation du fromage) **44**
3.3 Fabrication du fromage frais à caillé lactique **45**
3.4 Incorporation de la nisine et de l'huile essentielle de *Mentha piperita* dans le fromage frais **46**
3.5. Analyses physico-chimiques des fromages fabriqués **48**

3.5.1. Mesure du pH 48
3.5.2. L'acidité titrable 49
3.5.3. Dosage de lactose 49
3.5.4. Détermination de l'extrait sec total (l'EST) 49
3.5.5. Détermination du taux de la matière grasse (MG) 51
3.5.6. Détermination de la teneur en azote totale 52
3.5.7. Détermination du rendement fromager 54
4. Analyses microbiologiques 54
4.1. Préparation des dilutions décimales 55
4.2. Dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux 55
4.3. *Staphylocoques aureus* 56
4.4. Levures et moisissures 56
4.5. Flore lactique (lactobacilles et lactocoques) 57
4.6. Recherche de *salmonella* 58
4.7. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs (CSR) 58
5. Analyses sensorielles 60
6. Etude de l`activité antimicrobienne de l`huile essentielle de *Mentha piperita* (HEMP) et de la nisine 61
6.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de HEMP et de la nisine 61
6.2. Détermination de types d'interaction entre HEMP et la nisine 62
6.2.1. Étude de l'effet de combinaison «HEMP / nisine» par la méthode de diffusion sur disque 62
6.2.2. Étude de l'association «huile essentielle/nisine» par la méthode de micro dilution en milieu liquide 63

Résultats et discussion

1. Caractéristiques physico-chimiques des fromages frais 65
1.1 pH 65
1.2 Rendement fromager 67
1.3 Lactose 67
1.4 Matière sèche 68
1.7 Protéines totales 69
1.8 Matière grasse/matière sèche (G/S) 69
1.9 L'acidité titrable 70
1.9 Salinité 71

2. Analyses microbiologiques 71

2.1 *Salmonella* 72

2.2 *Clostridium* sulfito-réducteurs 72

2.3 Flore lactique 72

2.4 Levures et moisissures 73

2.5 Coliformes totaux 73

2.6 Coliformes fécaux 74

2.7 *Staphylococcus aureus* 75

3. Résultat de test sensoriel du fromage frais 75

3.1. Couleur 78

3.2. Odeur 78

3.3. Texture collante 79

3.4. Aspect grumeleux 79

3.5 Aspect homogène 79

3.6 Acidité 80

3.7 Salinité 81

3.8. Arrière-goût 82

4. Résultats de l'activité antimicrobienne 82

4.1. Résultats du test de l'effet antibactérien de la combinaison (huile essentielle 83

4.2 Résultat de e la concentration minimale inhibitrice (CMI) de HEMP et de la nisine 87

4.3 Résultat d'Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) de la combinaison de l'HE de *Mentha piperita* et de la nisine sur *Staphylococcus aureus* 88

Conclusion Générale et Perspectives 92

Références bibliographiques 95

Annexes 116

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

Introduction

Le lait et les produits laitiers sont des aliments source d'énergie, de nutriments, de vitamines et de minéraux. Parmi ces produits laitiers, le fromage est en effet un produit laitier d'une richesse exceptionnelle. Sa très grande diversité s'explique par une multitude de facteurs liés à l'origine du lait et aux techniques de fabrication (**Garric, 2020**). Le fromage est préparé par des technologies modernes basées sur l'utilisation des ferments contrôlés, ou bien, est fabriqué de manière artisanale par des techniques spéciales pour chaque région dans le monde, en permettant d'avoir des fromages traditionnels typiques, avec des caractéristiques organoleptiques diversifiées.

La sécurité sanitaire des fromages au lait cru par rapport aux fromages industriels a été remise en question. Cependant, il a été signalé que dans certains cas, le fromage au lait pasteurisé causait une incidence plus élevée de maladies provoquées par les contaminations alimentaires que celle observée pour le fromage au lait cru (**Quynh My, 2019**).

Les aliments constituent de véritables milieux de culture de microorganismes. Par conséquent, ils sont capables de provoquer diverses affections chez le consommateur, dont la gravité dépend de la nature et de la charge microbienne, ainsi que de la toxicité de leurs produits d'excrétion (**Von Gastrow, 2021**).

Les moyens de lutte employés contre ces agents pathogènes font le plus souvent appel aux barrières microbiologiques traditionnelles telles que le sel ou le sucre en hautes concentrations, la fumée, le chauffage, la réfrigération, la congélation (**Donkor *et al.*, 2025**). L'industrialisation de l'alimentation au cours du XIXème siècle et les progrès de la chimie et les nouvelles connaissances en microbiologie ont conduit progressivement à l'utilisation d'additifs alimentaires chimiquement identifiés, destinés notamment à prévenir les dégradations microbiologiques des aliments, mais aussi à en moduler de nombreux aspects dont la couleur en particulier (**Hachez-Leroy, 2019**).

Selon la définition du comité mixte **FAO OMS (1990)**, les additifs alimentaires comme étant des substances n'ayant pas de valeurs nutritives et ils sont ajoutés intentionnellement aux aliments le plus souvent en faible quantité pour en améliorer l'apparence, la saveur, la consistance ou la conservation. Par ailleurs, les consommateurs refusent de plus en plus les aliments préparés avec des agents conservateurs d'origine chimique qui peuvent avoir des effets

négatifs sur la salubrité des aliments et nuire à la santé des consommateurs en raison de leurs effets cancérigènes et tératogènes ou de leur toxicité résiduelle (**Von Gastrow, 2021**).

Ainsi, les industries agroalimentaires se tournent de plus en plus vers des techniques de préservation plus douces qui peuvent conduire à l'obtention des aliments sécurisés, présentant un aspect plus naturel et une qualité nutritive affectée au minimum (**Leyral, 2007**). Ces techniques sont orientés vers la recherche de substances naturelles d'origine microbien comme les bactériocines des bactéries lactiques qui montrent une activité contre les bactéries qui sont résistantes aux antibiotiques classiques, et d'origine végétale comme les huiles essentielles des plantes médicinales **(Zmouli & Soualmia, 2023)**.

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme étant saines, de statut "GRAS" (Generally Recognized As Safe) et jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments (**Bounaama, 2024**). Ces bactéries sont connues pour leur activité inhibitrices et antagoniste due principalement à la production des molécules de nature protéiques dénommées bactériocines. Les bactériocines des bactéries lactiques pourraient être des conservateurs alimentaires intéressants à l'échelle industrielle du fait de leur thermo-stabilité, de leur résistance aux variations de pH et de leur spectre d'action contre des bactéries pathogènes et indésirables colonisant les produits alimentaires (**Gálvez *et al*., 2007**).

Par ailleurs, quelques bactériocines présentent des propriétés qui les placent parmi les substances sans danger pour l'homme, comme en particulier l'absence de toxicité pour les cellules eucaryotes et la perte d'activité en présence des protéases présentes dans le tube digestif (**Mechai, 2009**). Actuellement, seules la nisine et la pédiocine PA-1 produites par des bactéries lactiques sont autorisées dans le domaine alimentaire comme conservateurs (**Kout, 2017**).

D`autres part, l'utilisation des huiles essentielles comme bio-conservateur a fait l'objet d'une centaine de travaux de recherche qui démontre leur efficacité au niveau des aliments aussi bien pour la prolongation de leur durée de vie que pour l'aromatisation.

Plusieurs études in *vitro* ont montré une grande efficacité des huiles essentielles contre les agents pathogènes d'origine alimentaire et les bactéries d'altération. Elles sont connues à la fois pour leurs propriétés aromatisantes et antimicrobiennes et leur faible toxicité comparée à celle des additifs alimentaires synthétiques.

Ce mémoire est structuré en deux principales parties :

La première partie constitue une revue bibliographique synthétique :

Chapitre 1 : Généralités sur les fromages traditionnels en Algérie, traitant de leurs types, technologie de fabrication, composition chimique et microbiologie du fromage frais à caillé lactique.

Chapitre 2 : Étude dédiée aux conservateurs alimentaires, axée principalement sur la nisine, ses propriétés, ses mécanismes d'action et son rôle dans la stabilisation des produits laitiers.

Chapitre 3 : Synthèse sur les huiles essentielles et leurs activités antimicrobiennes, avec un focus particulier sur la plante de menthe poivrée (*Mentha piperita*).

La deuxième partie représente l'étude pratique et expérimentale :

Une partie expérimentale résumant le matériel utilisé et les protocoles des analyses physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles.

Les résultats obtenus, accompagnés d'une discussion approfondie.

En conclusion, les principales observations seront présentées et quelques recommandations et perspectives d'avenir seront proposées.

Chapitre 01
Le fromage

1. Généralités sur le fromage

1.1 Aperçu historique du fromage

Le fromage est l'un des plus anciens aliments fermentés. Historiquement, il était obtenu par fermentation spontanée du lait, ce qui permettait une meilleure conservation du lait. La fabrication du fromage et sa consommation ont évolué avec l'âge pour devenir un produit populaire, retrouvé dans le monde entier **(Typhaine, 2025)**.

Les fromages figurent parmi les premières denrées fermentées élaborées par l'homme. Leur production a progressivement évolué au fil des siècles, influencée par les avancées technologiques ainsi que par les contextes sociaux et économiques dans différentes régions du monde **(Kothe, 2021)**.

Aujourd'hui, on recense environ un millier de fromages dans le monde, et ce chiffre pourrait être encore plus élevé si l'on inclut les fromages fermiers non répertoriés **(Commenges, 2023)**.

1.2. Définition du fromage

Le fromage est un produit dérivé du lait, qu'il soit affiné ou non, présentant une texture molle, semi-dure, dure ou extra-dure. Il peut également être enrobé et le ratio de protéines de lactosérum sur caséine ne doit pas excéder celui du lait **(Omrani *et al.*, 2025)**.

Ainsi, le terme « fromage » désigne une grande diversité de produits qui se distinguent par leur forme, leur texture et leurs caractéristiques propres. L'éventail de fromages est le plus large parmi les produits alimentaires, grâce à plusieurs éléments déterminants : l'espèce animale (vache, brebis, chèvre, etc.), la race, la provenance du lait (exploitation), ou parfois la combinaison de ces différents laits. D'autres facteurs incluent la méthode de fabrication du caillé ou coagulum (acidification lactique ou enzymatique – présure d'origine animale, végétale ou mixte), l'égouttage du lactosérum, le lavage du caillé, la synérèse à une température précise (de 30°C à 55°C), le salage, le vieillissement et l'enrobage par ajout d'additifs alimentaires **(Bounaama, 2024).**

1.3. Technologie du fromage

1.3.1. Sélection et prétraitement du lait de fromagerie

Le lait destiné à la production du fromage est souvent soumis à diverses opérations afin d'optimiser ses caractéristiques ou de prévenir d'éventuels défauts susceptibles de se manifester au cours du processus de transformation **(Tabet, 2024)**.

- **La standardisation du lait :** permet de maîtriser les proportions d'eau et de graisse, tout en respectant la législation et en assurant une qualité constante **(Vigneux, 2023)**.
- **La pasteurisation :** une technique qui implique de chauffer le lait pendant 15 à 20 secondes à une température variant entre 72 °C et 85 °C afin de réduire la diversité des micro-organismes présents dans le lait tout en préservant un goût et une valeur nutritive semblables à ceux du lait cru **(Cardin, 2021)**.
- **La thermisation :** une technique consistant à chauffer le lait à des températures entre 57°C et 68°C pendant 15 à 20 secondes, employée en fromagerie pour certains produits affinés **(Langlois-Deshaies, 2022)**.

1.3.2. Coagulation

La coagulation du lait constitue une étape essentielle de la fabrication du fromage, elle correspond à la transformation d'un liquide en gel viscoélastique. Pour provoquer la coagulation, il est nécessaire de modifier les propriétés physicochimiques des micelles de caséine et de perturber l'équilibre entre la phase soluble et la phase colloïdale **(Dormenval, 2024).** Cette étape peut être réalisée soit par action enzymatique, notamment par l'utilisation de la présure, soit par acidification du lait. En pratique fromagère, ces deux mécanismes sont souvent combinés, conduisant à une coagulation dite mixte **(Kothe, 2021).**

L'acidification du lait est assurée progressivement, provoquée par les bactéries lactiques présentes naturellement dans le lait ou ajoutées sous forme de levains **(Leksir, 2018).** Elles décomposent le lactose du lait en acide lactique **(Diet, 2025).** Ce qui entraine une baisse du pH modifiant la structure de la caséine micellaire et la dissociation du phosphate de calcium colloïdal des micelles. Les charges négatives des micelles de caséine sont donc neutralisées, ce qui favorise leur regroupement au point isoélectrique (pH 4,6). Cela donne naissance à un réseau poreux composé d'agrégats faiblement liés **(Figure 1)**. De plus, l'augmentation de la concentration en protéines dans le réseau gélifié est due à la contribution active des protéines dénaturées du lactosérum à la formation de la structure **(Nitu *et al.*, 2021).**

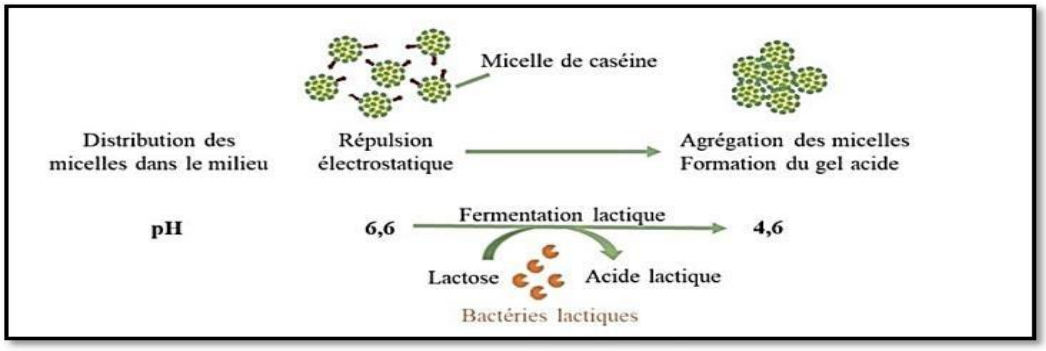


Figure 1 : Schématisation des étapes intervenant lors de la coagulation acide des micelles de caséine **(Diet, 2025).**

1.3.2.1. La coagulation enzymatique

La coagulation enzymatique du lait est une étape clé dans la production du fromage, le type d'enzyme utilisé à ce stade est important, puisqu'il conditionne en grande partie la qualité du produit obtenu, sa texture ainsi que ses propriétés organoleptiques. De nombreuses enzymes protéolytiques peuvent être classées en trois catégories :

- **D'origine animale :** la présure est principalement constituée de chymosine et de pepsine, des enzymes produites dans la caillette des jeunes ruminants qui se nourrissent de lait **(Tabet, 2024).**

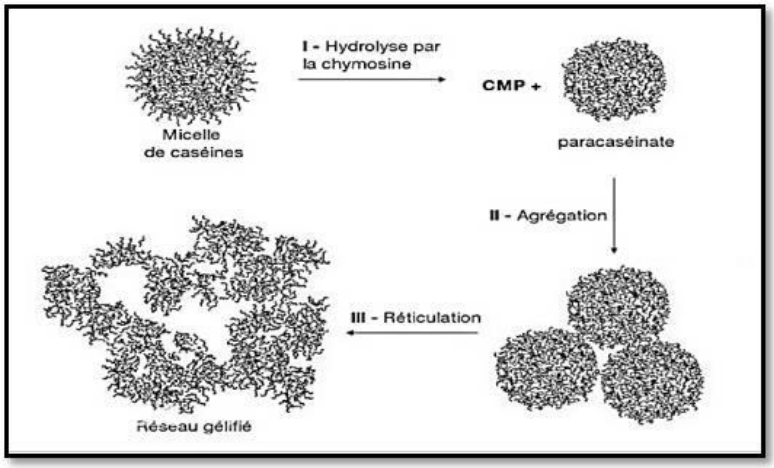


Figure 2 : Schématisation du processus intervenant au cours de la coagulation Enzymatique des caséines du lait. CMP : caséinomacropeptide, partie hydrophile de la micelle, libérée suite à l'action deL'enzyme **(Cardin, 2021).**

- **D'origines végétales :** connues sous le nom de « coagulants végétaux », extraites de certaines plantes telles que les fleurs du cardon (*Cynara cardunculus) ou du Cynara*

scolymus **(Figure 3)**. Ces protéases sont des enzymes qui peuvent hydrolyser les caséines du lait à diverses températures et pH **(Nicosia *et al.*, 2022)**.



(a) : Cardon (Cynara cardunculus) **(b): Cynara scolymus**

Figure 3 : les espèces végétales utilisées pour accélérer la coagulation du lait

(a) : (Zikou, 2021) ; (b) : (Zaker-Esteghamati *et al.*, 2021)

- **D'origine microbienne :** des protéases agissant sur la caséine sont produites par diverses bactéries et moisissures, dont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Elles produisent des protéases, des amylases et des saccharases. On utilise aussi des espèces de champignons comme *Mucor miehei* et *Rhizomucor miehei* pour la fabrication de présures microbiennes. Ces enzymes sont produites par fermentation contrôlée, mais donnent parfois des caillés moins cohésifs que la présure animale **(Beka, 2011).**

1.3.2.2 La coagulation mixte

La formation de la coagulation est généralement due à une combinaison de l'acidification et des enzymes protéolytiques. Les gels issus de ce processus de coagulation mixte présentent des traits qui se situent entre ceux des gels obtenus par l'acidité et ceux produits par des enzymes **(Amimour, 2019).**

1.3.3 Égouttage

L'égouttage est l'étape qui permet la séparation du lactosérum et du caillé, principalement grâce au phénomène de synérèse et à la contraction des micelles de caséine. Cette séparation se déroule généralement en deux phases. La première consiste en l'élimination d'une grande partie du lactosérum par soutirage. La seconde regroupe le moulage, le pressage et le salage du caillé **(Abi Rizk, 2025).**

1.3.4. Salage

Le sel joue un rôle crucial dans la fabrication du fromage, car il contribue à améliorer la sécurité, la qualité et la saveur du produit. Il améliore également la texture du fromage en lui conférant un caractère visqueux grâce à son pouvoir hydratant et en régulant l'activité des micro-organismes **(Amer *et al*., 2023).**

1.3.5. Affinage

Il s'agit de la phase la plus compliquée et prolongée dans la production des fromages affinés, qui détermine les propriétés physicochimiques et microbiologiques de chaque produit achevé. Ce processus biochimique implique la digestion enzymatique du caillé par divers agents de maturation : les enzymes internes du lait, les enzymes de coagulation (présure, enzymes microbiennes), la microflore lactique originelle ou non, les levains, la microflore non lactée et la flore fongique. Ces différentes réactions biochimiques détermineront les propriétés organoleptiques et texturales du fromage. Le temps d'affinage varie en fonction du fromage, et peut s'étendre de quelques semaines à deux ans ou même plus **(Sebbane, 2021)**.

C'est aussi pendant cette phase que la croûte du fromage acquiert ses propriétés sous l'influence de bactéries, de levures et de champignons filamenteux, qui sont naturellement présents ou ajoutés en tant que cultures commerciales **(Penland, 2020)**.

1.4. Classification de fromage :

On peut classer le fromage selon le type de lait, la façon dont il est caillé, sa consistance, sa teneur en matière grasse, le traitement thermique, et sa méthode et durée de maturation. Cela entraîne une multitude de fromages.

Le processus de coagulation (par chauffage, par ajout ou production d'acide, par utilisation d'un coagulant ou combinaison de ces méthodes) permet d'obtenir diverses sortes de fromages en fonction du type de caillé. On désigne le fromage obtenu par l'action de la présure, qui entraîne une coagulation enzymatique, comme étant du fromage à caillé enzymatique. Le fromage produit par coagulation acide est catégorisé comme fromage à base de caillé lactique. Le fromage à caillé mixte est le produit de l'application simultanée des deux méthodes (enzymatique et lactique) **(Bounaama, 2024)**.

1.5. Principaux fromages traditionnels algériens

En Algérie, les produits laitiers, et en particulier les fromages traditionnels, constituent une coutume largement reconnue, transmise de génération en génération. Cela représente un élément significatif de la culture algérienne **(Amimour, 2019)**. Ces fromages se distinguent les

uns des autres par leur processus de production, le type de lait utilisé, le type de coagulation (enzymatique et/ou acide), la durée d'affinage (si appliquée), la saveur, la consistance, la couleur et la diversité microbienne **(Tabet, 2024).**

1.5.1. *Jben*

Le « Jben » est un fromage frais traditionnel de type fromage à pâte mi-molle. Il est préparé à partir de lait cru de vache, de chèvre et de brebis ou de lait de vache pasteurisé **(Helaimia et Zairi, 2025)**, sans ajout de ferments lactiques **(Azzouz *et al*., 2025)**, produit à petite échelle dans certaines régions du nord-est et de l'ouest de l'Algérie pendant la récolte du lait **(Tadjine *et al*., 2021).**

Ce fromage possède des propriétés organoleptiques et nutritionnelles appréciables, issues d'une microflore autochtone (**Boumediene *et al.*, 2024).** Sa microflore variée, dominée par les bactéries lactiques, appartient aux genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Enterococcus* (**Tsouli Sarhir *et al*., 2022).**

La préparation du Jben commence par la filtration du lait afin d'éliminer les impuretés. Le lait acidifié spontanément et coagulé grâce à des enzymes coagulantes d'origine animale, provenant du morceau de caillette appelé « Douth ». Ou d'origine végétale issue des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus L*), d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*), d'artichaut (*Cynara scolymus*) et des feuilles de figuier (*Ficus carica*) **(Deruiche *et al.*, 2017 ; Metrouh, 2022)**. Le caillé est ensuite égoutté, salé ou non, pendant quelques jours, jusqu'à l'obtention de la consistance désirée du fromage **(Metrouh, 2022)**.

1.5.2. *Kemariya*

Kemariya ou *Takammérite* est un fromage frais traditionnel algérien, fabriqué à partir de lait de vache, de chèvre et parfois de chamelle dans le sud de l'Algérie, en particulier dans la wilaya de Ghardaïa **(Kheloufi *et al*., 2021).** La coagulation de lait s'effectue grâce à des enzymes naturelles provenant des gésiers de poulet, de la présure de chevreau ou des fleurs de cardon. Suite à la coagulation, le caillé est égoutté, moulé et parfois salé ou affiné, en fonction des pratiques locales. Ce fromage a une texture douce et une consistance crémeuse, généralement consommé frais ou ajouté à divers plats traditionnels algériens **(Benyahia *et al*., 2025)**.

1.5.3. *Michouna*

Le Michouna (ou chnina) est un fromage frais à pâte molle, fabriqué à partir de lait de chèvre ou de vache dans la région de Tébessa, fréquemment en milieu rural. Ce fromage a un extrait sec de 41 ± 1, un pH de 5,85 ± 0,15 et une courte durée de conservation (jusqu'à 6 jours) **(Derouiche *et al*., 2015).**

La procédure de préparation de ce fromage consiste à faire bouillir le lait, puis à y ajouter du « lben » (en quantité équivalente à la moitié du lait) et du sel, avant une seconde chauffe jusqu'à ce que le caillé se forme et que le lactosérum soit séparé. Le caillé est ensuite filtré, égoutté et pressé, généralement durant une nuit, puis conservé au froid **(Leksir *et al*., 2019).**

1.5.4. *Madghissa*

La madghissa (ou imdeghest) est un fromage fondu de la région de Chaouia (Algérie) préparé à partir de l'utilisation du Klila frais (un fromage à pâte dure) comme ferment. Ce dernier est mélangé avec du sel et du lait frais, puis chauffé jusqu'à la coagulation des protéines. Après refroidissement et égouttage du lactosérum, le produit fini se caractérise par un goût salé, une couleur jaune et une texture élastique **(Mefleh *et al*., 2022).**

1.5.5. *Takammart*

Littéralement 'fromage' en langue tamasheq (Touaregs), le Takammart est un fromage de la région désertique du Hoggar (province de Tamanrasset, dans le sud de l'Algérie) **(Leksir *et al*., 2019).** Sa fabrication se fait par introduction d'un morceau de caillette de chevreaux dans le lait. Le caillé obtenu est prélevé à l'aide d'une louche, puis déposé et pétri en galettes sur des nattes à base de tiges de fenouil, qui lui donnent un goût anisé. Les nattes sont ensuite exposées au soleil pendant deux jours, puis placées à l'ombre jusqu'à ce que le fromage devienne dur **(Leksir, 2018).**

1.5.6. *Klila*

Le Klila est un fromage traditionnel fermenté, préparé à partir de lait de chèvre, de brebis ou de chamelle, avec une fermentation spontanée **(Saci *et al*., 2025)**. Le Klila est produit et consommé dans différentes régions d'Algérie : Guelma, Oum El Bouaghi, Batna, Khenchela, Chellala et Souk Ahras **(Benzekri *et al*., 2024).**

La fabrication du Klila commence par la coagulation spontanée de lait à l'air libre grâce à sa flore indigène, puis le caillé obtenu est baratté et donne du beurre et du lben. Ce dernier est légèrement chauffé afin qu'il transforme et que le lactosérum se sépare de la matière

sèche. Après égouttage et pressage, on obtient un fromage frais. Le produit est consommé à l'état frais ou séché au soleil pour obtenir le Klila : un fromage extra dur **(Benamara *et al.*, 2022)**.

1.5.7. *Bouhezza*

Bouhezza est un fromage affiné traditionnel fabriqué et consommé depuis longtemps dans la région des Aurès (Chaouia) située au nord-est de l'Algérie (Oum El Bouaghi, Khenchela, Batna) **(Benyahia *et al*., 2025).** Ce fromage est préparé à partir de lait cru de trois espèces (vache, chèvre et brebis) utilisé seul ou en mélange, sans ajout de ferments ni de présure et sans aucun traitement thermique. Le fromage est obtenu après transformation de lait fermenté traditionnel « lben » dans un sac en peau animale perméable appelé « chekoua ou jeld de Bouhezza » préalablement traité au sel et au genévrier pendant une durée de 1 à 6 mois **(Medjoud *et al*., 2017 ; Boudalia *et al*., 2020 ; Aissaoui Zitoun *et al*., 2022)**.

2. Fromages frais

2.1 Définition

Le fromage frais est un fromage à pâte molle, non affiné **(Domagała *et al*., 2020)** et à égouttage lent **(Adda *et al*., 2024)**. Ce fromage, n'ayant subi que la fermentation lactique, répond à un critère supplémentaire : il doit contenir une flore viable lorsqu'il est vendu aux consommateurs.

Le fromage frais est fabriqué à partir de lait de vache, de chèvre, de brebis ou de leur mélange. Le lait peut être écrémé totalement ou partiellement, rester entier ou être enrichi en crème **(Hermine, 2022)**. La coagulation de lait se fait à l'aide de cultures starter et de présure (**Vukic *et al*., 2022).** La culture starter mésophile (*Lactococcus lactis subsp. lactis, Lc. lactis subsp. cremoris avec Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris et Lc. lactis subsp. lactis biovari diacetylactis)* est la plus fréquemment utilisée **(Bjekić *et al.*, 2021)**. Bien qu'il soit possible de fabriquer ce fromage sans présure ni autre enzyme coagulante, l'ajout de présure est généralement effectué afin de raffermir le coagulum et ainsi de minimiser la perte de caillé de caséine fragmenté dans le lactosérum. Ce fromage peut être consommé immédiatement après sa fabrication **(Bensmail *et al*., 2023)**.

2.2 Composition de fromage frais

Les fromages frais se caractérisent par leur valeur nutritionnelle élevée, ce qui leur confère une place notable dans l'alimentation quotidienne (**Tita *et al*., 2025) (Tableau 1)**. Les

métabolites de faible masse moléculaire tels que les acides aminés, les acides organiques et les acides gras et les peptides issus de la fermentation du lait sont à l'origine des caractéristiques gustatives et sanitaires du fromage frais **(Zhang *et al*., 2024)**.

Tableau 1 : composition moyenne du fromage frais pour 100 g de produit frais **(Zaouadi, 2020)**.

Constituant	Teneur moyenne
Eau (g)	76,8
Protéines (g)	8,85
Glucides (g)	3 ,73
Lipides (g)	9,89
Cendres (g)	0,6
Cholestérol (mg)	33,7
Calcium (mg)	110
Chlorure (mg)	103
Magnésium (mg)	9 ,4
Phosphore (mg)	125
Potassium (mg)	130
Sodium (mg)	37,3

2.3. Caractéristiques de fromage frais

2.3.1. Caractéristiques sensorielles

Le fromage frais présente une texture extrêmement douce et est classé comme un liquide viscoélastique plutôt qu'un produit solide. Il se caractérise par un caillé particulièrement humide, une saveur fraîche et délicate **(Bensmail *et al*., 2023)**, dépourvu de trous ni de croûte. Sa couleur varie du blanc au jaune clair **(Domagała *et al*., 2020)** et son goût est acide, laitier ou très légèrement acide **(Vukic *et al*., 2024)**. Le goût et la texture du fromage frais varient beaucoup. On peut aussi l'aromatiser facilement en ajoutant des herbes, des épices ou des légumes **(Guțu, 2022)**.

2.3.2. Caractéristiques physicochimiques

Les fromages frais à coagulation acide se caractérisent par un pH bas (<5) et une activité de l'eau élevée (aw = 0,95–0,97), et sont généralement altérés par des micro-organismes qui tolèrent ces conditions et peuvent bien se développer malgré les basses températures de

conservation **(Barukcˇic *et al*., 2020)**. Ils ont un taux d'humidité élevé (> 55 %) **(Gutiérrez Coronado *et al*., 2025)**, et une faible acidité titrable (> 0,9 %) **(Abbaci *et al*., 2023)**.

2.3.3. Caractéristiques microbiologiques

Le fromage constitue un produit alimentaire résultant de l'interaction de divers microorganismes. On considère ces microorganismes comme étant un microbiote bénéfique. Cependant, un microbiote nuisible peut se développer et avoir des conséquences aussi bien sur le plan économique que sur le plan microbiologique, modifiant les propriétés organoleptiques ainsi que l'impact sur la santé humaine, en raison de la présence de bactéries ou de champignons pathogènes **(Commenges, 2023)**.

2.3.3.1. Flores indigènes

Le lait contient peu de micro-organismes lors du prélèvement d'un animal sain dans de bonnes conditions. Il s'agit des germes commensaux du pis et des canaux galactophores **(Regguem, 2022)**. Les genres dominants sont surtout des micro-organismes mésophiles : *Lactobacillus, Micrococcus* spp. *Lactococcus* ou *Streptococcus* et les bactéries à Gram négatif **(Dahou, 2017)**.

Le microbiote indigène, également appelé microbiote originel, présent dans le fromage, est constitué de genres et d'espèces issus du lait. Lors de traitements thermiques modérés tels que la thermisation, le microbiote laitier est seulement partiellement détruit et peut ainsi persister dans les fromages **(Typhaine, 2025)**.

2.3.3.2. Flores de contamination

La contamination des fromages par des micro-organismes pathogènes et d'altération peut diminuer la durée de conservation et représenter un risque sanitaire pour le consommateur **(Djokhdem, 2024)**.

- **Flores d'altération**

Les levures et les moisissures sont les principaux responsables de la détérioration des fromages. Lorsqu'elles contaminent accidentellement les fromages, ces champignons peuvent affecter négativement les caractéristiques (apparence, texture, saveur et arômes) du produit. La dégradation se manifeste par l'apparition de goûts indésirables, la production de gaz, une modification de la texture, une décoloration… etc. Par ailleurs, ces micro-organismes

influencent le développement des autres micro-organismes bénéfiques impliqués dans la fabrication fromagère. Une charge élevée en levures peut modifier la croissance et le métabolisme des micro-organismes présents, ainsi que le pH, ce qui favorise la prolifération de pathogènes initialement présents en faible quantité.

- **Flores pathogènes**

Les microorganismes pathogènes dans les fromages sont souvent des bactéries. Plusieurs études ont été effectuées sur l'origine, les moyens de contamination et comment limiter leur prolifération. Ces problèmes continuent d'être traités car des toxi-infections sont souvent rapportées lors de la consommation de fromages. Les bactéries pathogènes les plus couramment associées aux produits fromagers sont *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* **(Commenges, 2023).**

Les critères de fabrication d'un fromage au lait pasteurisé sont les mêmes que ceux pour la fabrication d'un fromage au lait cru. Le personnel impliqué dans la traite et la fabrication du fromage peut également être une source d'agents pathogènes. Pour réduire la contamination du lait et du fromage, une attention particulière doit être portée à l'hygiène de la production et du stockage **(Djokhdem, 2024)**.

2.3.3.3. Flores apportées

D'après **(Metrouh ,2022)**, les ferments lactiques (ou levains) sont des cultures pures ou des combinaisons de bactéries lactiques choisies et utilisées pour fabriquer des aliments fermentés. Les levains ajoutés délibérément, lors de la fabrication du fromage **(Kothe, 2021),** interviennent d'une manière déterminante dans l'acidification du lait, en favorisant la coagulation, en prolongeant la durée de conservation, en améliorant les caractéristiques sensorielles des produits finaux **(Chessa *et al*., 2025)** ; de même qu'en empêchant la croissance des bactéries indésirables et pathogènes **(Bjekić *et al*., 2021)**.On peut les classer selon deux critères : leur composition de ferments purs, de ferments mixtes et de ferments mixtes sélectionnés, et la température de croissance des ferments mésophiles et des ferments thermophiles.

Les ferments purs sont composés d'une souche pure de bactéries lactiques bien caractérisée, Les ferments mixtes sont des mélanges composés de plusieurs souches de bactéries

lactiques de différents types lysotypiques, ce qui leur confère un effet acidifiant élevé, et les ferments sélectionnés contiennent une variété de souches bien caractérisées d'une ou plusieurs espèces, avec des proportions connues et définies en fonction des besoins de l'utilisateur **(Metrouh, 2022).**

Les ferments mésophiles (température optimale de croissance à 30 °C) comprennent généralement des souches de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* et/ou ssp. *Lactis*, et de *Leuconostoc* spp. Ou de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis biovar*. *diacetylactis* métabolisant le citrate. Elles sont composées de bactéries acidifiantes et de bactéries aromatisantes et Les ferments thermophiles (température optimale de croissance entre 37 °C et 50 °C) comprennent des souches de *Streptococcus thermophilus*, de *Lactobacillus helveticus*, de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis* et/ou ssp. *Bulgaricus* **(Typhaine, 2025)**.

2.4. Conservation et stabilité de fromage frais

Le fromage frais est aussi très périssable, avec une conservation courte (quelques semaines à température ambiante), principalement en raison de leur activité de l'eau élevée et de leur profil nutritionnel riche, qui favorisent la dégradation microbienne, d'où une augmentation de la synérèse, une diminution du pH, la protéolyse, la lipolyse, l'oxydation et la formation d'arômes indésirables, ce qui diminue significativement leur durée de conservation **(Duarte *et al.*, 2023)**.

Le fromage frais est susceptible d'être rapidement contaminé par des microbes après sa production. La multiplication des bactéries peut affecter considérablement la qualité et la sûreté des fromages, à cause de micro-organismes nuisibles comme *Staphylococcus aureus et Listeria monocytogenes*, qui augmentent le danger d'une intoxication alimentaire.

L'enrichissement du fromage frais par l'incorporation d'herbes médicinales, d'huiles essentielles et d'extraits de plantes contribue à prolonger sa durée de conservation, à améliorer son potentiel biologique ainsi que ses propriétés sensorielles et antioxydantes, tout en assurant une préservation contre les micro-organismes pathogènes **(Vukić *et al*., 2024)**.

Les bactériocines sont souvent utilisées pour prolonger la conservation des aliments. Elles peuvent être appliquées directement aux denrées alimentaires en tant que conservateurs (par exemple, la nisine ou la pédiocine PA-1). Ou par l'introduction d'une souche de bactéries lactiques productrices de bactériocines dans la culture starter. L'intégration de bactériocines

dans les fromages s'est révélée efficace pour inhiber la prolifération de bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, ainsi que de bactéries impliquées dans l'altération des aliments, comme *Clostridium tyrobutyricum* **(Villarreal *et al*., 2024).**

Chapitre 2
Les conservateurs alimentaires

1. Les conservateurs alimentaires

1.1 Définition

Les conservateurs sont une catégorie d'additifs dotés de propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Leur utilisation vise à garantir la sécurité alimentaire et à prolonger la durée de conservation des produits **(Kamal *et al*., 2025)**.

Les conservateurs alimentaires sont couramment employés pour limiter la contamination microbienne des aliments transformés, et leur efficacité à réduire la dégradation a été démontrée. L'efficacité et la spécificité de ces agents dépendent de divers facteurs, tels que la température, le pH et la charge bactérienne initiale **(Abi *et al*., 2024)**.

1.2 Types de conservateurs alimentaires

Les micro-organismes qui contaminent les aliments pendant la transformation, le transport ou le stockage peuvent entraîner des intoxications, des maladies et des infections, ainsi que la détérioration des produits. Ce problème majeur dans l'industrie entraîne d'importantes pertes. L'ajout de conservateurs alimentaires vise à limiter ces risques **(Setiarto et Anshory, 2024)**.

- **Les conservateurs chimiques :** courants, tels que le benzoate de sodium, le sorbate de potassium et le déshydroacétate de sodium, limitent efficacement la contamination par des agents pathogènes d'origine alimentaire. Toutefois, des études montrent qu'une utilisation excessive de ces substances nuit à la santé humaine et à l'environnement. La sensibilisation croissante des consommateurs à leurs effets néfastes accentue ce problème. Il est particulièrement urgent que l'industrie agroalimentaire recherche des alternatives naturelles **(Yang *et al*., 2025).**
- **Les conservateurs naturels :** extraits de micro-organismes et de plantes, limitent le développement des levures, moisissures et bactéries. L'acide sorbique, l'acide ascorbique et le tocophérol sont largement utilisés pour leurs propriétés antioxydantes. Certaines huiles essentielles, comme celles de thym et de romarin, possèdent des activités antimicrobiennes. Les acides organiques, tels que l'acide citrique et l'acide lactique, servent à abaisser le pH des aliments et à chélater les métaux catalyseurs de l'oxydation. Cependant, certains de ces composés, notamment l'acide lactique, peuvent également être produits synthétiquement à des fins industrielles **(de Oliveira *et al*., 2025)**

1.3. Mécanismes d'action de conservateurs

Les conservateurs antimicrobiens sont utilisés pour limiter toute contamination microbienne. Ils sont employés dans des produits contenant une phase aqueuse et peuvent être classés en deux catégories selon les organismes ciblés : antibactériens et antifongiques. Il existe deux modes d'action selon les conservateurs employés : soit ils sont capables de tuer les micro-organismes (conservateurs bactéricides ou fongicides), soit ils inhibent leur croissance (conservateurs bactériostatiques ou fongistatiques). En effet, les conservateurs peuvent intervenir en dénaturant les protéines présentes au sein de la paroi cellulaire bactérienne, au niveau des membranes, durant le processus de synthèse des protéines, ou encore en altérant les systèmes enzymatiques et en dénaturant les acides nucléiques, ce qui modifie le mécanisme de reproduction des cellules eucaryotes. Cela affecte directement le transport et la production d'énergie. Selon la quantité ajoutée, l'effet des agents de conservation peut varier et peut aller d'une simple inhibition de la prolifération microbienne à une élimination définitive des micro-organismes (**Ait Ouarab et Ahmine, 2023)**.

2. Bactériocines

2.1.Définition

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens produits par les bactéries via la voie ribosomale. Elles présentent une grande diversité de structures et de mécanismes d'action. Leur synthèse est fréquente chez de nombreux groupes bactériens. Les bactériocines ont généralement un spectre d'activité bactéricide ou bactériostatique étroit, ciblant principalement les bactéries proches de la souche productrice. Pour éviter l'autotoxicité, les bactéries productrices recourent à des mécanismes de protection tels que la synthèse de protéines d'immunité, l'activation de pompes à efflux ou les deux **(Mamjoud, 2025).** Ils sont principalement utilisés dans l'industrie alimentaire comme bioconservateurs naturels, au lieu de conservateurs chimiques, pour protéger les produits contre la détérioration et les bactéries pathogènes **(Aljohani *et al*., 2023)**.

2.2. Classification

Les bactériocines sont réparties en quatre classes (I, II, III et IV) selon l'espèce productrice, le poids moléculaire, la structure chimique, la séquence d'acides aminés et la stabilité thermique. La classe I regroupe les bactériocines modifiées, également appelées les

antibiotiques. La classe II comprend les bactériocines non modifiées et thermostables. La classe III concerne les grandes bactériocines thermolabiles. Enfin, la classe IV, souvent ajoutée, désigne des molécules complexes contenant des fragments lipidiques et glucidiques **(Afraei *et al*., 2025) (Tableau 2).**

Tableau 2 : Classification des bactériocines, leurs caractéristiques et les principales souches qui les produisent, adapté d'Afraei *et al*., 2025.

Classes	Sous-classes	Caractéristiques	Souches productrices
Classe I	– **Ia** : nisine – **Ib** : labyrinthopeptines A1, sucin 65 – **Ic** : thuricine CD, subtilocine A	– Appelées l'antibiotique. – Taille inférieure à 5 kDa. – Contiennent des acides aminés modifiés après la traduction de l'ADN.	– *Lactococcus lactis* Ssp
Classe II	– **IIa** : pédiocine PA-1, sakacine A, leucocine A, lakacine A et P, Garviecin LG34. – **IIb** : lactococcin G, plantaricine A, enterocine X – **IIc** : enterocine AS-48, gassericine A, acidocin B, enterocin P, reuterin 6 – **IId** : weissellicine 110, thuricine S, lactococcine A	– Appelées non-antibiotiques. – Taille 5 – 10 kDa – Acides aminés non modifiés – Peptides hydrophobes – Thermostables	– *Lactococcus lactis* MG1614 – *Enterococcus faecium* CTC492 – *Lactobacillus sakei* CTC494 – *Pediococcus* spp
Classe III	– **IIIa** : lysostaphine – **IIIb** : enterolysine A, helveticine	– Taille supérieure à 30 kDa otéines thermolabiles	– *Enterococcus faecalis* LMG 2333 – *Lactobacillus helveticus*
Classe IV	– pédiocine N5p, lactocine 27, enterocine F4-9	– Grands complexes contenant des groupes glucidiques ou lipidiques	– *Lactobacillus gasseri* – *Lactobacillus acidophilus*

2.3.Biosynthèse

La production des bactériocines dépend de plusieurs facteurs, notamment les conditions de culture et le type de souche microbienne. Les bactériocines sont des peptides synthétisés par voie ribosomale, modifiés après traduction, et d'abord produits sous forme de pré-peptides inactifs, puis activés après transport et clivage. Selon leur type, les gènes impliqués dans le transport, la modification, l'immunité et la production des bactériocines actives se trouvent généralement à proximité du gène de biosynthèse, souvent regroupés en clusters d'opérons sur des plasmides, le génome ou d'autres éléments génétiques mobiles. L'expression de ces opérons est inductible et nécessite des peptides auto-inducteurs. La régulation est assurée le plus souvent par un système à deux composants, parfois par un système à trois éléments. La production des bactériocines a lieu pendant la phase exponentielle de croissance et suit généralement la production de biomasse **(Darbandi *et al*., 2022)**.

3. Nisine

3.1.Définition

La nisine doit son nom à la substance « N-inhibitrice », découverte pour la première fois par Mattick et Hirsch en 1947. Cette découverte, rapportée en 1944, concernait un produit issu des « *streptocoques lactiques* » ou *lactocoques* (plus tard appelé nisine), capable d'inhiber plusieurs types de bactéries pathogènes. Par la suite, la nisine a été classée parmi les bactériocines, un composé biopréservateur produit par *Lactococcus lactis subsp. lactis* et utilisé commercialement dans les produits alimentaires. La nisine appartient au groupe des bactériocines de classe I en tant qu'antibiotique de type A, sous la forme d'une longue molécule non globulaire **(Setiarto *et al*., 2023)**.

3.2.Structure et propriétés physicochimiques

La nisine est un antibiotique caractérisé par la présence d'acides aminés spécifiques, tels que la lanthionine (Lan), la béta-méthyllanthionine, la déhydroalanine (DHA) et la déhydrobutyrine (DHB). Ces acides aminés confèrent à la nisine une conformation unique. La formation de ponts thioéthers, appelés β-méthyllanthionines, confère à la nisine et aux bactériocines de classe I leur activité biologique spécifique. Ces caractéristiques permettent la formation de cinq boucles intrinsèques, qui confèrent à la molécule une résistance élevée à la chaleur et à la dégradation protéolytique, tout en maintenant la rigidité de la structure

peptidique. Les acides aminés situés aux positions 3-7, 8-11, 13-19, 23-26 et 25-28 forment ces cinq boucles, désignées respectivement A, B, C, D et E, les deux dernières étant liées **(Figure 4)**.

La nisine a une masse moléculaire de 3 510 Da. Deux principaux types, la nisine A et la nisine Z, sont couramment identifiés et présents dans les produits commerciaux comme la nisapline. Ils diffèrent par un seul acide aminé en position 27 : la nisine A contient une histidine, tandis que la nisine Z possède une asparagine. Cette différence confère à la nisine Z une meilleure solubilité et une plus grande stabilité à des pH supérieurs à 6, grâce à la chaîne polaire de l'asparagine. La solubilité, la stabilité et l'activité antimicrobienne de la nisine dépendent du pH du substrat. Elles augmentent en milieu acide : à pH 2-3, la nisine peut être autoclavée à 121 °C pendant 15 minutes sans perte de stabilité ni d'activité antimicrobienne. À l'inverse, la nisine est presque insoluble en conditions de pH alcalin **(Rulence, 2023)**.

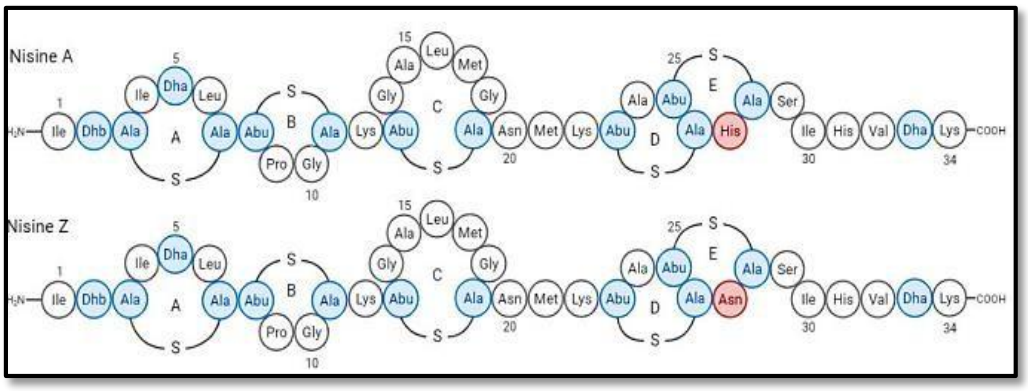


Figure 4 : Représentation schématique des deux formes de nisine A et Z. Acide aminobutyrique ; Ala-S-Ala lanthionine, Abu-S-Ala β-méthyllanthionine ; DHB déhydrobutyrine. On différencie aussi 5 boucles intramoléculaires dans la nisine allant de A à E. Nomenclature des acides aminés particuliers selon Jung et al. (**Rulence, 2023)**.

3.3.Spectre d'activité et mode d'action

La nisine présente un large spectre d'activité. La présence d'His dans la nisine A et d'Asn dans la nisine Z lui permet d'inhiber la plupart des bactéries responsables de l'altération des aliments, telles que *Clostridium* sp. et *Bacillus*, ainsi que des agents pathogènes comme *Listeria monocytogenes*. Elle est également efficace contre les bactéries responsables de la mammite bovine (*Staphylococcus aureus* et *Streptococcus dysgalactiae*) et contre certaines bactéries

pathogènes humaines, notamment *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) **(Siboukeur, 2018)**.

Elle est également plus efficace contre les spores que contre les formes végétatives des micro-organismes, en raison de son potentiel sporostatique, qui dépasse son activité sporicide **(Popa *et al*., 2022)**.

Les l'antibiotique agissent principalement en formant des pores dans la membrane des bactéries cibles ou en inhibant la biosynthèse du peptidoglycane. La nisine, dont le mode d'action est le mieux caractérisé, se lie au lipide II après avoir atteint la membrane. Ce complexe peut former des pores composés de huit molécules de nisine et de quatre molécules de lipide II, ce qui dissipe les gradients d'ions essentiels de la bactérie cible **(Figure 5)**. La nisine pourrait également inhiber la biosynthèse du peptidoglycane en séquestrant le lipide II **(Proutière, 2020)**.

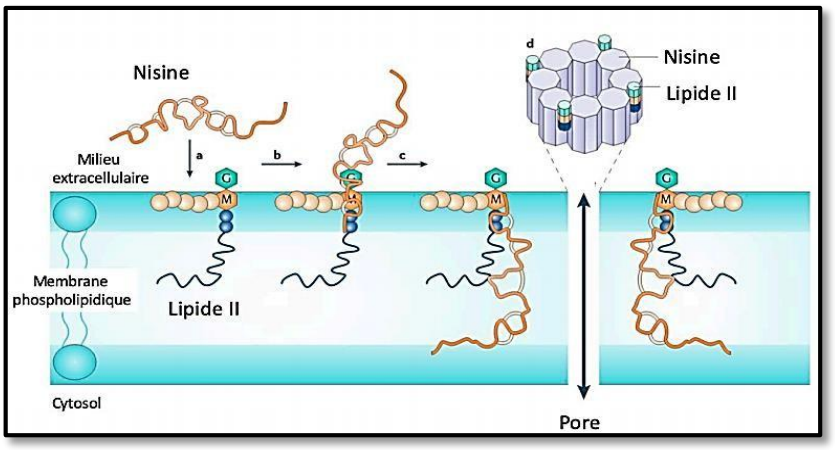


Figure 5 : Mécanisme d'action de la nisine

Après avoir atteint la membrane (a), la nisine se lie au lipide II (b) avant de s'orienter dans la membrane (c) pour y former un pore composé de 8 molécules de nisine et 4 de lipide II (d) **(Proutière, 2020)**.

3.4.Toxicité

Des études de toxicité indiquent que la consommation de nisine ne présente aucun effet nocif chez l'homme. Sa dose létale estimée (DL50) est de 6950 mg/kg, similaire à celle du sel. Grâce à sa large activité antimicrobienne, sa stabilité thermique et ses propriétés inodores et insipides, la nisine figure sur la liste des additifs alimentaires européens sous le numéro E234. Elle a également obtenu le statut « Generally Recognized As Safe » (GRAS) de l'Organisation

mondiale de la santé (OMS) en 1969 et de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis en 1988 pour son utilisation comme conservateur alimentaire naturel **(Tavares *et al*., 2024).**

La nisine est considérée comme sûre pour une consommation humaine régulière à une dose de 2,9 mg par personne et par jour. Elle est également sensible aux enzymes protéolytiques de l'estomac. La trypsine peut désactiver la nisine, sans affecter la composition de la microflore gastrique **(Putri *et al*., 2024)**.

3.5.Utilisation de la nisine comme conservateur alimentaire

La bioconservation est une approche durable qui améliore la sécurité alimentaire et prolonge la durée de vie des aliments grâce à l'utilisation de micro-organismes bénéfiques ou de leurs métabolites. Elle regroupe diverses techniques visant à garantir des aliments plus sûrs, tout en favorisant la production de produits peu transformés et sans additifs. Ces méthodes reposent sur des agents antimicrobiens naturels, tels que les bactériocines, les acides organiques et les cultures protectrices, afin d'inhiber les organismes altérants et les agents pathogènes, renforçant ainsi la sécurité alimentaire sans compromettre la qualité (**Parada Fabián *et al*., 2025)**.

La nisine est un conservateur alimentaire naturel qui inhibe les micro-organismes responsables des infections d'origine alimentaire, tels que *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*. Elle prolonge ainsi la durée de conservation des produits tout en préservant leurs qualités sensorielles **(Wang *et al*., 2023)**.

Elle est largement utilisée dans de nombreux aliments, notamment le fromage, le beurre, les conserves, les boissons alcoolisées, les saucisses, les œufs liquides pasteurisés et les vinaigrettes, entre autres **(Jozala *et al*., 2015)**. En tant que conservateur, la nisine peut être appliquée directement sur les aliments par trempage ou pulvérisation **(Wang *et al.*, 2023).**

Son utilisation comme conservateur dans le fromage à tartiner a été approuvée par la FDA en 1988. La nisine inhibe la germination des spores de *Clostridium botulinum* dans ce produit. À des concentrations de 2000, 4000 et 100 UI/ml, elle empêche efficacement la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le fromage blanc et des spores de *Bacillus cereus* dans le lait écrémé. De plus, la nisine A inhibe la croissance de *Listeria monocytogenes* dans la ricotta pendant jusqu'à huit semaines **(Putri *et al*., 2024)**.

L'utilisation de bactériocines comme la nisine, seules ou combinées à des substances naturelles, telles que les huiles essentielles, améliore la qualité microbiologique du lait et des produits laitiers **(Elsherif *et al*., 2024)**.

Chapitre 3
Les huiles essentielles

1. Généralité sur les huiles essentielles

1.1 Historique et l'origine

Depuis l'Antiquité, les plantes sont utilisées par les gens pour se nourrir et pour se soigner. Cela a poussé toutes les civilisations à les employer pour traiter les maladies **(Benhamidat, 2022)**.

Les huiles essentielles sont utilisées depuis des milliers d'années. Soulignant leur rôle dans les premières civilisations. Les Égyptiens de l'Antiquité, dès 4500 avant J.-C., les utilisaient pour les cosmétiques, les parfums et les thérapies à base de plantes. Des documents chinois et indiens, datant de 3000 à 2000 avant J.-C., mentionnent plus de 700 substances botaniques employées pour leurs propriétés médicinales. Entre 500 et 400 av. J.-C., les médecins grecs recouraient aux huiles essentielles de cumin, thym et *menthe poivrée* pour des usages culinaires et thérapeutiques, illustrant leur rôle persistant dans la santé humaine **(Hassid *et al*., 2025).**

Au Moyen Âge, les cultures arabes ont joué un rôle essentiel dans l'évolution de l'aromathérapie, en distillant des essences aromatiques pour les médicaments et les parfums. En Europe, la phytothérapie et l'usage des plantes aromatiques ont progressé, avec des érudits comme Hildegarde de Bingen qui ont documenté leurs propriétés curatives **(Vora *et al*., 2024)**.

Aujourd'hui, la science moderne valide les nombreux bienfaits des plantes aromatiques, de leurs huiles essentielles et de leurs extraits, appliqués dans divers domaines industriels et thérapeutiques. Elles servent notamment d'additifs dans l'industrie alimentaire, ainsi que dans les cosmétiques, la parfumerie, la fabrication de savons et de détergents **(Kaidi *et al*., 2023)**.

1.2 Définition

Une huile essentielle est un liquide hydrophobe concentré composé de substances végétales volatiles qui s'évaporent facilement à température ambiante. Elle est dite « essentielle » car elle préserve l'essence de l'odeur de la plante, c'est-à-dire le parfum caractéristique de la plante d'origine. Les huiles essentielles, également appelées essences, huiles volatiles ou huiles éthériques, sont des mélanges naturels complexes de composés odorants, volatils et lipophiles, couramment présents dans les plantes aromatiques **(Aswini *et al*., 2024).**

Selon l'Association française de normalisation (AFNOR), l'huile essentielle est définie comme suit : « produit obtenu à partir d'une matière première naturelle d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de

fruits de citrus (agrumes), soit par distillation sèche, après séparation de l'éventuelle phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » **(Kfoury et Fourmentin, 2024)**.

1.3 Composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un mélange complexe de composés de faible poids moléculaire, produits par les plantes comme métabolites secondaires. Ces composés volatils se répartissent selon leur voie de biosynthèse : terpènes, terpénoïdes et dérivés oxygénés issus de la voie des terpénoïdes ; composés aromatiques et phénylpropanoïdes issus de la voie du shikimate ; et dérivés d'acides gras, comprenant des composés aliphatiques et des esters **(Rais *et al*., 2025)**.

1.3.1 Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures, tandis que les terpénoïdes sont des terpènes modifiés qui possèdent des groupes fonctionnels oxygénés, tels que cétone, hydroxy, aldéhyde, éther ou carboxyle. Elles présentent des structures chimiques allant de formes linéaires à mono- ou polycycliques, leur squelette résultant de la condensation de deux à plusieurs milliers d'unités d'isoprène (C5). Les terpènes se classent selon le nombre de motifs C5 dans leur structure centrale : hémiterpènes (C5H8), monoterpènes (C10H16), sesquiterpènes (C15H24), diterpènes (C20H32), triterpènes (C30H48), tétraterpènes ou caroténoïdes (C40H64) et polyterpènes. Parmi ces composés, les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les plus volatils et les plus abondants **(de Sousa *et al*., 2023)**.

1.3.2 Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins abondants dans les huiles essentielles. Cependant, ils constituent un groupe important, car ils déterminent généralement les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles **(Lemita, 2022).**

Les phénylpropanoïdes forment un groupe de composés organiques synthétisés par les plantes via la voie du shikimate, avec la L-phénylalanine comme précurseur biogénétique. Leur structure de base comprend un cycle phényle lié à un fragment de propane en position C3. Leur grande diversité résulte de la modification d'un nombre restreint de structures de base. Les composés aromatiques issus de la voie du shikimate incluent des composés aldéhydiques, phénoliques, alcooliques, méthoxy et méthylène-dioxy **(de Sousa *et al*., 2023) (Figure 6)**.

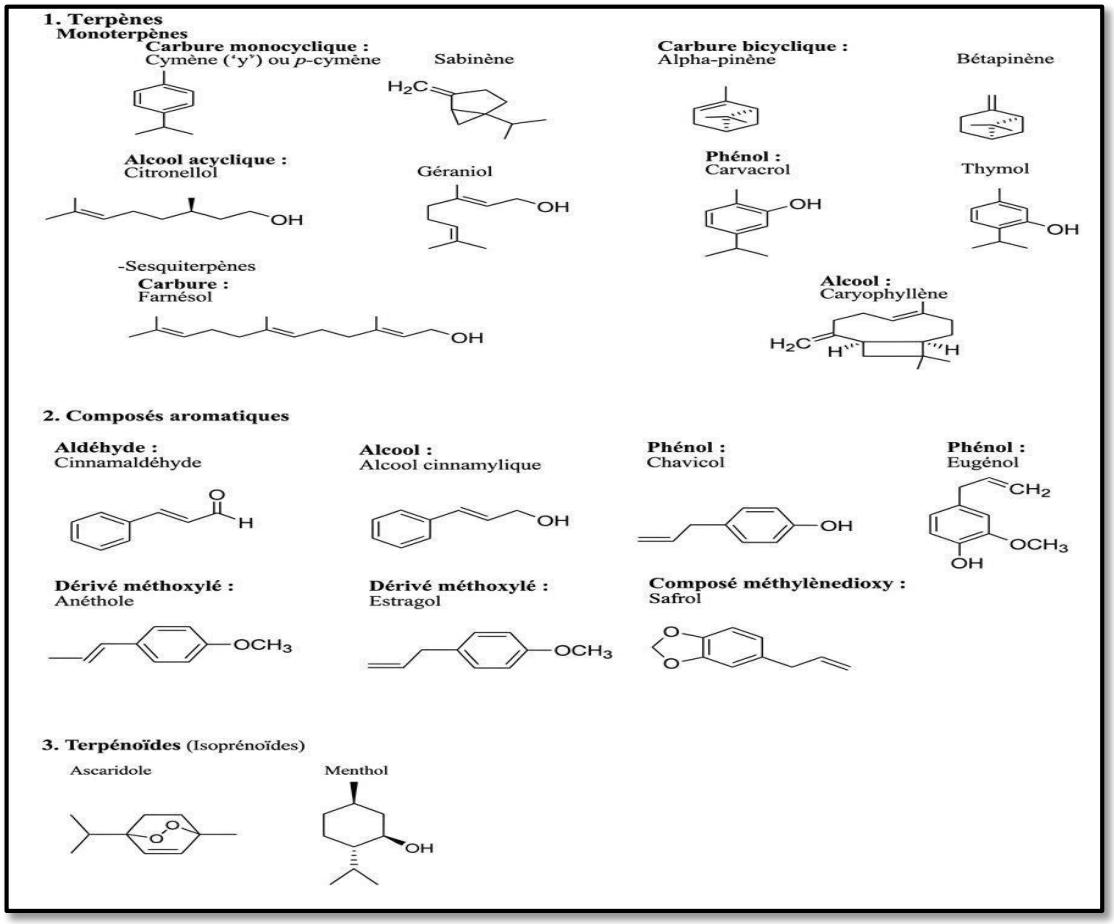


Figure 6 : structures chimiques des principaux constituants des huiles essentielles **(Kadari, 2025).**

1.3.3 Composés d'origines diverses

Lors de la préparation des huiles essentielles, l'hydrodistillation entraîne certains composés aliphatiques à faible masse moléculaire, tels que des composés azotés, soufrés, des carotènes, des acides gras (acide hexanoïque, acide dodécanoïque, acide hexadécanoïque, etc.), des alcools (menthol, linalol, géraniol, bergamote), des aldéhydes (géranial, citronellal), des esters (acétate de géranyle) et des cétones (camphre, pipéritone) **(Bounab, 2020)**.

1.4 Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles sont présentes dans l'ensemble du règne végétal, certaines familles présentant une forte teneur en composés odorants. Les genres les plus riches appartiennent

notamment aux familles *Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae* et *Zingiberaceae* **(Bounab, 2020)**.

En général, les huiles essentielles constituent moins de 5 % de la matière sèche des plantes. Elles sont produites dans des structures sécrétoires spécialisées, comme les canaux ou cavités sécréteurs, les trichomes glandulaires et les cellules à huile. Les huiles volatiles sont extraites de diverses parties des plantes, telles que les graines (*Foeniculum vulgare*), les fleurs (*Rosa abietina*), les feuilles (*Mentha piperita*), les écorces (*Cinnamomum cassia*), les fruits (*Citrus sinensis*), les graminées (*Cymbopogon citratus*), les fleurs d'arbres (*Cananga odorata*), les rhizomes (*Zingiber officinale*), les racines (*Vetiveria zizanoides*), les bois (*Juniperus virginiana*) et les bulbes (*Allium sativum*). Les huiles essentielles extraites de différents organes d'une même plante ont des compositions chimiques distinctes **(de Sousa *et al.*, 2023)**.

1.5 Caractéristiques des huiles essentielles

Selon (**Korber, 2025),** la plupart des huiles essentielles sont liquides à température ambiante, bien que certaines, comme le santal et la myrrhe, soient visqueuses, et que le camphrier et la rose puissent cristalliser. Elles sont généralement moins denses que l'eau (densité < 1), sauf exceptions telles que le girofle, la cannelle, la carotte ou le sassafras, et ne se mélangent pas à l'eau. Lipophiles, elles se dissolvent facilement dans les graisses, l'éther, l'alcool concentré et la plupart des solvants organiques. À très haute température et sous pression, elles présentent un risque d'explosion. Leur volatilité permet l'extraction par distillation à la vapeur. Elles possèdent un indice de réfraction élevé et présentent souvent un pouvoir rotatoire. La plupart sont incolores, mais certaines présentent des teintes spécifiques (orange, rose, vert pâle, jaune pâle, etc.). Sensibles à l'oxydation, elles ne rancissent pas, mais peuvent se polymériser et former des résines. Il est recommandé de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité, dans des flacons en verre ambré.

La caractérisation chimique de ces matrices nécessite des appareils analytiques performants et des méthodes appropriées pour identifier les constituants sans altérer leurs structures **(Benhamidat, 2022)**. Les composants des huiles essentielles sont reconnus pour leurs activités biologiques variées, notamment leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes. Ainsi, les huiles essentielles suscitent un intérêt croissant dans les secteurs pharmaceutique, agroalimentaire et parfumé **(Rais *et al*., 2025)**.

2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

2.1. Hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation est l'une des techniques les plus anciennes et les plus simples. Elle implique de plonger directement la matière végétale dans l'eau, puis de porter le mélange à ébullition.

Le principe repose sur une distillation azéotropique : la vapeur d'eau entraîne les composés volatils, qui sont ensuite condensés et séparés afin d'obtenir l'huile essentielle **(Figure 7)**. Cette méthode permet d'extraire les huiles à des températures inférieures à 100 °C, ce qui contribue à préserver leur qualité **(Belattar *et al.*, 2025)**. En revanche, les températures élevées peuvent effectivement endommager les composants thermosensibles et ainsi réduire la qualité des huiles essentielles **(Brah *et al.*, 2024)**.

L'hydrodistillation se distingue par sa facilité technique et son faible coût. De plus, l'immersion de la matière végétale dans l'eau entraine un brassage, ce qui empêche la formation de masse compacte où la vapeur d'eau ne pourrait pas s'échapper, ce qui permet d'obtenir un rendement d'extraction plus élevé comparativement à la distillation à la vapeur d'eau **(Cindy, 2024)**.

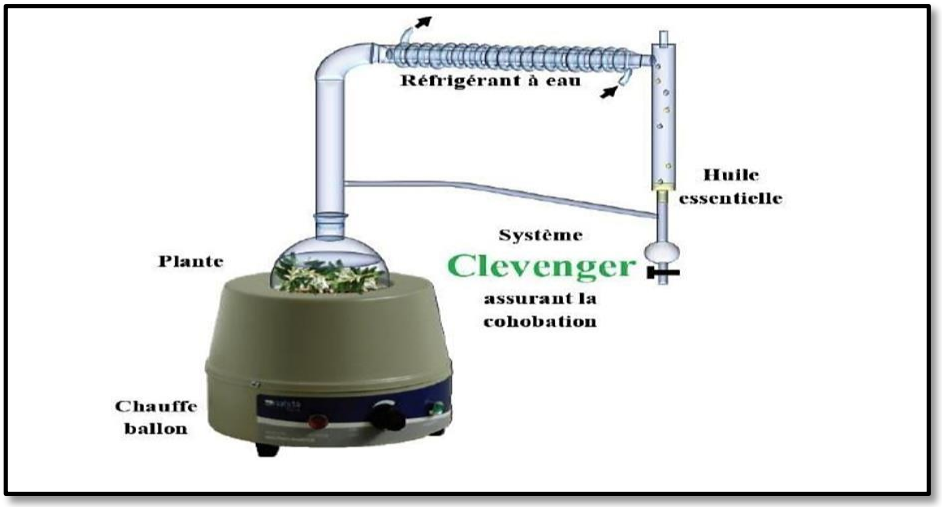


Figure 7 : Illustration du dispositif d'hydrodistillation type Clevenger **(Lattab *et al.*, 2024).**

2.2. Extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau

C'est une méthode adaptée pour extraire des composés et des substances qui sont sensibles à la chaleur. Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique évite tout contact

direct entre l'eau et les matières végétales à traiter **(Kadari, 2025)**. Elle se fait à une température plus basse que le point d'ébullition des ingrédients, cette approche est bénéfique pour les substances bioactives qui sont thermosensibles comme les composés aromatiques naturels **(Nouar, 2025)**.

Le procédé consiste à placer les matières végétales sur une grille perforée, située au-dessus de l'entrée de vapeur dans une chambre non exposée directement à la chaleur. Les végétaux sont chauffés par la vapeur produite par la chaudière. L'évaporation de l'huile est provoquée par le flux de vapeur d'eau, qui l'entraîne, la condense, puis la sépare par décantation **(Kadari, 2025) (Figure 8)**.

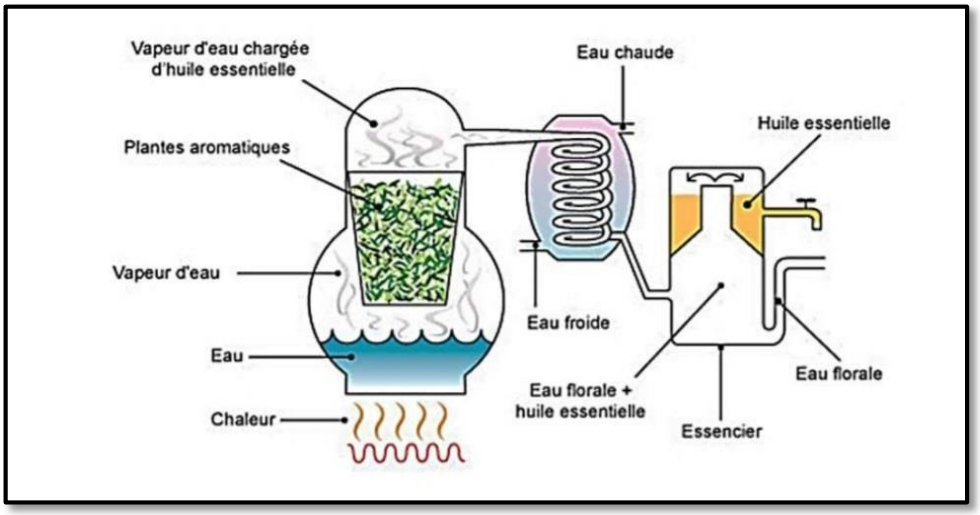


Figure 8 : Dispositif de la distillation par entrainement à la vapeur **(Soumahoro, 2022).**

2.3. Extraction à froid

Une méthode employée afin d'extraire les huiles essentielles des agrumes sans apport de chaleur ni de traitement chimique. Elle consiste à presser les couches d'écorce afin d'exposer les poches d'huile. Ensuite, l'huile est extraite sous forme d'émulsion aqueuse puis séparée par centrifugation. Cette méthode peut être réalisée manuellement ou de manière automatisée à température ambiante. Par ailleurs, elle est simple, rapide et peu coûteuse, tout en étant respectueuse de l'environnement (sans solvant ni chaleur). De plus, elle permet d'obtenir des huiles riches en composés aromatiques avec une forte odeur naturelle **(Brah *et al.*, 2024)**.

2.4. Extraction par les solvants organiques

Une méthode pour isoler les huiles essentielles ou composés aromatiques sensibles à la chaleur en utilisant un solvant **(Souiy, 2023)**. Elle consiste à faire macérer la plante à froid dans le solvant, ce qui permet aux substances aromatiques de passer dans ce dernier. Elle s'effectue généralement avec un appareil de Soxhlet, en utilisant principalement l'hexane, le cyclohexane ou l'éthanol, et plus rarement le dichlorométhane ou l'acétone. Le solvant choisi doit être autorisé et présenter une bonne stabilité à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène. Sa température d'ébullition doit de préférence être basse pour faciliter son élimination, et il ne doit pas réagir chimiquement avec l'extrait **(Moussa, 2024)**.

Cette méthode permet un rendement élevé et est particulièrement adaptée aux matériaux floraux fragiles. Toutefois, elle présente des limites dues aux résidus de solvant, aux coûts et aux précautions de sécurité nécessaires **(Souiy, 2023).**

2.5. L'extraction par CO_2 supercritique

Il s'agit d'une technique récente utilisée comme alternative aux méthodes traditionnelles d'extraction des huiles essentielles. Les constituants aromatiques sont extraits grâce à la solubilité du CO_2 lorsqu'il atteint l'état supercritique, obtenu dans des conditions de température et de pression critique (TC = 31,06 °C ; PC = 73,82 bars). Le CO_2 est transporté vers l'extracteur contenant la plante broyée, où il dissout les composés aromatiques. Le mélange est ensuite dirigé vers un séparateur, où une diminution de la pression permet au CO_2 de repasser à l'état gazeux, rendant aisée la récupération de l'extrait tandis que le CO_2 peut être réutilisé **(Figure 9)**.

Cette technique est simple, rapide et efficace, pratiquement sans solvant ni prétraitement. Elle permet d'obtenir des extraits de haute qualité sans résidus de solvant, tout en convenant parfaitement aux composés thermosensibles. Malgré un appareillage coûteux, elle permet la réutilisation du CO_2 sans purification supplémentaire **(Moussa, 2024)**.

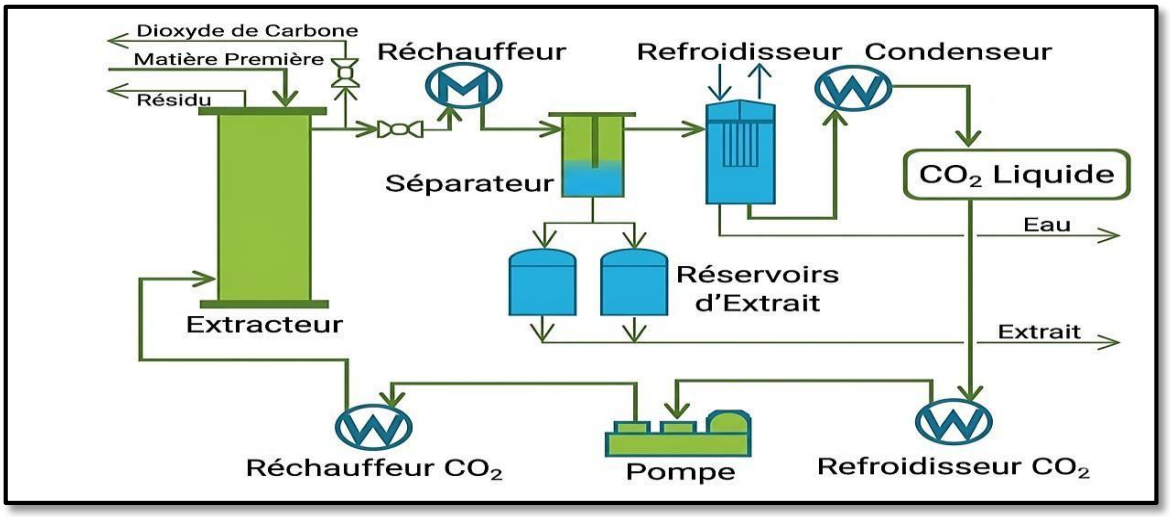


Figure 9 : Schéma du processus d'extraction par fluide supercritique **(Joco *et al*., 2024).**

2.6. Extraction assistée par micro-ondes

Il s'agit d'une autre technique employée pour extraire les composés phénoliques. Elle s'appuie sur l'interaction des micro-ondes avec les molécules polaires présentes dans les plantes, telles que l'eau. Sous l'influence d'un champ électrique alternatif, ces molécules expérimentent une rotation dipolaire, ce qui entraîne la chaleur par frottement interne. Ce chauffage est volumétrique, ce qui permet un essor de température prompt et homogène de la matrice **(Figure 10)**. De plus, le processus dépend du solvant utilisé, qui influence le type de chauffage et le mécanisme d'extraction. Ce procédé comporte plusieurs avantages, dont une durée de traitement réduite et un usage limité de solvant, une bonne rentabilité et un meilleur rendement d'extraction par rapport aux techniques conventionnelles **(Chammam, 2024)**.

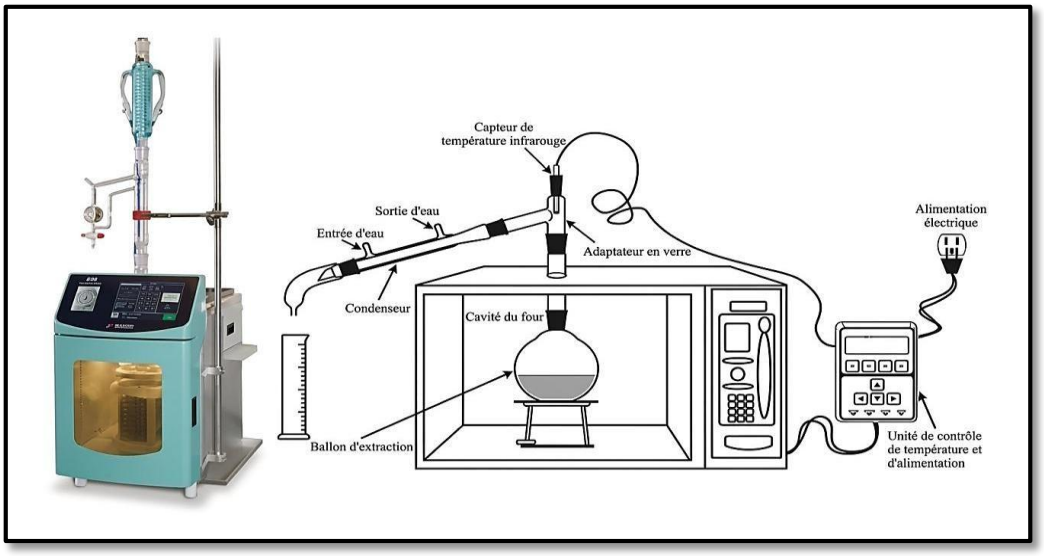


Figure 10 : Représentation schématique de l'équipement d'extraction assistée par micro-ondes **(Nouar, 2025).**

3. *Mentha piperita* L

3.1. Description et classification botanique

Mentha piperita a été décrite pour la première fois en 1753 par Carl Linnaeus à partir de spécimens récoltés en Angleterre. Initialement classée comme espèce, elle est aujourd'hui reconnue comme un hybride naturel entre *Mentha aquatica* et *Mentha spicata*. Cette plante herbacée vivace à rhizomes atteint 30 à 90 cm de hauteur et possède des tiges lisses à section carrée. Ses rhizomes sont étendus, charnus et portent des racines fibreuses. Les feuilles, de 4 à 9 cm de long et de 1,5 à 4 cm de large, sont vert foncé avec des nervures rougeâtres, un apex aigu et des bords grossièrement dentelés **(Porwal *et al*., 2025)** et elles sont recouvertes de poils sécréteurs arrondis responsables de la production d'essence, ce qui confère à l'espèce son caractère aromatique **(Viglietta, 2024)**. Les fleurs, violettes, mesurent 6 à 8 mm de long, avec une corolle à quatre lobes d'environ 5 mm de diamètre. Elles sont disposées en verticilles autour de la tige, formant de denses épis arrondis.

M. piperita est une plante à croissance rapide. Une fois établie, elle se propage rapidement **(Porwal *et al*., 2025)**. Elle est également très résistante aux conditions climatiques extrêmes, notamment aux grands froids, grâce à ses vastes réseaux de rhizomes souterrains **(Viglietta, 2024)**.



Figure 11 : Feuilles de *Mentha piperita* **(B.C et Hegde, 2022).**

Le genre *Mentha* présente une évolution taxonomique complexe et sujette à débat. Initialement redéfini pour inclure 18 à 20 espèces et 11 hybrides, répartis en quatre sections selon le nombre de chromosomes, l'analyse phylogénétique et les principaux composants de l'huile essentielle, il est aujourd'hui classé en 42 espèces, 15 hybrides et de nombreuses sous-espèces, variétés et cultivars. Le genre est souvent divisé en cinq sections : Audibertia, Eriodontes, Mentha, Preslia et Pulegium **(Hudz *et al*., 2023)**.

La classification de la plante *Mentha piperita* est présentée dans **le tableau 3** ci-dessous.

Tableau 3 : Classification de *Mentha piperita* **(B.C et Hegde, 2022).**

Régne	*Plantae*
Division	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	*Lamiales*
Famille	*Lamiaceae* (*Labiatae*)
Sous-famille	*Stchydoideae*
Genre	*Mentha*
Espèce	*Mentha piperita Linnaeus*

Les noms de menthe poivrée :

- Noms français : menthe poivrée, menthe.
- Nom scientifique : *Mentha piperita* L.
- Nom anglais : Peppermint

- Nom allemand : Pfefferminze
- Nom italien : menta piperita
- Nom portugais : menta hortelã
- Nom espagnol : menta piperita
    - Nom arabe : النعناع الفلفلي

3.2. Composition chimique :

Tableau 4 : Composition chimique de la menthe poivrée **(Haddou,2022).**

Composant	Pourcentage
Menthol	35%
Menthone	23%
Menthofurane	7%
1-8 cinéole	5%
Acétate de menthyle	4%
Néomenthol	4%
Pulégone	3%
Limonène	3%
Isomenthone	2%
β-caryophylléne	2%
Carvone	2%
Trans-sabinène-hydraté	2%
Acétate de terpinéole	2%
Cis-sabinène-hydraté	2%
Pipéritone	1%
Germacrène-D	1%

3.3. Répartition géographique

Aujourd'hui, plusieurs variétés issues de l'hybridation de *M. piperita* sont cultivées dans le monde entier, notamment dans les régions tempérées, méditerranéennes, fraîches et neutres. Bien que le genre soit originaire de la Méditerranée **(Halli *et al.*, 2025)**, il est désormais présent en Amérique du Nord, au Canada, en Asie, en Afrique du Nord et dans de nombreuses autres régions **(Hudz *et al.*, 2023)**.

3.4. Huiles essentielles de *Mentha piperita*

3.4.1. Propriétés physiques et composition chimique

L'huile essentielle de *M. piperita* est généralement extraite par distillation à la vapeur des parties aériennes en fleur. Ce liquide huileux, incolore à jaune pâle ou verdâtre, présente une odeur et un goût frais distinctifs. Ses principaux indices de qualité sont une densité de 0,900 à 0,916 g/cm³, une polarisabilité de −10 à −30°, un indice de réfraction de 1,457 à 1,467 et un indice d'acidité maximal de 1,4 mg de KOH/g. Le menthol, sous forme de cristaux incolores aciculaires ou prismatiques, possède une forte odeur et un goût aromatique, suivis d'une sensation de fraîcheur en bouche. Il est le principal composant responsable du goût et de l'odeur caractéristiques de l'huile essentielle et de la plante entière de *M. piperita* **(Hudz *et al*., 2023)**.

3.4.2. Activités biologiques

3.4.2.1. Activité antioxydante

Des études montrent que l'huile essentielle de *M. piperita* d'Algérie présente une activité antioxydante significative, avec une CI_{50} contre le radical DPPH de 0,45 mg/mL, comparée à 0,15 mg/mL pour l'acide ascorbique, utilisé comme référence.

Des huiles essentielles de *M. piperita* d'origine iranienne, extraites par différentes méthodes, présentent des CI_{50} pour le radical DPPH entre 9,6 et 10,4 µg/mL, contre 5,2 µg/mL pour le BHT, antioxydant de référence.

De plus, il a été démontré que l'huile essentielle de *M. piperita* provenant de Libye présentait une activité antioxydante avec une CI_{50} de 15 µg/mL, contre 6,1 µg/mL pour le BHT **(Nebie, 2023)**.

3.4.2.2. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles de *Mentha piperita* présentent une forte activité antimicrobienne, attribuée à des composés tels que l'isomenthone, l'α-terpinène, l'oxyde de pipertitinone, le transcarvéol et le β-caryophyllène. Elles inhibent *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Gram négatifs), ainsi que *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* (Gram positifs), à des concentrations minimales inhibitrices. L'association de traitements naturels et d'antimicrobiens conventionnels peut entraîner des effets synergiques ou antagonistes. Par exemple, les huiles essentielles de *Mentha piperita* associées à l'amphotéricine B présentent principalement des effets antagonistes contre *Candida albicans*. En combinaison

avec des ions d'argent (Ag^+), une synergie a été observée contre *E. coli* (représentant une faible valeur de l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (FICI = 0,40)) et *C. albicans* (FICI = 0,48), tandis qu'une faible influence a été notée contre *S. aureus* (FICI = 0,95) **(Gholamipourfard *et al*., 2021)**.

3.5. Domaines d'utilisation

3.5.1. Phytothérapie

Les espèces du genre *Mentha* sont utilisées comme plantes médicinales dans la fabrication de préparations pharmaceutiques, tant dans les pays orientaux que dans les pays occidentaux. L'huile essentielle de *Mentha piperita* est employée pour traiter les ulcères, le rhume, les maux de tête, le cancer, la toux, les irritations, les inflammations, le diabète et les troubles digestifs, en raison de sa richesse en composants bioactifs aromatiques et en terpénoïdes **(Altun, 2023).**

3.5.2. Alimentaire

Le genre *Mentha* comprend une plante largement cultivée, dont plusieurs espèces sont utilisées dans l'industrie. Aujourd'hui, leurs composés photochimiques sont utilisés pour améliorer la saveur des aliments et des boissons. Offrant une palette de saveurs qui en fait l'un des arômes les plus recherchés à l'échelle mondiale.

Les huiles essentielles de *Mentha* ne se limitent pas aux chewing-gums et aux dentifrices, mais sont également utilisées dans les confiseries, les produits laitiers, les sauces et les boissons. De plus, la menthe aide à conserver les aliments, à améliorer leur qualité et à prolonger leur durée de conservation.

La saveur de la menthe poivrée est principalement due au menthol, qui procure une sensation de fraîcheur en activant les récepteurs du froid. Il possède aussi une légère amertume, stimule le goût et l'odorat, et donne une saveur mentholée aux produits alimentaires ainsi qu'aux produits du quotidien, avec un effet rafraîchissant **(Saqib *et al*., 2022)**.

3.5.3. Toxicité d'huiles essentielles

L'huile essentielle de menthe poivrée est l'une des plus utilisées sur le marché, mais sa toxicité doit être prise en compte. Sa toxicité aiguë est faible lorsqu'elle est de qualité pharmaceutique et utilisée conformément aux posologies recommandées.

Une inhalation ou une ingestion excessive de menthol peut entraîner des nausées, des brûlures d'estomac, des troubles cardiaques, notamment une bradycardie, des tremblements musculaires et des troubles du système nerveux central comme l'ataxie. Le potentiel allergisant de cette huile essentielle est faible, bien que des réactions allergiques aient parfois été signalées après absorption.

En application cutanée, l'huile essentielle pure peut provoquer une irritation oculaire temporaire. Il est donc conseillé de se laver soigneusement les mains après usage et d'éviter l'application sur une peau sensible ou lésée **(Korber, 2025)**.

4. Combinaison bactériocine-huile essentielle

4.1. Principe et intérêt de la combinaison

La synergie désigne une situation où l'action combinée d'agents antimicrobiens produit un effet supérieur à la somme de leurs effets individuels **(Tavares *et al*., 2024)**.

De nombreuses études montrent que l'association de bactériocines et de certaines substances chimiques exerce des effets antibactériens synergiques contre les micro-organismes responsables de l'altération des aliments, ainsi que contre les agents pathogènes d'origine alimentaire. Les bactériocines et les huiles essentielles inhibent la croissance de ces agents en modifiant la perméabilité et le potentiel membranaires, ou en détruisant la membrane cellulaire, tout en prolongeant la durée de conservation des aliments sans compromettre leur acceptabilité sensorielle. Cette synergie s'explique par le fait que les deux agents ciblent des mécanismes différents, renforçant ainsi l'action antibactérienne. Les huiles essentielles offrent également des propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires et antioxydantes. Leur utilisation en complément des bactériocines peut favoriser la croissance de bactéries résistantes au stress oxydatif, réduire ce stress et améliorer l'inhibition de la colite. Par ailleurs, cette association répond à la demande croissante des consommateurs pour des aliments plus naturels et sans conservateurs. L'association de bactériocines et d'huiles essentielles constitue donc une piste prometteuse pour le développement d'agents antimicrobiens dans l'industrie alimentaire **(Yu *et al*., 2023)**.

4.2 Exemples de combinaison

Afin de limiter l'incidence des maladies d'origine alimentaire et l'utilisation d'additifs synthétiques, différentes combinaisons de bactériocines et d'huiles essentielles ont fait l'objet de nombreuses études **(Yu *et al*., 2023)**.

Cama-Curasi *et al*., 2022. Ont évalué l'effet de l'ajout de nisine (0, 250 et 500 UI/mL) et d'huile essentielle d'origan (0, 0,025 % et 0,05 %), seules ou en association, sur la charge en *Staphylococcus aureus* dans le lait de vache. Ensuite, la qualité sensorielle, physico-chimique et microbiologique du fromage frais fabriqué à partir de lait additionné de nisine + d'huile essentielle d'origan (C1) ou de nisine seule (C2) a été évaluée par rapport à un fromage témoin (C0, lait sans ajout de nisine ni d'huile essentielle d'origan). Les résultats ont montré que l'ajout de nisine réduisait efficacement la charge de *S. aureus* dans le lait, de manière semblable à l'ajout de la combinaison nisine + huile essentielle d'origan, par rapport au témoin. Les résultats de l'évaluation de la qualité du fromage frais ont révélé que C1 et C2 n'altéraient pas la qualité physico-chimique du fromage frais (pH, teneur en matières grasses et en solides totaux) pendant la conservation (0-8 jours) par rapport au témoin. De plus, C1 et C2 ont réduit de manière similaire le nombre de bactéries aérobies mésophiles et d'entérobactéries dans le fromage frais par rapport au témoin pendant la conservation. L'évaluation sensorielle a montré que les consommateurs n'appréciaient pas le fromage frais additionné de nisine + d'huile essentielle d'origan (C1) en raison de son arôme intense d'origan, lui attribuant la note globale de qualité la plus médiocre.

Shahbazi, 2015, a évalué les effets de l'huile essentielle de *Ziziphora clinopodioides* (à 0,1 % et 0,2 %) et de la nisine (à 250 et 500 UI/mL), séparément et en association, sur la survie d'*Escherichia coli* O157:H7 inoculée dans du Doogh (boisson au yaourt iranienne) pendant une conservation à température réfrigérée (4 ± 1 °C) pendant 9 jours. Un effet antibactérien marqué a été observé lorsque les échantillons de doogh ont été traités avec 0,1 % et 0,2 % d'huile essentielle en association avec différentes concentrations de nisine. Dans ces groupes d'échantillons traités, la croissance bactérienne a été complètement inhibée et aucun nombre de cellules n'a été observé au cinquième jour de conservation. De plus, les résultats obtenus pour les concentrations combinées d'huile essentielle et de nisine ont démontré que l'association de l'huile essentielle à 0,2 % et de la nisine à 500 UI/mL réduisait de manière significative (p<0,05) la population de pathogènes par rapport aux autres groupes d'échantillons traités.

Une étude a montré que la combinaison de la nisine et du carvacrol (le composant principal des huiles essentielles d'origan et de thym) présente une activité antibactérienne supérieure à celle de chaque composé seul contre la souche standard *S. aureus* BNCC 186 335 dans du lait pasteurisé, à 25 °C et 4 °C. Cette combinaison peut endommager la membrane de *S. aureus*, provoquant une fuite d'acides nucléiques et de protéines. De plus, l'association de la nisine et de l'huile essentielle d'ail réduit le nombre de *L. monocytogenes* ATCC 19118 viables, probablement parce que l'huile essentielle augmente le nombre et la taille des pores membranaires par rapport à la nisine seule **(Yu *et al.*, 2023)**.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Cadre d'étude et objectifs :

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche de Molécules Bioactives et Applications de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Cheikh Larbi Tebessi-Tébessa pendant une durée de 3 mois et 21 jours de l'année universitaire 2026.

La présente étude repose sur les objectifs suivants :

- Extraction d'une huile essentielle d'une plante médicinale *Mentha piperita* L.
- Préparation d'un fromage frais à caille lactique en utilisant des ferments mésophiles industriels et la présure bactérienne.

- Détermination de l'effet de l'incorporation de la nisine et de l'huile essentielle à différentes concentrations (1 %, 2 % et 3 %) sur la qualité physicochimique, microbiologique et sensorielle du fromage frais.
- Étude de l'activité antimicrobienne de la nisine et de cette HE contre les bactéries pathogènes.
- Étude de l'effet de synergie de la nisine et l'huile essentielle contre les bactéries pathogènes.

2. Matériel

2.1. Matériel non biologique

a) Verreries, instruments et consommables, appareils, réactifs, solutions et colorants (ANNEXE A)

b) Milieux de culture (ANNEXE B) :

- Gélose nutritive (GN).
- Gélose Mueller-Hinton (MH).
- Gélose VRBL.
- Gélose SS (*Salmonella*, *Shigella*).
- Gélose Chapman.
- Gélose Viande Foie (VF).
- Gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS).
- Gélose Hecktoen.
- Gélose Sabouraud.
- Bouillon nutritif (BN).

- Bouillon tryptone-sel.
- Bouillon Mueller-Hinton (MH).

2.2. Matériel biologique

- Lait cru de vache.
- Ferment mésophile lyophilisé en poudre composé des souches : *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* et *cremoris* et *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ou *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*.
- Présure bactérienne halal – Force 1/5000 (Foods mania,Algérie).
- Conservateur alimentaire – Nisine 100 ml (Conservateur naturel (produit par fermentation de *Lactococcus lactis*) reconnu pour son efficacité contre les bactéries indésirables telles que *Clostridium***,** *Listeria*) (Foods mania, Algérie).

- Souches de référence : pour les tests d'activité antibactérienne, nous avons choisi les souches bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 9372, *Escherichia coli* ATCC 25922.
  ATCC: American Type Culture Collection.
- Matériel végétal (*Mentha piperita*) : dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, nous sommes intéressés à l'extraction de l'huile essentielle de Mentha *piperita (*la menthe poivrée) acquise au niveau du marché local de la région de Tébessa. Notre choix est portée sur cette plante aromatique, car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée dans plusieurs domaines (pharmaceutique, médicinal et alimentaire) **(Figure 12).**



Figure 12 : *Mentha piperita*

3. Méthodes

3.1. Extraction de l'huile essentielle de *Mentha piperita*

L'extraction par hydrodistillation L'huile essentielle est réalisée au niveau du laboratoire de recherche sur les molécules bioactives et applications de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université de Tébessa **(Figure 13)**. L'extraction a été réalisée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'alcool puis rincé à l'eau distillée pour éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction.

a) Technique :

Pour faire l'extraction de l'huile essentielle, les étapes suivantes ont été réalisées :

1. Peser 50 g de la matière végétale et introduire dans un ballon d'une capacité de 1000 ml, puis ajouter 500 ml d'eau distillée ;
2. Mettre ce ballon dans le chauffe-ballon, ensuite introduire l'ouverture du dispositif dans le ballon ;
3. Alimenter le réfrigérant en eau et établir un équilibre entre les volumes d'eau présents dans l'appareil pour assurer la condensation des huiles ;
4. Allumer le chauffe-ballon ;
5. Après deux heures d'extraction, ouvrir le robinet afin de dégager l'eau florale, puis l'huile essentielle a été recueillie et conservée à 4°C dans un tube fermé et enveloppé par l'aluminium **(Zemouli & Soualmia, 2023)**.

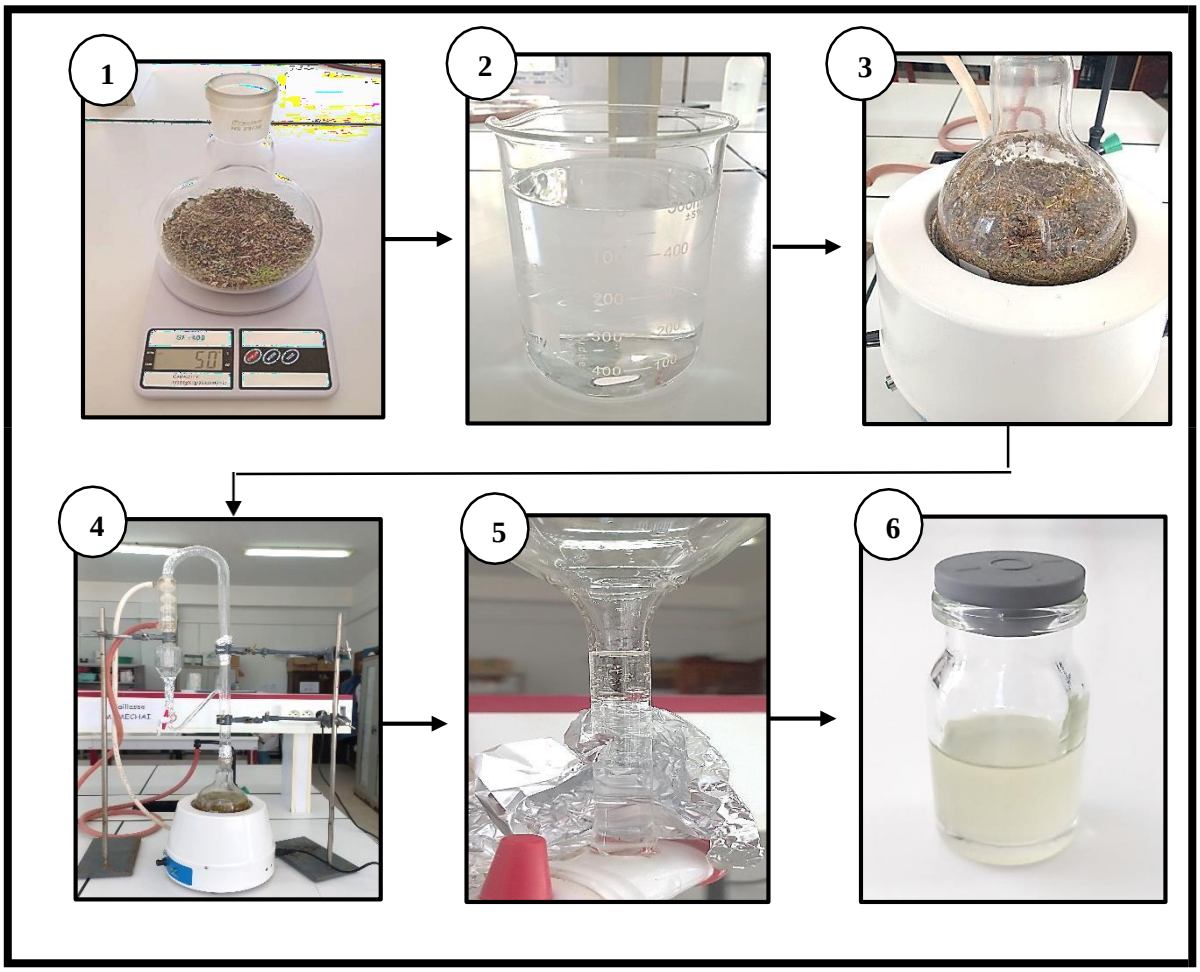


Figure 13 : L'extraction d'huile essentielle de *Mentha piperita* **(Boubtana *et al*., 2026).**

3.2. Préparation de levain lactique mésophile (le même jour que la préparation du fromage).

La préparation de levain lactique mésophile est réalisée selon les étapes suivantes **(Figure14)** :

1. Remplir un flacon avec 100 mL de lait écrémé stérile ;
2. Peser 0,1 g de la souche mésophile ;
3. Ensemencer le flacon contenant 100 mL de lait écrémé stérile avec la souche mésophile pesée et fermer hermétiquement le flacon ;
4. Placer le flacon ensemencé dans l'étuve à 37 °C pendant 1 h **(Moghtit., 2023)**.

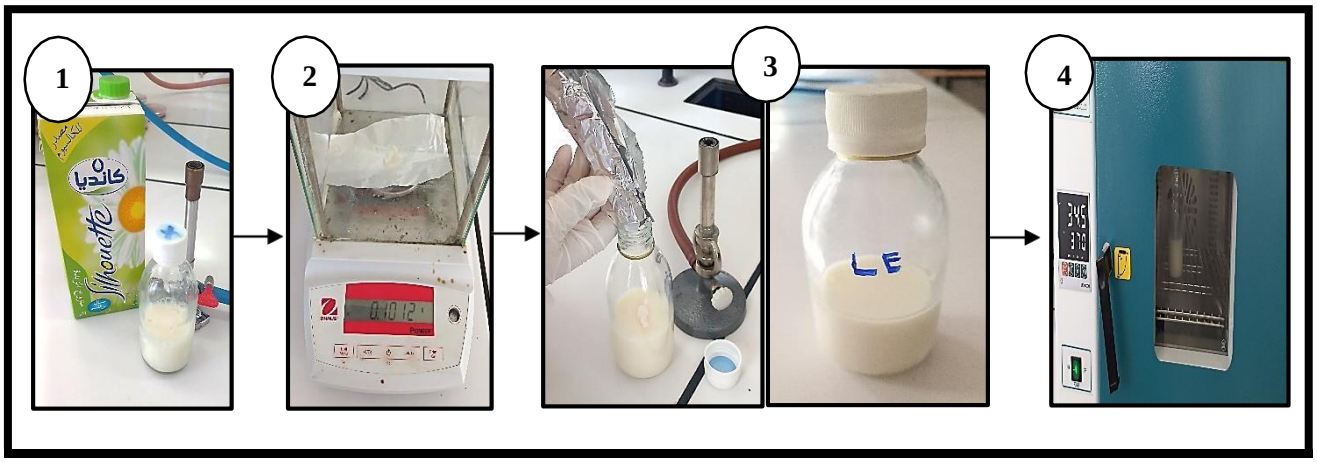


Figure 14 : Préparation de levain lactique mésophile **(Boubtana *et al*., 2026).**

3.3 Fabrication du fromage frais à caillé lactique

Dans le cadre de la fabrication du fromage frais, le lait de vache utilisé provenait de deux sources différentes. Les trois premiers essais ont été réalisés à partir de lait fourni par le Lait et les Fromages de Thévest à Tébessa, tandis que les trois essais de répétition ont été effectués avec du lait provenant de la Laiterie El Baraka Skanska à Tébessa.

Les différentes étapes de la fabrication du fromage frais à caillé lactique durant l'expérimentation sont illustrées dans la **(Figure15)**.

1. Filtrer un volume de 8 litres de lait cru de vache à l'aide d'une mousseline propre afin d'éliminer les impuretés et les particules en suspension ;
2. Thermiser le lait à une température de 60 °C pendant une durée de 30 minutes ;
3. Refroidir le lait jusqu'à atteindre une température comprise entre 37 °C et 38 °C ;
4. Ensemencement des souches mésophiles (8 ml) ;
5. Ajouter un volume de 2 ml de présure au lait ;
6. Maturation et coagulation (pendant 15 à 18 heures à 28°C à fin d'avoir l'acidification) ;
7. Déposer ensuite le caillé dans une mousseline propre pour l'égouttage ;
8. Laisser égoutter le caillé dans la mousseline pendant une durée d'une heure afin d'éliminer le lactosérum ;
9. Transférer le caillé dans un récipient propre, puis ajouter le sel (NaCl) en malaxant délicatement pour assurer une répartition homogène.

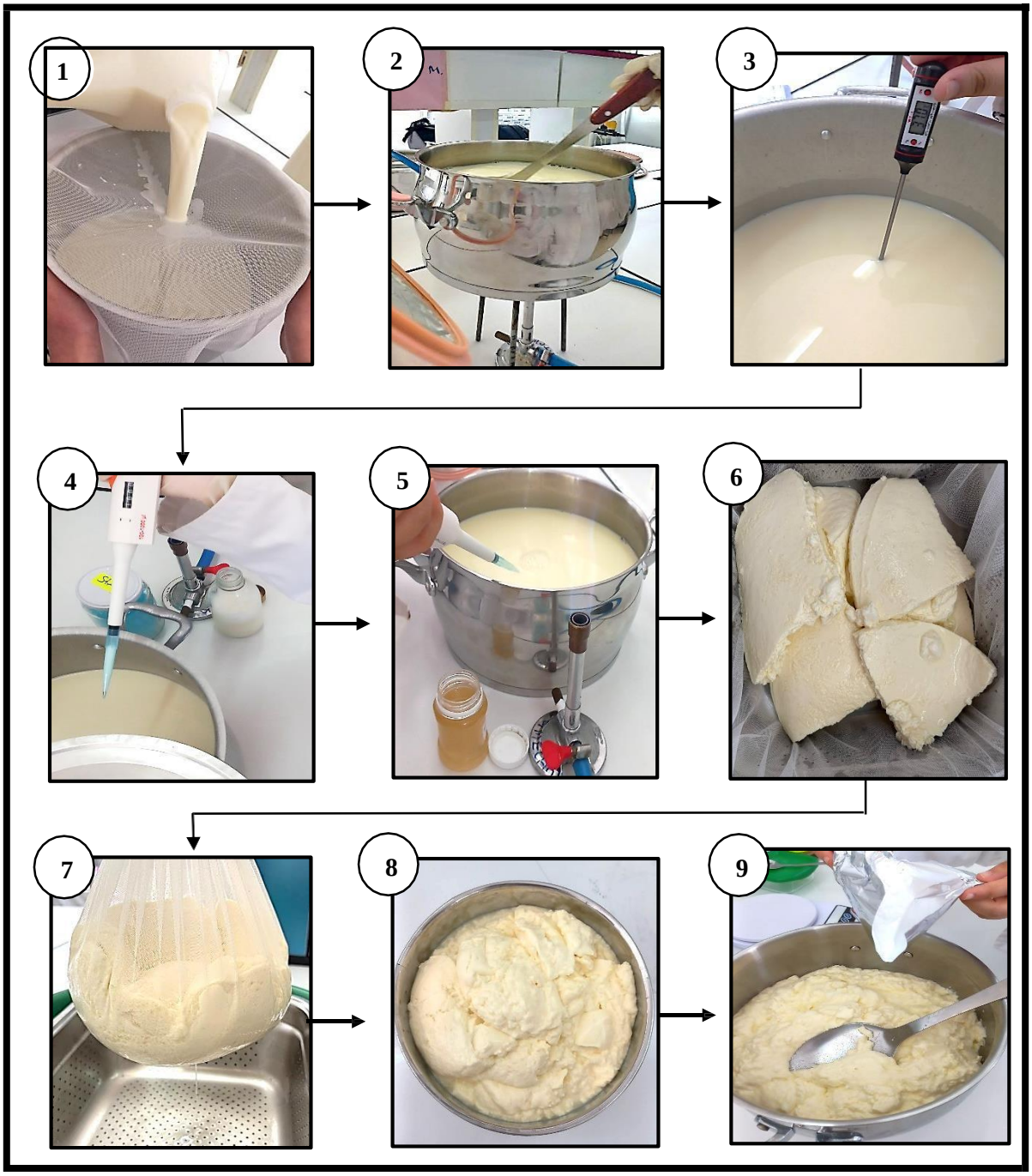


Figure 15 : Les différentes étapes de la fabrication du fromage frais à caillé lactique **(Boubtana *et al.*, 2026).**

3.4 Incorporation de la nisine et de l'huile essentielle de *Mentha piperita* dans le fromage frais

Le fromage frais obtenu a subi enfin un traitement particulier par la nisine et l'huile essentielle de *Mentha piperita* à différentes concentrations (1 %, 2 % et 3 %) :

1. Ajouter un volume de 400 µl (0,4 ml) de la nisine dans le récipient à l'aide d'une micropipette de 100 µl, puis malaxer vigoureusement afin d'assurer une distribution homogène de la nisine dans le caillé.
2. Peser la totalité du fromage frais obtenu afin de déterminer la masse exacte avant sa répartition.
3. Répartir le fromage frais fraîchement préparé chaque semaine en deux lots expérimentaux distincts, chacun conditionné dans trois bocaux stériles destinés respectivement aux analyses microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles : un premier lot témoin sans ajout d'huile essentielle de *Mentha piperita* et un deuxième lot destiné au traitement par incorporation d'huile essentielle.
4. Préparer les trois bocaux du lot traité en introduisant préalablement dans chacun la concentration spécifique d'huile essentielle fixée pour l'essai : 1 % (0,1 ml) pour le premier essai, 2 % (0,2 ml) pour le deuxième essai et 3 % (0,3 ml) pour le troisième essai.
5. Ajouter la quantité correspondante (100 g) de fromage frais dans chaque bocal du lot traité contenant déjà l'huile essentielle, puis malaxer soigneusement afin d'assurer une répartition homogène de l'huile essentielle dans la matrice fromagère.
6. Fermer hermétiquement l'ensemble des bocaux des deux lots expérimentaux (six bocaux pour chaque essai hebdomadaire).
7. Conserver tous les échantillons au réfrigérateur à une température de 4 °C jusqu'à la réalisation des différentes analyses.

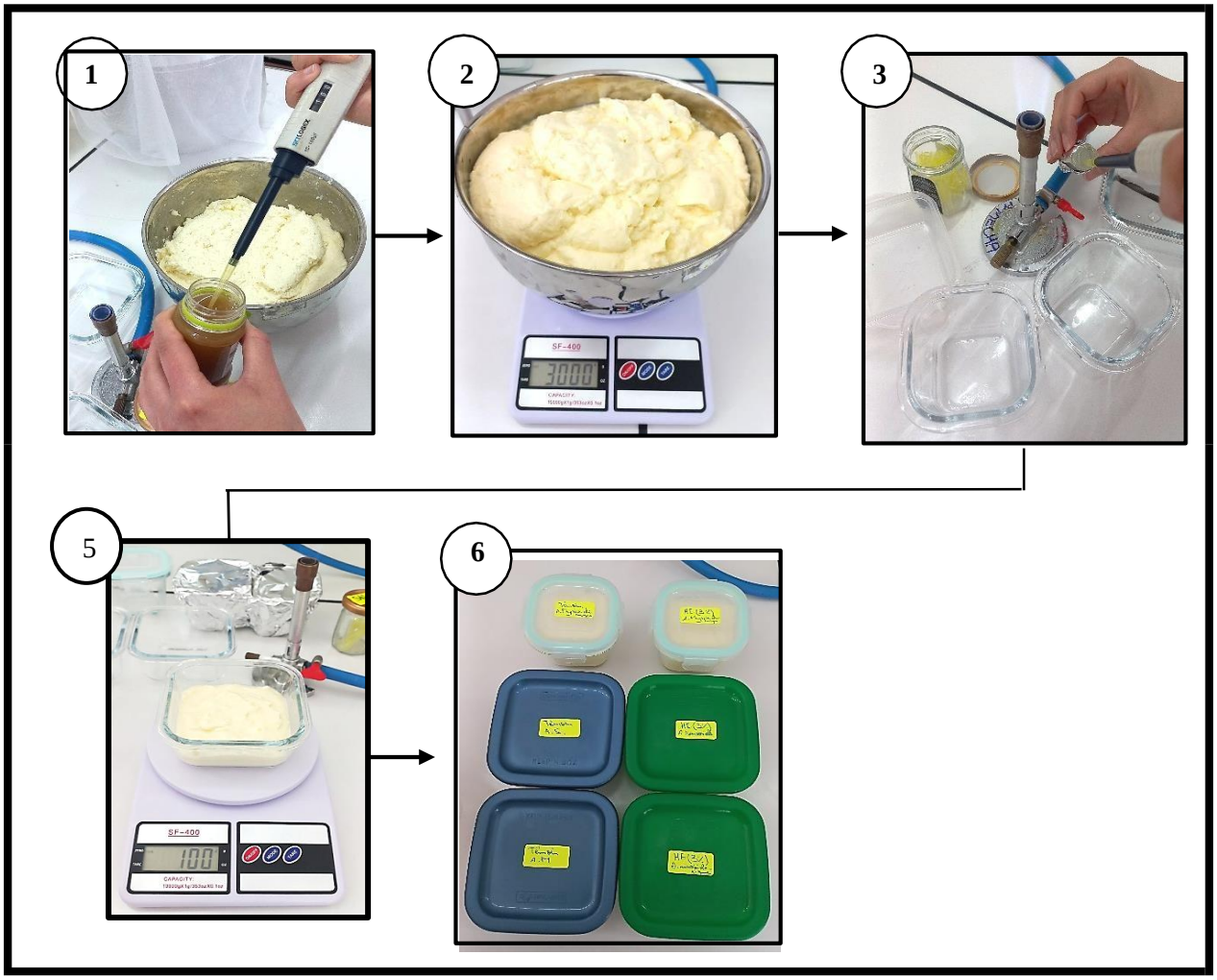


Figure 16 : Incorporation de la nisine et de l'huile essentielle de *Mentha piperita* dans le fromage frais **(Boubtana *et al* ., 2026).**

3.5. Analyses physico-chimiques des fromages fabriqués

Les analyses physico-chimiques du fromage frais ont été réalisées en répétition pour chaque échantillon contenant différentes concentrations d'huile essentielle (1 %, 2 % et 3 %). Cinq paramètres, à savoir la teneur en matière sèche, la teneur en matière grasse, le pH, la salinité ainsi que la détermination de la teneur en matière grasse par rapport à la matière sèche, ont été effectués au laboratoire Chihab Lab de contrôle qualité et de conformité situé à Tébessa. En revanche, la teneur en lactose, la teneur en protéines et l'acidité titrable ont été déterminées au niveau d'un autre laboratoire.

3.5.1. Mesure du pH

Une quantité de 10 g de fromage frais broyée dans 90 ml de l'eau distillée puis homogénéisée a été utilisée pour mesurer le pH à l'aide d'un pH-mètre de paillasse (HANNA

instruments, Roumanie HI220) étalonné par des solutions tampons (La norme internationale ISO 11869 (également FIL 185).

3.5.2. L'acidité titrable

Pour la mesure de l'acidité dornic de chaque échantillon de Jben, une masse de 9 g de Jben a été homogénéisée à faible vitesse avec 20 ml d'eau distillée placée dans un récipient. Le mélange est titré par une solution de NaOH (0,1 N) jusqu'au virage au rose, en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré**.**

La valeur de l'acidité du Jben est obtenue par la formule suivante :

$$A = 10\ (V/V')\ (g/l)$$

A : quantité d'acide lactique en (g/l) ;

V : volume de la solution de NaOH utilisé (ml) ;

V' : volume de l'échantillon (ml).

Pour obtenir l'acidité titrable en degrés Dornic (°D), la valeur de A est multipliée par 10 (l'acidité a été diluée 1/10) **(Guiraud, 1998).**

3.5.3. Dosage de lactose

Le dosage de ce paramètre physico-chimique a été réalisé à l'aide d'un LACTOSCAN SCC au niveau d'un laboratoire privé**.**

3.5.4. Détermination de l'extrait sec total (l'EST)

Cette méthode consiste en une évaporation de l'eau de la prise d'essai dans une étuve (Memmert) à une température de 102°C et à peser le résidu, selon la méthode décrite dans le **JORA N° 25 du 4 mai 2014.**

a) Mode opératoire

- Chauffer la capsule ouverte contenant environ 20 g de sable ainsi que son couvercle et la baguette d'agitation dans l'étuve réglée à 102°C. Laisser le contenu de la capsule atteindre 102°C, puis sécher le contenu pendant, au moins, 1 h ;
- Remettre le couvercle sur la capsule et la mettre immédiatement dans le dessiccateur. Laisser refroidir la capsule jusqu'à température ambiante dans le

dessiccateur. Une fois la capsule refroidie, la sortir du dessiccateur et la peser avec son couvercle et la baguette d'agitation à 1 mg près et enregistrer la masse avec quatre décimales ;

- Pencher la capsule pour faire glisser le sable d'un côté de celle-ci. Placer environ 3 g d'échantillon pour essai sur une surface de la capsule exempte de sable, peser la capsule ainsi que son couvercle et la baguette d'agitation à 1 mg près et enregistrer la masse avec quatre décimales ;
- Mélanger soigneusement la prise d'essai et le sable et répartir le mélange de manière homogène sur le fond de la capsule. Laisser l'extrémité aplatie de la baguette d'agitation dans le mélange, l'autre extrémité s'appuyant sur la paroi de la capsule. Chauffer la capsule, avec son couvercle placé à côté d'elle, dans l'étuve réglée à 102°C. Laisser le contenu de la capsule atteindre 102°C, puis sécher le contenu pendant, au moins, 3 h ;
- Remettre le couvercle sur la capsule. Laisser celle-ci refroidir dans le dessiccateur jusqu'à température ambiante. Peser la capsule avec son couvercle à 1 mg près et enregistrer la masse avec quatre décimales ;
- Chauffer de nouveau la capsule avec son couvercle comme indiqué, mais pendant 1 h au lieu de 3 h. Remettre le couvercle sur la capsule et la laisser refroidir jusqu'à la température ambiante dans le dessiccateur. Peser de nouveau la capsule avec son couvercle à 1 mg près et enregistrer la masse avec quatre décimales ;
- Renouveler le mode opératoire décrit-en jusqu'à observer, entre deux pesées successives, une diminution de masse inférieure ou égale à 2 mg ou une augmentation de masse. Enregistrer la masse minimale de la capsule.

b) Calcul et expression des résultats

Calculer la teneur totale en matière sèche de l'échantillon pour essai, Wt, exprimée en pourcentage de la masse, à l'aide de l'équation suivante :

$$W_t = \frac{(m_2 - m_0) - (m_3 - m_4)}{m_1 - m_0} \times 100\ \%$$

où :

m_0 : est la masse, en grammes, de la capsule préparé;

m_1 : est la masse, en grammes, de la prise d'essai et de la capsule avant dessiccation ;

m_2 : est la masse, en grammes, de la prise d'essai et de la capsule après dessiccation ;

m_3 : est la masse, en grammes, de la capsule utilisée pour l'essai à blanc , pour le même temps de dessiccation que m_2;

m_4 : est la masse, en grammes, de la capsule préparée utilisée pour l'essai à blanc.

3.5.5. Détermination du taux de la matière grasse (MG)

La détermination du taux de la MG est réalisée selon la méthode de **Van Gulik**, technique acido-butyrométrique standardisée **(JORA N° 67, 2014)** utilisée pour déterminer la teneur en matière grasse des fromages, particulièrement adaptée aux fromages frais, à pâte molle et fondus. Elle est basée sur la dissolution des protéines par l'acide sulfurique et la séparation de la matière grasse par centrifugation dans un butyromètre à godet perforé. Cette séparation est favorisée par l'addition de l'alcool iso amylique.

a) Mode opératoire

- Peser 3 g de l'échantillon pour essai dans un système de pesage adapté à un bouchon approprié ou dans une capsule, ou sur une feuille de matière plastique ;
- Transvaser le fromage dans le butyromètre. Dans le cas d'utilisation d'une feuille de matière plastique, introduire le fromage avec la feuille. Fermer le col avec le gros bouchon, retourner le butyromètre et enlever le petit bouchon ;
- Placer le butyromètre, col en bas (c'est-à-dire large ouverture) durant 5 min, dans le bain d'eau, à (65 ± 2°C) ;
- Retirer le butyromètre du bain d'eau et l'agiter énergiquement durant 10 s ;
- Répéter les opérations décrites jusqu'à ce que les protéines soient complètement dissoutes. En général 1 h est nécessaire pour atteindre ce résultat. Poursuivre ces opérations durant 15 min après que les protéines ont été dissoutes ;
- Retirer le butyromètre du bain d'eau et, après avoir soigneusement agité, ajouter 1 ml d'alcool iso-amylique par l'ouverture étroite. Agiter immédiatement durant au moins 3 s ;
- Ajouter de l'acide sulfurique par l'ouverture étroite jusqu'à ce que le niveau atteigne le trait repère 35 % de l'échelle. Fermer immédiatement avec le petit bouchon et retourner le butyromètre ;
- Agiter le butyromètre énergiquement durant 10 s dès que la matière grasse est montée dans la chambre du butyromètre. Retourner à nouveau de façon que l'acide s'écoule de la tige. Répéter deux fois les opérations de retournement et d'agitation ;

- Placer le butyromètre, col en bas, dans le bain d'eau durant 5 min, le niveau de l'eau étant maintenu au-dessus du sommet de la colonne de matière grasse dans le butyromètre ;
- Retirer le butyromètre du bain d'eau, ajuster le gros bouchon de façon à amener la colonne de matière grasse dans la partie graduée, et centrifuger le butyromètre à une accélération centrifuge relative de (350 ± 50) g durant 10 min ;
- Placer le butyromètre, col en bas, dans le bain d'eau durant 5 min, le niveau de l'eau étant maintenu au-dessus du sommet de la colonne de matière grasse dans le butyromètre ;
- Retirer le butyromètre du bain d'eau et ajuster soigneusement le gros bouchon afin d'amener l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse, en la déplaçant au minimum, à un trait repère et, de préférence, à un trait repère chiffré. Opérer de préférence en tirant légèrement sur le bouchon et non en l'enfonçant de force dans le col.

b) Calcul et expression des résultats

La teneur en matière grasse, exprimée en grammes pour 100 g de fromage, est égale à **B – A.**

A: est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse ;

B: est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse.

3.5.6. Rapport matière grasse/matière sèche (G/S)

Le rapport matière grasse/matière sèche exprimé en gramme pour 100 g de matière sèche est donné par la formule suivante :

$$R = (G/S) \times 100$$

G : Matière grasse ;

S : Matière sèche ;

R : Rapport %.

3.5.6. Détermination de la teneur en azote totale

La détermination de la teneur en azote totale est effectuée par la méthode de Kjeldahl décrite dans le **JORA N° 75 du 28 décembre 2014**. Elle consiste en une minéralisation de l'échantillon par chauffage en présence d'un mélange d'acide sulfurique concentré, de sulfate de potassium et de sulfate de cuivre, utilisés comme catalyseurs pour convertir l'azote

organique de l'échantillon en sulfate d'ammonium. Le produit de la réaction est additionné de la soude pour libérer de l'ammoniac qui sera titré par une solution d'acide chlorhydrique en présence d'acide borique**.**

a) Minéralisation

1 g de fromage est pesé dans un tube en verre appelé matras, ensuite 5g de sulfate de potassium (K2SO4), 0,5 g de sulfate de cuivre ($CuSO_4$) et 15 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4, 0,2 N) ont été ajoutés à l'échantillon, ensuite le matras est placé dans l'appareil de Kjeldahl à une température de 400°C pendant 1 h 30 min.

b) Distillation et dosage de l'azote total

Le matras est refroidi à température ambiante, puis son contenu est dilué avec 75 ml d'eau distillée qui servent en même temps à rincer les parois du matras. Ensuite ce dernier est raccordé à l'appareil de distillation où 60 ml (3 × 20 ml) de l'hydroxyde de sodium à 30 % sont ajoutés à l'échantillon. L'ammoniac produit (suite à l'ajout de la solution de NaOH) est capté avec 25 ml d'acide borique (H_3BO_3) qui vire du rose au vert. L'ammoniaque contenu dans la solution d'acide borique est titré avec une solution d'acide sulfurique à 0,1 N jusqu'à obtention de la couleur de départ de l'acide borique (rose). L'azote total de l'échantillon est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Azote totale en \%} = \frac{(C_b - 0{,}1) \times N \times 14}{P_e} \times \frac{100}{1000}$$

C_b : Chute de la burette (ml) ;

N : Normalité de l'acide sulfurique (solution de titration) ;

14 : Masse équivalente de l'azote ;

P_e : masse de la prise d'essai (g).

c) Protéines totals:

La quantité des protéines totales est obtenue par la formule suivante :

$$\text{Azote total en \% x F}$$

F : facteur de conversion de l'azote en protéines = 6,38.

Calculer la teneur en matière azotée totale de l'échantillon pour essai, Wp, à l'aide de l'équation suivante :

$$\mathbf{WP = W_N \times 6{,}38}$$

WP : est la teneur en matière azotée totale de l'échantillon pour essai, exprimée sous forme de

Pourcentage en masse ;

$\mathbf{W_N}$: est la teneur en azote de l'échantillon pour essai, exprimée sous forme de pourcentage en masse, à quatre décimales près ;

6,38 : est le coefficient multiplicateur généralement admis pour exprimer la teneur en azote en tant que teneur en matière azotée totale.

3.5.7. Détermination du rendement fromager

Le rendement fromager (Rf) représente le pourcentage du poids total du fromage (kg) par rapport au poids initial du lait (kg) **(Libouga *et al.* 2006)**. Il est calculé comme suit:

Rf (%) = (poids du fromage /poids du lait) x 100

4. Analyses microbiologiques

4.1. Préparation des dilutions décimales

1. Dans un bécher stérile (au lieu de mortier stérile), 10 g de l'échantillon sont mélangés avec 90 mL d'eau physiologique stérile (tryptone sel / eau peptonée).
2. Après homogénéisation, la suspension est laissée au repos pendant une vingtaine de minutes afin de favoriser la revivification des micro-organismes. Cette première dilution constitue la solution mère à 10^{-1}.
3. Par la suite, on effectue les dilutions successives en prélevant 1 ml de cette dernière que l'on ajoute à 9 ml d'eau physiologique contenue dans un tube à essai (la dilution 10^{-2}).
4. Puis on prélève à partir de tube à 10^{-2}, 1 ml de solution que l'on ajoute à un autre tube contenant 9 ml d'eau physiologique. On obtient ainsi la dilution $10^{-3,}$ et ainsi de suite jusqu'à la dilution 10^{-5} **(Larpent, 1997).**

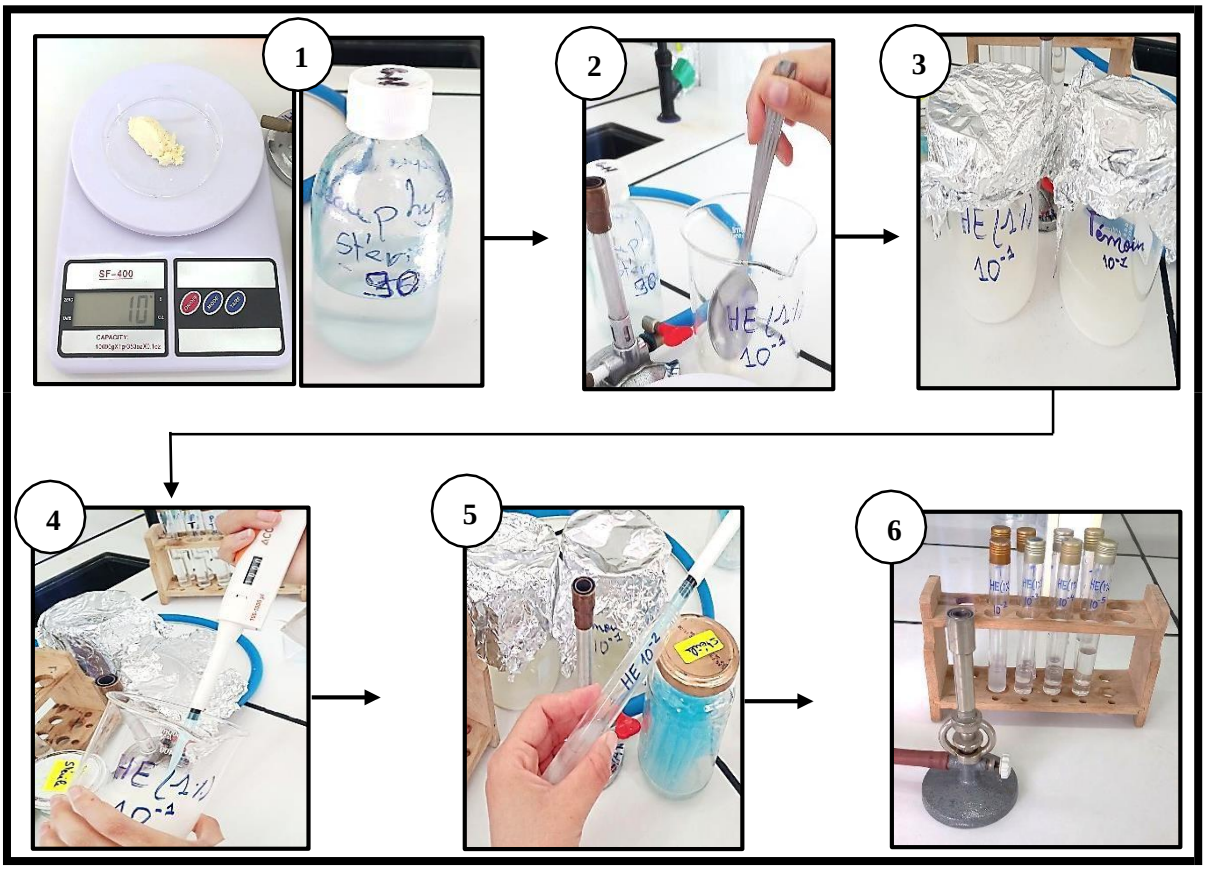


Figure 17 : La préparation de la solution mère et les dilutions décimales **(Boubtana *et al* ., 2026).**

4.2. Dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux

Le milieu utilisé est le VRBL (gélose biliée lactosée au rouge neutre et violet cristal). Sur ce milieu, les coliformes fermentent le lactose en donnant des colonies d'un diamètre de 0,5 à 1 mm.

1. Nous avons utilisé les dilutions 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} et 10^{-4}. Après avoir mis 1 ml d'échantillon dans les boîtes, on ajoute 10 à 15 ml de VRBL (ensemencement dans la masse)
2. Les boîtes séchées sont incubées couvercle vers le bas (2 séries sont préparées) : 4 boîtes pour les coliformes totaux à incuber à 37 °C.
   4 boîtes pour les coliformes fécaux à incuber à 44 °C.
3. La lecture et le dénombrement se font 24 h après incubation, les colonies sont rouges foncées ou violettes.
4. Les boîtes retenues pour le dénombrement doivent contenir au minimum 15 colonies et ne dépassent pas un maximum de 300 colonies. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante **(Guiraud et Galzy, 1980)**.

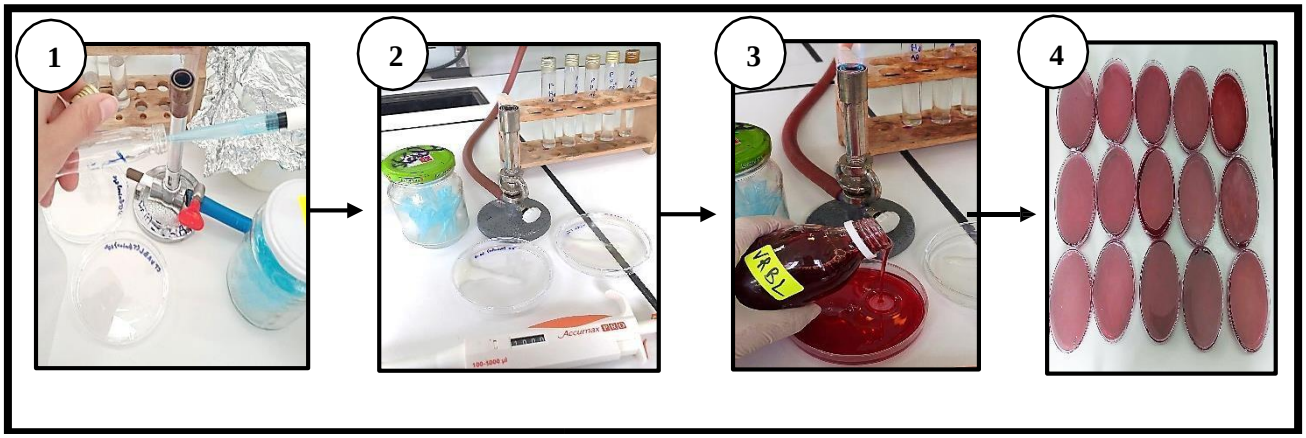


Figure 18 : Dénombrement des coliformes totaux (à 37 °C) et fécaux (à 44 °C) **(Boubtana *et al*., 2026).**

4.3. *Staphylocoques aureus*

1. Le milieu utilisé est la gélose Chapman. Il est préalablement coulé dans les boîtes, car l'ensemencement se fait en surface.
2. À l'aide d'une micropipette 500µl, prélevé 0,1 ml de la dilution 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} et 10^{-4} que l'on met dans 5 boîtes de Pétri. On utilise un étaleur stérile.
3. Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 h à 48 h. présentaient une couleur jaune doré caractéristique, accompagnée d'un virage du milieu Chapman du rouge au jaune, indiquant une fermentation positive du mannitol **(Guiraud, 2003).**

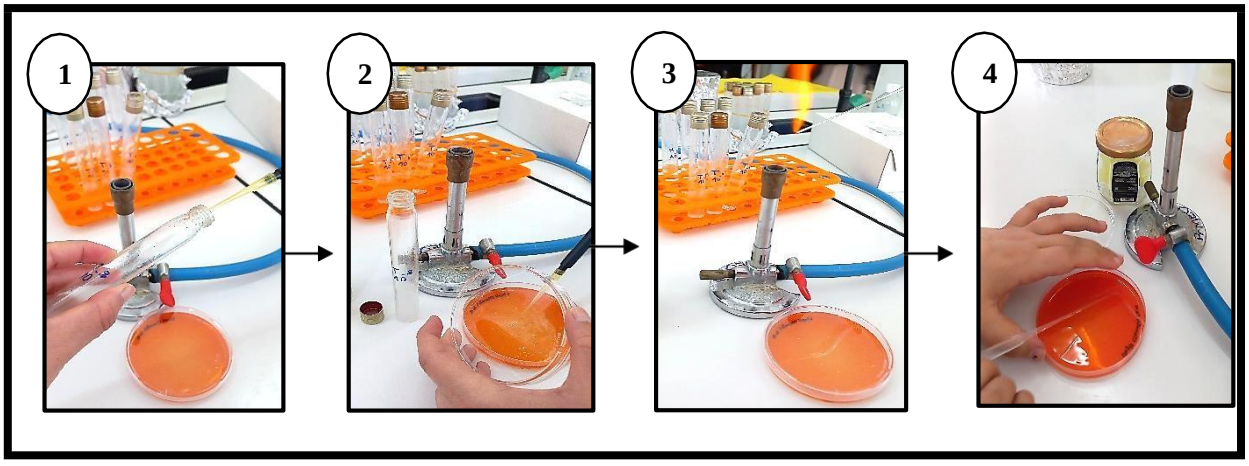


Figure 19 : Recherche et dénombrement des Staphylocoques **(Boubtana *et al* ., 2026).**

4.4. Levures et moisissures

1. À partir des dilutions décimales, 10^{-1} à 10^{-3}, 0,1 ml sont étalés aseptiquement à la surface dans une boîte de Pétri contenant de la gélose Sabouraud + chloramphénicol. Le volume est étalé à l'aide d'un râteau stérile, puis incubé.
2. Laisser reposer pendant 15 à 20 min, sur paillasse puis incuber 5 jours à température ambiante.

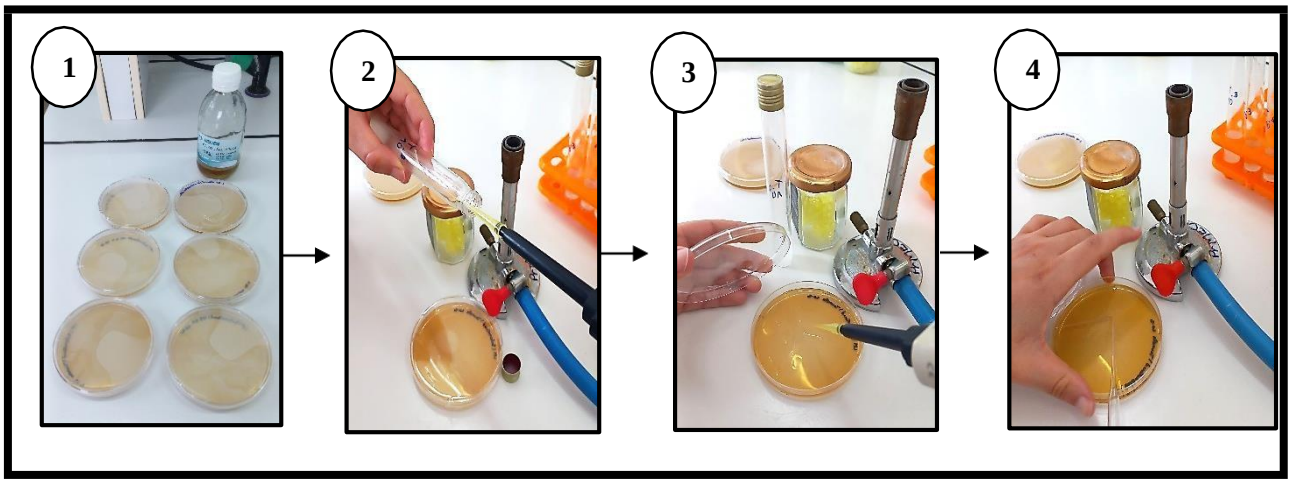


Figure 20 : Dénombrement des levures et moisissures par la méthode d'étalement (Boubtana *et al.*, 2026).

3. La lecture et le dénombrement des levures et moisissures ont été réalisés quotidiennement de manière globale afin de suivre leur développement et d'éviter l'envahissement des boîtes de Pétri. Une boîte du milieu utilisé a été incubée telle quelle, dans le même endroit et dans les mêmes conditions de température, elle constitue le témoin du milieu.
4. Après avoir examiné les colonies, on fait une description de l'aspect macroscopique et compter les colonies (**Salma et Zerifi, 2015**).

4.5. Flore lactique (lactobacilles et lactocoques)

La flore lactique représente les espèces utilisées en industrie laitière pour la fabrication de certains produits laitiers.

1. À partir des dilutions décimales 10^{-1} jusqu'à 10^{-4}, un volume de 0,1 mL est étalé à la surface de gélose MRS. Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 h à 48 h. Pour chaque boîte, les caractères morphologiques des colonies (taille, forme, couleur) sont observés (**Salma et Zerifi, 2015**).

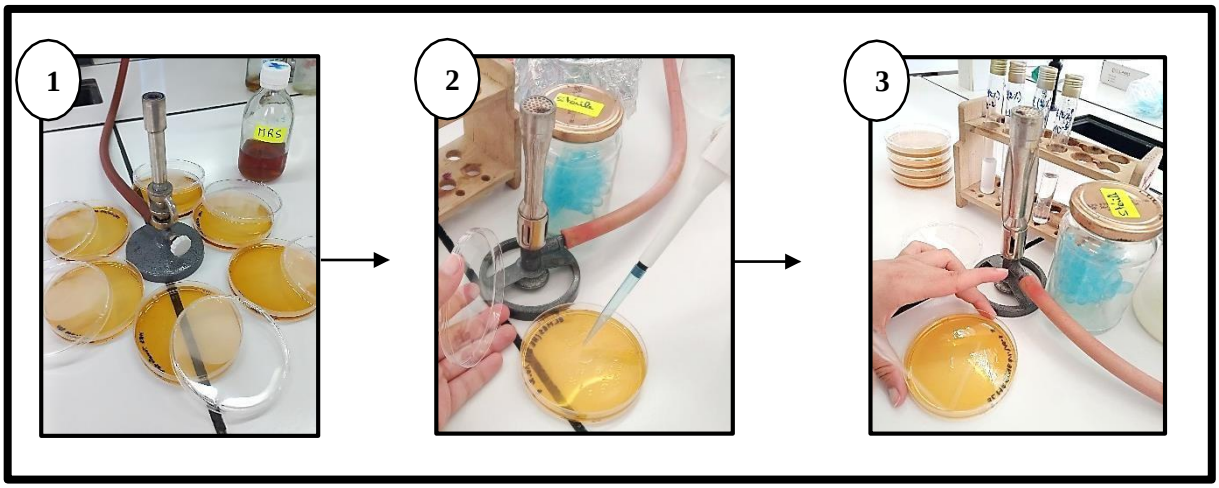


Figure 21 : Dénombrement de la flore lactique **(Boubtana *et al*., 2026).**

4.6. Recherche de *salmonella*

La méthode utilisée pour la recherche des Salmonelles est décrite dans l'Arrêté du 23 janvier 2005 publié dans le **JORA n° 42 du 15 juin 2005**.

- ✓ **Pré-enrichissement** : 1 ml de la suspension mère à analyser sont introduits dans un tube contenant 10 ml d'eau péptonée tamponnée préalablement stérilisé. La préparation est homogénéisée puis incubée à 37 °C pendant 24 heures.
- ✓ **Ensemencement :** Après l'étape d'enrichissement dans l'eau peptonée, prélever à l'aide d'une öse stérile et ensemencer sur milieu Hektoen par la méthode des stries puis incuber à 37 °C pendant 24 heures.
- ✓ **Isolement :** Après incubation, ensemencer une colonie isolée apparaitre sur boîte d' Hektoen à la surface de la gélose SS, puis incubée à 37 °C pendant 24 heures.
- ✓ ▪**Lecture des boîtes :** Après incubation, repérer les colonies transparents avec ou sans centre noir.

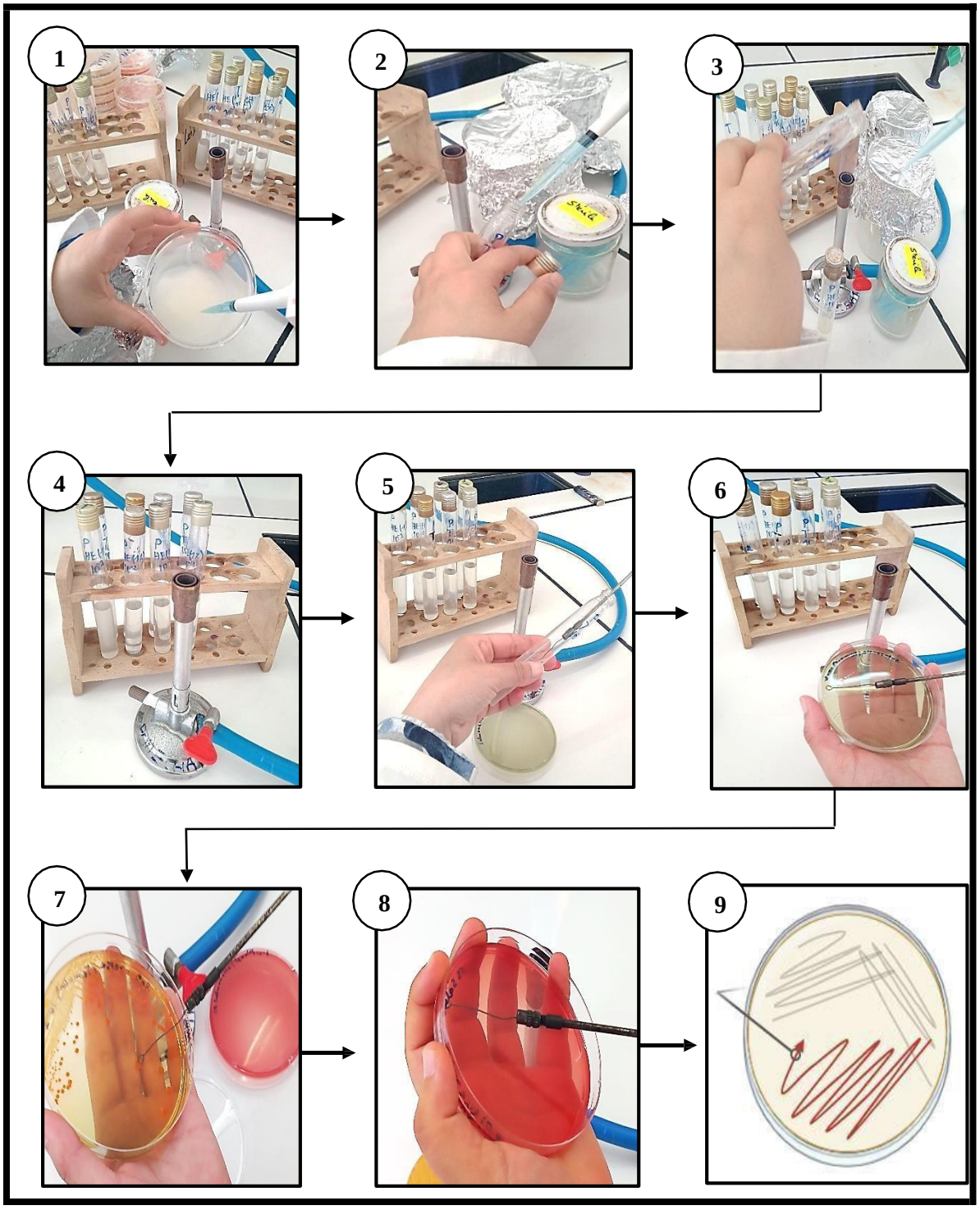


Figure 22 : Recherche des Salmonelles **(Boubtana *et al.*, 2026).**

4.7. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs (CSR)

Il s'agit de bactérie « telluriques » communément rencontrés dans le sol, les eaux des égouts et l'intestin. Elles peuvent contaminer et dégrader les produits alimentaires dans

es conditions d'anaérobie (conserves). Ce sont des bactéries catalase-, réduisent le nitrate en nitrite, fermentant le lactose avec production de gaz.

1. Les dilutions préparées sont introduites dans un bain mari a 80°C pendant 10 min (conditions favorables) Un choc thermique à l'eau froide (conditions défavorables) est réalisé afin de détruire la forme végétative et l'activité des spores, puis 15 ml de gélose glucosé viande-foie est introduite « ensemencement en profondeur » avec quatre gouttes de l'Alun de fer et 10 gouttes de sulfite de sodium.
2. Les tubes sont incubés à 46 °C pendant 48 h. Les colonies de Clostridium sulfito 3 réducteur apparaissent de couleur noire le résultat s'exprime par le nombre de spore par « ml » ou « g » de produit **(Messaour, 2018).**

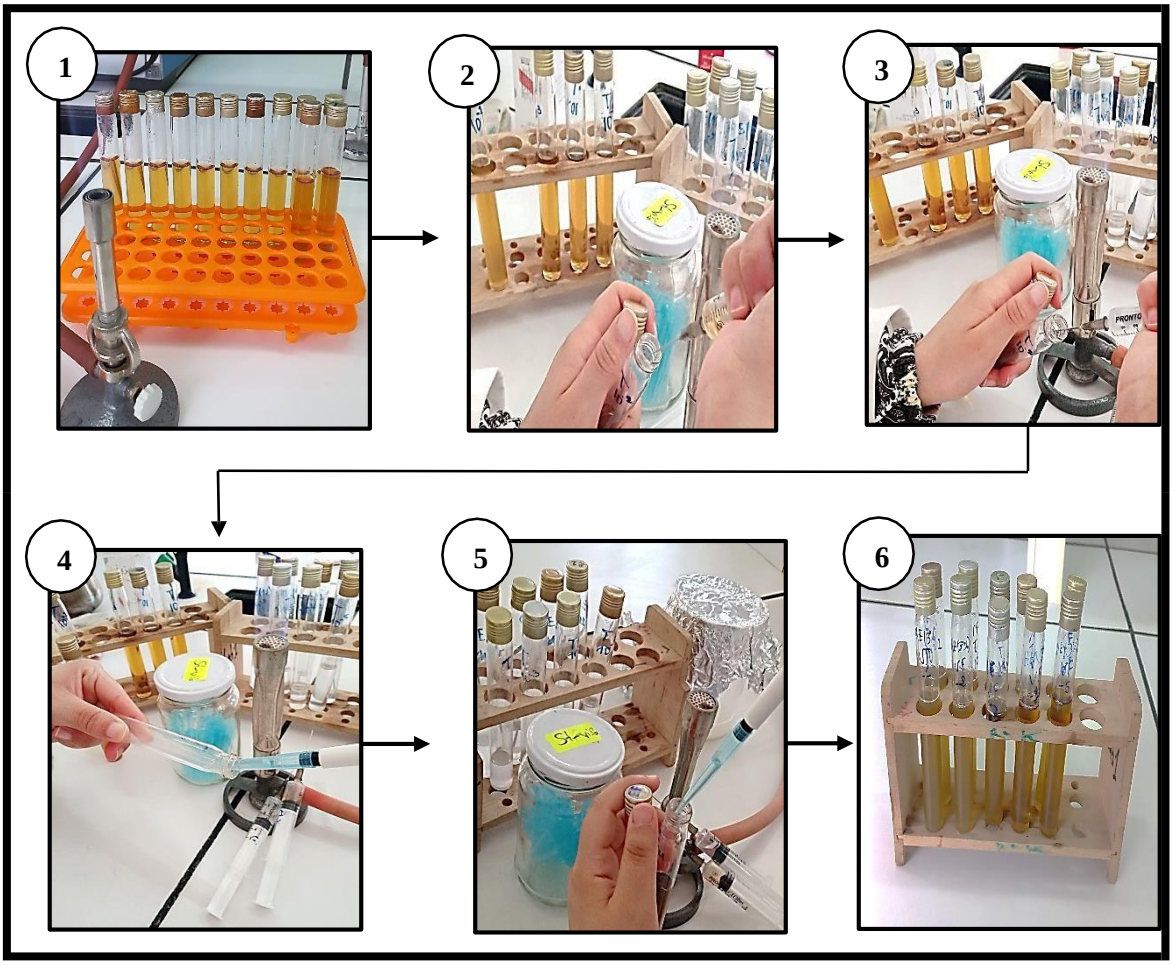


Figure 23 : Recherche et dénombrement des Clostridium sulfato-réducteurs **(Boubtana *et al.*, 2026).**

5. Analyses sensorielles

La qualité organoleptique des fromages expérimentaux a été évaluée selon une échelle de notation variable de 1 à 10 par un jury composé de 10 panélistes conformément aux critères suivants :

- ✓ **Couleur :** Les panélistes ont été appelés à classer les produits selon leurs degrés de préférence.
- ✓ **Aspect homogène :** Consiste à apprécier les produits d'après le degré d'homogénéité du caillé.
- ✓ **Aspect grumeleux :** Consiste à évaluer l'ampleur de l'aspect grumeleux du caillé des produits présentés.
- ✓ **Odeur :** Consiste à évaluer l'importance sensorielle des odeurs liées aux composés aromatiques dégagés par le fromage.
- ✓ **Acidité :** Le panéliste est invité à apprécier le degré d'acidité gustative du fromage lorsqu'il est mis en bouche.
- ✓ **Salinité :** Le panéliste est invité à évaluer le degré de salinité gustative du fromage lorsqu'il est mis en bouche.
- ✓ **Arrière-goût :** Le panéliste est invité à évaluer l'ampleur de l'amertume du fromage lorsqu'il est mis en bouche.
- ✓ **Texture collante :** Le jury est appelé à évaluer le caractère collant du fromage lorsqu'il est écrasé entre les doigts (pousse et indexe).

6. Etude de l`activité antimicrobienne de l`huile essentielle de *Mentha piperita* (HEMP) et de la nisine.

6.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de HEMP et de la nisine

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus petite d'HE, qui empêche les bactéries de se multiplier. C'est le paramètre le plus utilisé pour mesurer *in vitro* l'activité d'un antibiotique**.**

a) Principe

Cette méthode consiste à ensemencer, par une suspension bactérienne standardisée (0,5 McFarland), une série des dilutions de l'HE. L'observation de cette série après un temps d'incubation de 18 à 24 h permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus petite concentration en HE pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu (inhibition de la croissance de 90% de la population microbienne) **(Brahmi et *al.*, 2021).**

b) Technique

Une micro-dilution des huiles essentielles à tester, a été réalisée dans des microplaques à 96 puits selon le protocole décrit par **(Tabanca et *al.*, 2020).** Le milieu de culture utilisé est constitué de Muller Hinton bouillon avec 0,5% de tween 80. **20 µl** d'huile essentielle sont ajoutés dans le premier puits qui contient **180 µl** de bouillon Mueller-Hinton (tween 80 : 0,5%) les autres puits contiennent déjà 100µl MHB (tween 80 : 0,5%). Après homogénéisation du premier puits, **100 µl** du mélange du premier puits sont transférés dans le deuxième puits et ainsi de suite, les **100 µl** du dernier puits sont retirés (une dilution géométrique de base 2).

Ensuite, chaque puits a été inoculé avec **10 µl** de la suspension bactérienne à tester (3,5 × 107 UFC/ml). Des puits contenants de MHB (tween 80 : 0,5%) ont été inoculés par la souche à ester sont utilisés comme contrôles positifs, ceux contenant le HE ou la ciprofloxacine et BMH (tween 80 : 0,5%) non inoculés sont utilisés comme contrôle négatif.

Après 18 heures d'incubation à température de 37 °C, les résultats sont lus à l'œil nu, la CMI de l'huile essentielle est défini comme la plus faible concentration de l'huile essentielle à laquelle le micro-organisme testé ne présente pas de croissance visible dans le bouillon. **(Zemouli & Soualmia, 2023)**.

Valeurs des dilutions utilisées pour la détermination des CMI des huiles essentielles et de la nisine **(Tableau 5).**

Tableau 5 : Valeurs des dilutions utilisées dans la détermination des CMI de l`huile essentielle et de la nisine

Facteur de dilution	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
HE (µl /ml)	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.562	0.781	0.390
Nisine (l /ml)	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	0.039

6.2. Détermination de types d'interaction entre HEMP et la nisine

6.2.1. Étude de l'effet de combinaison «HEMP / nisine» par la méthode de diffusion sur disque

Cette combinaison est réalisée afin de tester l'activité antibactérienne et de mettre en valeur un éventuel effet synergique entre l'huile et la nisine sur les souches bactériennes testées.

Ce test consiste à réaliser des combinaisons entre l'huile et la nisine à différentes concentrations émulsifiées dans le DMSO à raison de 5% (v/v).

Tableau 6: les combinaisons entre l'huile et la nisine.

combinaisons	Concentration (%)	
	HEMP	la nisine
M1	0	100
M2	25	75
M3	40	60
M4	50	50
M5	60	40
M6	75	25
M7	100	0

Des disques de papier (Wattman n°4) stériles de 6 mm de diamètres ont été disposés sur la gélose MH préalablement ensemencée avec la souche teste et 40 µl de chaque combinaison du tableau 5 ont été ajoutés à chaque disque. Après l'incubation à 37° pendant 24h, une lecture a été faite comme cité précédemment dans l'aromatogramme.

D'après **Pibiri (2005)**, il existe quatre effets antimicrobiens des associations d'huiles essentielles, ainsi pour les antibiotiques :

- Indifférent : (A+B) = Effet A ou Effet B.
- Addition : (A+B) = Effet A + Effet B.
- Synergie : (A +B) > Effet A + Effet B.
- Antagonisme : (A +B) < Effet A ou Effet B.

6.2.2. Étude de l'association «huile essentielle/nisine» par la méthode de micro dilution en milieu liquide.

La méthode de micro dilution modifiée a été utilisée pour déterminer le potentiel de synergie des associations HE/NIS à différentes concentrations suivant la même procédure utilisée pour évaluer la CMI **(Samet & Aouad, 2023).** La dilution de l'HE est effectuée dans le sens horizontal et l'ajout des différentes concentrations d'antibiotiques est fait verticalement avec une gamme de concentration allant de **100** à **0.195 µL/mL**, une série de combinaisons de concentration différente en HE/NIS sera obtenue **(Figure 23).** L'HE et la nisine sont également testés séparément sur la même microplaque pour la comparaison (témoin positif). Par la suite, la microplaque est inoculée avec une suspension bactérienne de telle façon à obtenir une charge finale qui est de 5 x10^5 UFC/ mL, puis incubée à 37°C pendant 24 h. La révélation de culture positives est réalisée pour l'ajout de l'indicateur coloré la résazurine. La mesure de l'effet association HE/NIS a été obtenue en calculant l'Indice de Concentration

Inhibitrice Fractionnaire (FICI : Fractional Inhibitory Concentration Index) selon la formule ci-dessous.

$$FIC = \frac{\text{CMI de la nisine en combinaisom}}{\text{CMI de la nisine seule}} + \frac{\text{CMI de l`HE en combinaisom}}{\text{CMI de l`HE seule}}$$

La combinaison des deux composés est considérée selon **Turgis et *al.*, (2012)** comme :

FICI ≤ 0,5 : association synergique

0,5 < FICI < 1 : association additif

1 <FICI<4 : absence d'association

FICI >4 : association antagoniste

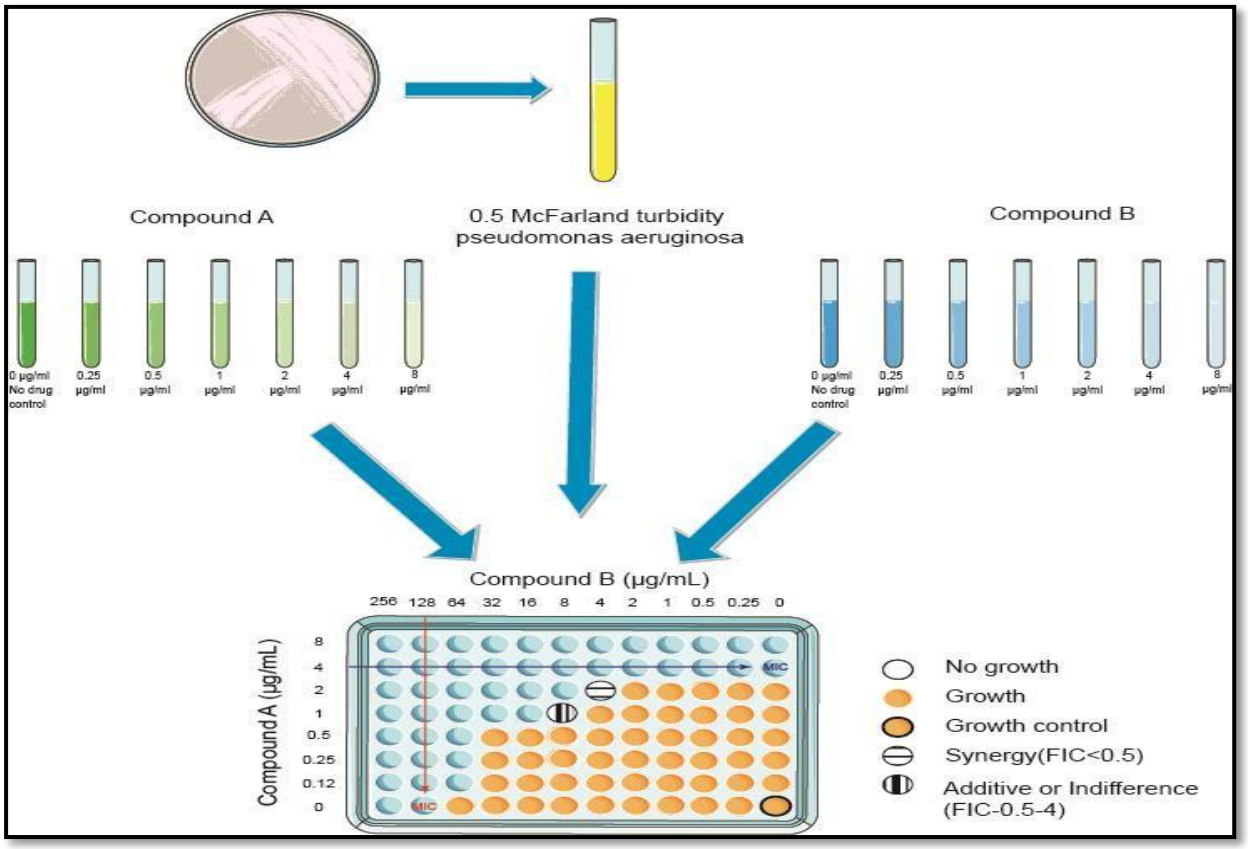


Figure 24 : Schéma de microplaque utilisée dans la détermination des CMI de la combinaison de l'huile essentielle et la nisine vis-à-vis d`une souche indicatrice.

Résultats et discussion

1. Caractéristiques physico-chimiques des fromages frais

Les résultats de l'analyse physico-chimique des fromages frais fabriqués in vitro traités ou non avec l'huile essentielle de *Mentha piperita* sont résumés dans le **Tableau 7** et **Anexe C**. Les paramètres évalués comprennent le pH, L'acidité titrable, le lactose, l'extrait sec total, la matière grasse, le rapport matière grasse/matière sèche, les protéines, le rendement fromager et la salinité.

1.1 pH

Concernant le pH, les échantillons de fromage frais à caillé lactique fabriqués se caractérisent par un pH acide. Les résultats ont indiqué que les lots témoins présentaient des valeurs de 4,73 ± 0,27 pour E1 témoin, 4,53 ± 0,39 pour E2 témoin et 4,5 ± 0,26 pour E3 témoin. Quant aux échantillons traités avec de l'huile essentielle (HE), la valeur enregistrée est de 4,9 ± 0,00 pour le lot E1 + HE (1 %), tandis que les lots E2 + HE (2 %) et E3 + HE (3 %) ont affiché respectivement des valeurs de 4,31 ± 0,18 et 4,59 ± 0,33. En comparaison avec d'autres études sur le même type de fromage, nos résultats se rapprochent des résultats rapportés par **Aissaoui (2019)** pour un fromage incorporé d'huiles essentielles de thym et de romarin, où un pH faible de 4,2 en moyenne a été enregistré. Cependant, nos résultats diffèrent de ceux obtenus par **Mahmoudi (2024)** pour un fromage fabriqué à base de lait de vache cru et d'ail, qui a affiché une valeur de pH supérieure à 6,20. Par rapport aux études antérieures portant sur le Jben, les valeurs de pH obtenues dans notre étude se révèlent inférieures à celles rapportées par **Helaimia et Zairi (2025)** pour le Jben *Elgafs* élaboré en laboratoire, dont le pH était de 6,13. De même, nos résultats montrent une acidité plus marquée comparativement aux données rapportées par **Tabet (2024)** pour un fromage Jben fabriqué à partir de présure animale, avec un pH de 5,40 ± 0,005. En revanche, les valeurs enregistrées dans notre étude sont dans l'intervalle rapporté par **Bounaama (2024)**, qui a constaté des valeurs de pH variant entre 4,10 et 4,92 pour le Jben traditionnel. La variation du pH observée peut être liée à plusieurs facteurs, notamment à la flore microbienne naturellement présente dans le lait cru **(Helaimia et Zairi, 2025)**. Elle pourrait également être influencée par l'ajout de ferments lactiques mésophiles ainsi que de présure bactérienne au cours de l'étape de coagulation, favorisant la production d'acide lactique et, par conséquent, l'abaissement du pH du fromage **(Kerdougheli et Abdessemed, 2022)**.

Tableau 07 : Résultats d'analyse physicochimique des fromages frais

Echantillons	RF	MS (%)	MG (%)	pH	Acidité titrable (°D)	Salinité	MG/MP	MP (%)	Taux de lactose (%)
E1 témoin	**16,1 ± 1,75**	**38,98 ± 11,175**	**19 ± 6**	**4,73 ± 0,27**	**17 ,9 ± 1,3**	**2,08 ± 0,18**	**56,54 ± 0,36**	**12,5 ± 0.00**	**2,7 ± 0.50**
E1 + HE *(1%)*	**16,1 ± 1.71**	**43,63 ± 0.67**	**24,18 ± 2.02**	**4,9 ± 0.00**	**18,3 ± 0,7**	**2,62 ± 0.72**	**53,27 ± 1.70**	**13,1 ± 0.00**	**3,4 ± 0.50**
E2 témoin	**20,07 ± 1.03**	**34,15 ± 6.51**	**16,91 ± 4.69**	**4,53 ± 0.39**	**14 ± 2,9**	**3,175 ± 1.09**	**48,67 ± 4.45**	**12,23 ± 0.27**	**3,35 ± 0.15**
E2 + HE *(2%)*	**20,08 ± 1.03**	**29,03 ±2.25**	**12,88 ± 2.33**	**4,31 ± 0.18**	**14,7 ± 3,5**	**2,26 ± 0.12**	**43,99 ± 4.50**	**12,95 ± 0.15**	**3,95 ± 0.05**
E3 témoin	**28,82 ± 8.68**	**30,85 ± 6.25**	**16,15 ± 7.05**	**4,5 ± 0.26**	**16,6 ± 4,4**	**2,38 ± 0.07**	**43,84 ± 2.47**	**11,77 ± 2.38**	**4,16 ± 0.04**
E3 + HE *(3%)*	**28,82 ±6.14**	**32,515 ± 6.08**	**14,91 ± 5.14**	**4,59 ± 0.33**	**15,7 ± 4,7**	**2,32 ± 0.06**	**40,13 ± 0.39**	**11,77 ± 5.86**	**4,24 ± 0.26**

1.2 Rendement fromager

Les résultats obtenus, exprimés en pourcentage (%) du rendement fromager, montrent une augmentation progressive des valeurs entre les trois essais successifs. Le rendement le plus faible a été enregistré au niveau des lots E1 avec une valeur de 16,1 ± 1,75 %, tandis que le rendement le plus élevé a été observé pour les lots E3 avec 28,82 ± 8,68 %. Par ailleurs, les valeurs obtenues entre les lots témoins et les lots incorporés d'huile essentielle de *Mentha piperita* restent relativement proches au sein d'un même essai. Les rendements obtenus dans notre étude sont supérieurs à ceux rapportés par **Attari (2019)** pour un fromage élaboré à partir de lait de vache, où les valeurs variaient entre 10,5 et 11,7 %.

La variation du rendement fromager observée entre les différentes expériences pourrait être liée aux différences de composition du lait utilisé lors de chaque essai, notamment en protéines et en matière grasse. Plus précisément, la teneur en caséines favorise l'augmentation du rendement fromager obtenu **(Dahou *et al*., 2021)**. Par ailleurs, cette variabilité peut également être attribuée à la race de la vache et à la qualité du lait utilisé **(Amimour, 2019)**.

1.3 Lactose

Les résultats du taux de lactose, exprimés en pourcentage (%), montrent une nette variation entre les différents essais réalisés. La valeur la plus faible a été enregistrée pour l'échantillon E1 témoin présentant un taux de 2,7 ± 0,50 %, tandis que la valeur la plus élevée a été observée dans l'échantillon E3 + HE (3%) avec un taux de 4,24 ± 0,26 %. Les autres échantillons affichent des valeurs intermédiaires allant de 3,35 % à 4,16 %. Ces résultats indiquent une différence du taux de lactose entre les formulations étudiées. En confrontant nos résultats aux exigences réglementaires, il s'avère que l'ensemble des formulations étudiées sont conformes aux normes algériennes de qualité. En effet, les teneurs obtenues respectent le seuil fixé par le **JORA N° 37 du 31 mai 2022**, qui stipule que la teneur maximale en lactose ne doit pas dépasser 5 % dans le produit fini. Par ailleurs, les taux de lactose de notre produit sont nettement inférieurs à ceux rapportés par **Bounaama (2024)**, qui a enregistré des valeurs plus élevées oscillant entre 6,42 % et 8,38 %.

Selon **Macedo et Malcata (1997)**, la diminution de la teneur en lactose dans le fromage frais s'explique par son utilisation comme substrat énergétique par les bactéries lactiques, qui le transforment en acide lactique au cours de la fermentation, ce qui entraîne une réduction progressive de sa concentration dans le fromage.

1.4 Matière sèche

D'après les résultats obtenus, nous avons constatés une variabilité remarquable de la teneur en matière sèche entre les différents essais réalisés. La valeur la plus faible est enregistrée au niveau de l'échantillon présentant un taux de 29,03 ± 2,25 %, alors que la valeur la plus élevée est observée dans l'échantillon ayant un taux de 43,63 ± 0,67 %. Les autres formulations affichent des valeurs intermédiaires se situant entre 30,85 % et 38,98 %. Toutefois, la comparaison des résultats obtenus aux normes réglementaires, il s'avère que toutes nos formulations sont largement conformes aux exigences du **JORA N° 37 du 31 mai 2022**. En effet, le journal fixe la teneur minimale en matière sèche pour le fromage blanc et le fromage frais à 10 g pour 100 g de fromage (soit 10 %). Les valeurs obtenues dans notre étude (allant de 29,03 % à 43,63 %) dépassent nettement ce seuil minimal, ce qui témoigne d'une bonne qualité technologique et d'un égouttage satisfaisant de notre produit. En effet, les taux de matière sèche enregistrés dans notre étude se révèlent supérieurs à ceux rapportés par **Bardache et Bachiri (2019)** sur un fromage frais à base de *Thymus vulgaris*, qui étaient de 26,31 % pour le fromage frais et 27,126 % pour le fromage enrichi.

Dans le fromage frais, la matière sèche est relativement faible en raison de la forte teneur en eau et de l'absence d'affinage. Elle dépend principalement des conditions de fabrication, notamment le degré d'égouttage du caillé et le mode de coagulation. Un égouttage insuffisant entraîne une diminution de la matière sèche, ce qui donne un fromage plus mou et plus humide, tandis qu'un égouttage plus poussé augmente sa fermeté. Ainsi, la matière sèche est un paramètre technologique essentiel pour évaluer la qualité, la texture et le rendement du fromage frais **(Fox et *al*., 2017)**.

1.5 Matière grasse

L'examen des données obtenues révèle des variations de la teneur en lipides entre les essais réalisés. La valeur la plus faible est enregistrée pour l'échantillon E2 + HE (2 %) avec un taux de 12,88 ± 2,33 %, tandis que la valeur la plus élevée est attribuée à l'échantillon E1 + HE (1 %), atteignant un taux de 24,18 ± 2,02 %. Les autres échantillons affichent des valeurs intermédiaires se situant entre ces deux extrêmes. En effet, selon les directives du **CODEX STAN 283-1978**, les formulations ayant un taux de MGES se situant entre 10 % et 25 % répondent à la dénomination de fromage "partiellement écrémé", tandis que l'échantillon présentant la valeur maximale (24,18 ± 2,02 %) tend vers la catégorie "mi-gras ou demi-écrémé" (seuil compris entre 25 % et 45 %). Cette conformité par rapport au référentiel international démontre que les formulations élaborées respectent les standards technologiques et commerciaux globaux en matière de composition lipidique.

Dans une étude réalisée par **Bardache et Bachiri (2019)** sur un fromage frais à base de *Thymus vulgaris*, des taux de matière grasse inférieurs ont été rapportés, soit respectivement 8 % pour le fromage frais et 7 % pour le fromage enrichi.

Dans le fromage frais, la matière grasse correspond aux lipides du lait, principalement sous forme de triglycérides présents dans les globules gras. Lors de la coagulation par la présure ou par les bactéries lactiques, ces globules sont retenus dans le réseau de caséine du caillé. Comme le fromage frais n'est pas affiné, la matière grasse reste peu transformée et sa teneur demeure proche de celle du lait d'origine, sans concentration due à la maturation. Elle contribue à la texture crémeuse, aux propriétés organoleptiques et à la valeur énergétique du produit **(Fox et McSweeney, 2015)**.

1.7 Protéines totales

Les résultats de l'analyse de taux de matière protéique (MP %) des différents échantillons étudiés révèlent une homogénéité relative dans les teneurs en protéines entre les différents essais. La valeur la plus faible est enregistrée au niveau des échantillons E3 témoin (11,77 ± 2,38 %) et E3 + HE (3 %) (11,775 ± 5,86 %), tandis que la valeur la plus élevée est observée pour l'échantillon E1 + HE (1 %) avec un taux de 13,1 ± 0,00 % Les autres formulations affichent des valeurs intermédiaires très rapprochées se situant entre 12,23 % et 12,95 % En comparant nos résultats aux données de la littérature, nous constatons qu'ils sont inférieurs à ceux rapportés par **Islam *et al.* (2021)** pour le fromage frais, qui ont enregistré des valeurs 19,58 ± 0,95 % et 19,39 ± 0,76 % respectivement pour les coagulations par présure microbienne et acide lactique respectivement.

En revanche, nos résultats concordent parfaitement avec la valeur de 12,186 % rapportée par **Soumatia et Khellaf (2020)** pour un fromage frais traditionnel (Jben) coagulé par la présure animale hakka. Cette forte similitude confirme que l'incorporation des huiles essentielles à différentes concentrations n'a pas altéré la valeur nutritionnelle ni le profil protéique typique de ce fromage frais.

Les variations de teneur en protéines entre les fromages peuvent s'expliquer par le type de lait, l'origine des agents de coagulation et les méthodes de production **(Kose *et al.*, 2021 ; Uzun *et al.*, 2020)**.

1.8 Matière grasse/matière sèche (G/S)

Les résultats de la détermination du rapport matière grasse sur extrait sec (MG/ES %) font ressortir une diminution progressive des valeurs, mettant en évidence l'influence potentielle de l'incorporation des huiles essentielles sur la réduction de ce rapport à travers les différents lots étudiés. Les teneurs s'étendent d'un maximum de 56,54 ± 0,36 % (E1 témoin) jusqu'à un minimum de 40,13 ± 0,39 % enregistré chez l'échantillon E3 + HE (3 %). Selon les directives de la norme **Codex Stan 221-2001**, ces données classent nos échantillons dans deux catégories distinctes : les lots E1 (témoin et 1 %) et E2 témoin répondent aux critères de la catégorie "Gras" (taux égal ou supérieur à 45 % et inférieur à 60 %), tandis que les lots E2 + HE (2 %), E3 témoin et E3 + HE (3 %) s'intègrent dans la catégorie "Mi-gras" (taux égal ou supérieur à 25 % et inférieur à 45 %).

La comparaison de nos résultats avec ceux rapportés pour les fromages frais artisanaux Algériens, nos valeurs s'avèrent supérieures à celles du fromage Algafs (40,32 %) et s'approchent du profil lipidique du fromage traditionnel Alatig (45,25 %) rapporté par **Barache et Bouatmane (2016)**. De plus, bien que nos taux se situent globalement au-dessus de la moyenne de 24,58 % à 29,20 % rapportée par **Bounaama (2024)** pour le fromage J'ben, une partie de nos formulations (E2 + HE 2 %, E3 témoin et E3 + HE 3 %) rejoint parfaitement la même classification réglementaire de fromage frais mi-gras.

1.9 L'acidité titrable

Les résultats de la détermination de l'acidité titrable révèlent des valeurs comprises entre 14,0 ± 2,9°D (E2 témoin) et 18,3 ± 0,7°D (E1 + HE 1 %). L'analyse montre une forte homogénéité entre les témoins et les essais incorporés en huile essentielle au sein d'un même lot. Le premier lot (**E1**) enregistre les acidités les plus élevées (17,9° et 18,3°D), suivi du troisième lot (**E3**) (16,6 °et 15,7°D), tandis que les valeurs les plus faibles sont marquées chez le deuxième lot (**E2**) avec 14,0° et 14,7 °D.

Confrontées aux travaux sur le fromage frais traditionnel J'ben, nos valeurs s'avèrent similaires aux données de **Moghtit (2023)** (moyennes entre 15,73° et 17,22 °D), mais restent nettement inférieures aux valeurs comprises entre 24° et 33°D rapportées par **Menassel (2019)**. De même, les taux d'acidité se révèlent inférieurs à la valeur de 26°D obtenue par **Abdous et Benallou (2024)** pour un fromage frais fabriquée à partir du lait de chèvre.

L’acidité titrable des produits laitiers est un indicateur direct du développement de la fermentation lactique, résultant de la transformation du lactose en acide lactique par les

bactéries lactiques. Cette acidité augmente progressivement au cours de la fabrication et du stockage des fromages, notamment dans les fromages frais, où l'activité microbienne reste active en raison de la forte teneur en eau et de l'absence d'affinage prolongé **(Salah *et al*., 2017)**.

1.9 Salinité

D'après les valeurs obtenues, la salinité enregistre une variation allant d'un minimum de 2,08 % jusqu'à un maximum de 3,175 %. Cette fluctuation des taux de sel peut être attribuée principalement au mode de salage traditionnel qui reste souvent artisanal et non standardisé lors de la préparation du Jben.

Le sel agit principalement en réduisant l'activité de l'eau, ce qui limite le développement des microorganismes indésirables et ralentit certaines activités enzymatiques. Dans le fromage frais, où la teneur en eau est élevée, une salinité faible à modérée est appliquée afin de préserver une texture douce, tout en assurant une stabilité microbiologique suffisante **(Law et Tamime, 2010).**

2. Analyses microbiologiques

Les résultats du dénombrement des principales flores microbiennes des fromages frais préparés sans et avec HEMP sont présentés dans le tableau ci-dessous et exprimés en UFC/g .

Tableau 08 : Résultats d'analyse microbiologique du fromage frais

Échantillon	Bactéries lactiques (UFC/g)	*Staphylococcus aureus* (UFC/g)	Levures et moisissures (UFC/g)	Coliformes totaux (UFC/g)	Coliformes fécaux (UFC/g)	Clostridium sulfito-réducteurs (UFC/g)	*Salmonella*
E1 témoin	$1{,}3 \times 10^8$	$1{,}2 \times 10^4$	$7{,}55 \times 10^6$	$2{,}42 \times 10^5$	$3{,}85 \times 10^5$	10^4	Absence
E1+ HE (1%)	$1{,}67 \times 10^8$	3×10^4	$1{,}06 \times 10^6$	$2{,}74 \times 10^5$	$3{,}77 \times 10^5$	10^4	Absence
E2 témoin	3×10^8	$1{,}4 \times 10^4$	$4{,}1 \times 10^5$	$1{,}25 \times 10^4$	$1{,}4 \times 10^5$	$< 10^3$	Absence
E2+ HE (2%)	$3{,}65 \times 10^7$	2×10^4	$4{,}28 \times 10^4$	$1{,}03 \times 10^4$	$1{,}05 \times 10^5$	$< 10^2$	Absence
E3 témoin	$1{,}27 \times 10^9$	3×10^4	$2{,}31 \times 10^5$	$3{,}5 \times 10^6$	$7{,}5 \times 10^6$	$< 10^2$	Absence
E3+ HE (3%)	$1{,}6 \times 10^9$	3×10^4	$2{,}46 \times 10^4$	$1{,}40 \times 10^6$	$3{,}35 \times 10^6$	$< 10^2$	Absence

2.1 *Salmonella*

L'examen des résultats révèle une absence totale de *Salmonella* dans l'ensemble des lots étudiés, englobant aussi bien les échantillons témoins et les fromages traités par l'huile essentielle. En effet, cette absence de germes pathogènes répond aux exigences de la réglementation algérienne, notamment le **Journal Officiel N° 35 du 27 mai 1998**, ainsi qu'aux critères de la **Commission Européenne (2005)** qui stipulent l'absence stricte du pathogène *Salmonella* spp. dans 25 g de produit, qualifiant ainsi l'ensemble de nos formulations de conforme. Des résultats similaires ont été obtenus par de nombreux chercheurs sur le fromage type Jben **(Lahrech *et al*., 2018 ; Benhaddi et Hellal, 2019 ; Boumediene *et al*., 2024).**

2.2 *Clostridium* sulfito-réducteurs

L'analyse microbiologique de fromages préparés, a montré la présence des **Clostridium** sulfito-réducteurs dans tous les échantillons analysés. Cependant, **une** diminution de la charge globale en *Clostridium* sulfito-réducteurs est constatée pour les lots (E2 témoin et E3+ HE (3%)) de l'ensemble des lots, atteignant des valeurs inférieures à 10^2 UFC/g. Bien que nos résultats montrent une réduction notable, ils restent supérieurs aux normes de satisfaction exigées par le **J.O.R.A. (1998)**, qui fixent le seuil limite à m < 1 UFC/g. En comparaison avec les données de la littérature, ces résultats se distinguent de ceux obtenus par **Boudjaadar (2015)** pour le jben élaboré à partir de lait de vache, par **Benattous et Bettayeb (2019)** pour le jben à base de lait de chèvre, ainsi que par **Mennane *et al.*, (2007)** pour le jben marocain, qui ont tous rapporté une absence totale de ce germe dans leurs produits.

Plusieurs études ont rapportées que les clostridiums peuvent survivre dans l'environnement et contaminer tout type d'aliment ou de matériel si les conditions d'hygiène et de stérilisation ne sont pas respectées **(Lebres, 2002)**. Selon **Mourgues *et al*. (1983)**, cette flore contamine le lait à la ferme lorsque les installations et les équipements sont insuffisamment nettoyés ou désinfectés.

2.3 Flore lactique

Le dénombrement de la flore lactique est marqué par une charge importante dans les différents échantillons analysés. Ces micro-organismes maintiennent une population élevée dans l'ensemble des lots au cours de l'étude, oscillant entre $3{,}65 \times 10^7$ UFC/g et $1{,}60 \times 10^9$ UFC/g. Ces résultats s'avèrent supérieurs à ceux rapportés par **Menassel (2019)**, qui a enregistré une charge moyenne de $2{,}14 \times 10^6$ UFC/g pour du jben élaboré à partir de lait cru de vache. En revanche, nos valeurs concordent avec les données de la littérature obtenues pour le jben marocain par **Benkirane *et al.*, (2022)** (avec des taux allant de 10^8 à 10^9 UFC/g).

La variation du nombre de bactéries lactiques entre les différentes variétés de fromage s'explique par plusieurs facteurs : le type de lait utilisé, son traitement (cru ou pasteurisé), le type et l'origine du coagulant, le type de fromage souhaité (frais ou affiné), les conditions de stockage (une température ambiante peut accroître la perte d'humidité, modifier le rapport humidité/sel et ainsi inhiber les bactéries lactiques), ainsi que les souches de BL ajoutées comme ferments **(Tabet, 2024)**.

2.4 Levures et moisissures

Le dénombrement des levures et moisissures révèle une charge fongique plus élevée au niveau des lots témoins par rapport aux lots traités. Pour les fromages témoins, les charges enregistrées sont de $7,55 \times 10^6$ UFC/g, $4,10 \times 10^5$ UFC/g et $2,31 \times 10^5$ UFC/g respectivement. Par contre, pour les fromages traités à (1 %), (2 %) et (3 %), les valeurs affichées sont de $1,05 \times 10^6$ UFC/g, $4,28 \times 10^4$ UFC/g et $2,46 \times 10^4$ UFC/g respectivement. Dans une étude récente **Moghtit (2023)** a constaté que l'ajout d'extrait de *Foeniculum vulgare* n'a pas d`effet inhibiteur sur la multiplication fongique, maintenant un taux moyen stable de $2,20 \times 10^4$ UFC/g. Concernant les études menées sur le même type de fromage traditionnel (*Jben Elgafs*), les charges affichées par nos lots témoins s'avèrent supérieures à celles rapportées par **Habila et Garroudj (2023)** ($1,00 \times 10^5$ UFC/g) et par **Saidane *et al.*, (2021)** ($6,76 \times 10^3$ UFC/g). En revanche, les valeurs de nos lots traités à (2 %) et (3 %) etaient inférieures au seuil de contamination fongique mis en évidence par **Habila et Garroudj (2023)**.

La flore fongique joue un rôle important dans la protéolyse, la lipolyse et la désacidification de la masse fromagère **(Saoudi, 2012)**. La présence de levures et de moisissures (LM) est fréquente dans les fromages frais, où elles comptent parmi les micro-organismes les plus abondants. La fermentation à température ambiante favorise leur développement. De plus, ces micro-organismes se développent à un pH inférieur à celui du fromage frais **(Tabet, 2024)**. Les levures, à l'exception de *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*, ne présentent généralement pas de risque sanitaire, mais peuvent altérer les qualités organoleptiques du produit en générant des troubles, des odeurs ou des goûts anormaux, ainsi que du CO_2. En revanche, certaines moisissures peuvent être pathogènes et, pour la plupart, toxinogènes, produisant des toxines dans le produit alimentaire **(El Marnissi *et al.*, 2013)**.

2.5 Coliformes totaux

Les analyses microbiologiques révèlent la présence des coliformes totaux dans tous les fromages, où la charge a atteint une valeur maximale de $3,5 \times 10^6$ UFC/g chez l'échantillon

témoin du lot 3. Cette valeur maximale enregistrée dans notre étude est supérieure à celles rapportées par **Manassel (2019)** (2,5 × 10^2 UFC/g) et **Boumediene *et al*., (2024)** (7,41 × 10^3 UFC/g), ainsi qu'à la charge de 3,5 × 10^2 UFC/g signalée dans le fromage fabriqué avec un ferment industriel **(Bendimerad *et al*., 2024)**. De plus, ce taux de contamination dépasse largement le seuil réglementaire fixé par le **Journal Officiel de la République Algérienne (1998)**, qui exige une limite de 10 UFC/g pour les coliformes dans les fromages frais.

La présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier **(Khemis et Bachi., 2016)**.

Selon **Magnusson *et al*. (2007)**, les litières fortement souillées présentent une concentration plus élevée de coliformes, ce qui accroît la prévalence des mammites et le risque de contamination du lait. D'autres sources de contamination incluent de mauvaises conditions de transport et un manque d'hygiène lors de la traite.

2.6 Coliformes fécaux

Les examens microbiologiques mettent en évidence la présence des coliformes fécaux dans l'ensemble des fromages, où la charge fluctue dans un intervalle allant de 1,1 × 10^5 UFC/g jusqu'à la valeur la plus élevée de 7,5 × 10^6 UFC/g, dépassant largement le seuil réglementaire fixé par le **Journal Officiel de la République Algérienne (1998)** qui exige une limite stricte de 1 UFC/g pour les coliformes fécaux dans les fromages frais. Ces taux de contamination se révèlent également supérieurs aux charges rapportées pour le fromage traditionnel "jben", qu'il soit fabriqué avec un ferment industriel (1,4 × 10^2 UFC/g) **(Bendimerad *et al*., 2024)**, selon la méthode traditionnelle (6 × 10^2 UFC/g) **(Boumediene *et al*., 2024) ,** et aussi pour le fromage jben marocain (1,0 × 10^3 UFC/g) **(Rhiat *et al.*, 2011)**.

La recherche de coliformes fécaux constitue un indicateur de contamination d'origine fécale et permet d'évaluer l'état hygiénique d'un produit. Même à de faibles concentrations, leur présence indique des conditions d'hygiène dégradées lors de la traite ou du transport **(Labioui *et al*., 2009)**.

2.7 *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement microbiologique révèle la présence de *Staphylococcus aureus* dans l'ensemble des fromages, où la charge bactérienne fluctue dans un intervalle étroit allant de 1,2 ×10^4 UFC/g jusqu'à une valeur maximale de 3,0 × 10^4 UFC/g, dépassant ainsi le seuil maximal

admissible (10^4 UFC/g) fixé par le **Journal Officiel de la République Algérienne (2017)** pour les staphylocoques à coagulase positive dans les fromages au lait cru. De même, ces valeurs se révèlent supérieures à la charge enregistrée pour le fromage Algafs ($2,3\times 10^3$ UFC/g) et rejoignent, voire dépassent, celle du fromage Alatig ($1,5 \times 10^4$ UFC/g) **(Barache et Bouatmane ., 2016)**. Par contre, une absence totale des staphylocoques a été enregistrée durant toute la période du contrôle des trois fromages par **Hadef (2012)** dans la fabrication d'un fromage frais, toutefois la même constatation a été enregistrée par **Mennane *et al*, (2007)**, pour les fromages traditionnels la Klila et le Jben.

Le nombre des staphylocoques à coagulase positive qui incluent *Staphylococcus aureus* est considéré comme un marqueur d'hygiène **(Commission Européenne, 2005).** Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait. D'autres sources de contaminations sont également à considérer, telles que la machine à traire, elle peut en effet infecter 6 vaches qui suivent la traite d'une vache infectée, et enfin l'homme **(Thieulon, 2005).** Cette dernière contamination s'explique par les mauvaises conditions d'hygiène. En plus, c'est une indication de mauvaise manipulation pendant la fabrication et au niveau des points de vente, et elle est plus fréquente pendant la saison estivale. **Bouaziz (2005)** a montré que le nettoyage incomplet de la machine à traire permet la survie des agents pathogènes dans les gobelets trayeurs qui contamineraient le trayon en début de traite.

3. Résultat de test sensoriel du fromage frais

Les résultats de l'analyse sensorielle des fromages frais fabriqués in vitro traités ou non avec l'huile essentielle de *Mentha piperita* sont regroupés dans les **Tableaux (Annexe E)** et les **Figures (25,26 et 27)**. Les critères évalués comprennent la couleur, l'odeur, la texture collante, l'aspect grumeleux, l'aspect homogène, l'acidité, la salinité et l'arrière-goût.

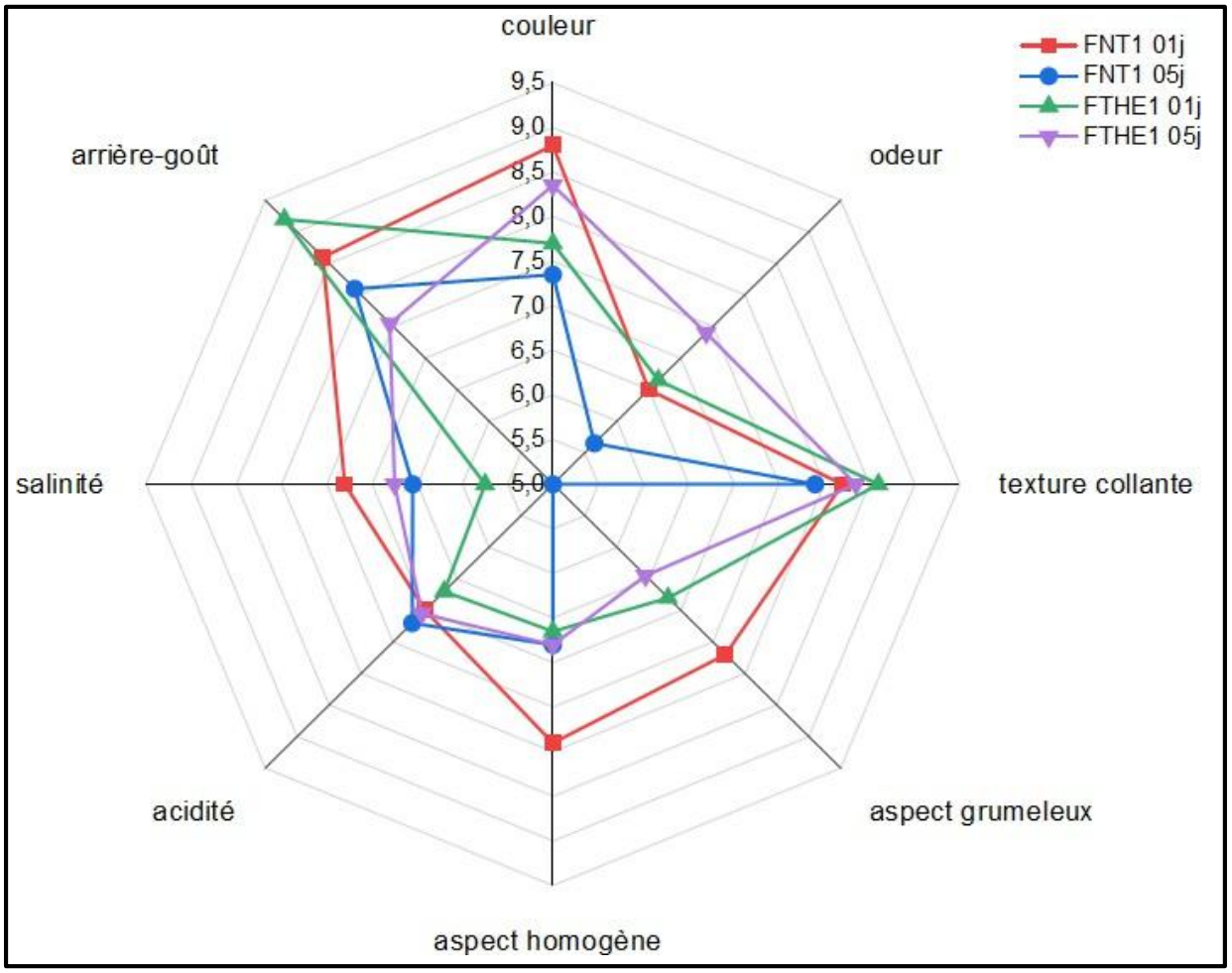


Figure 25 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 1% de l'huile essentielle de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).

FNT1 01j : fromage non traité après 01 jour de conservation,

FNT1 05j : fromage non traité après 05 jours de conservation

FTHE1 1j : fromage traité avec 1% d'HE après 01 jour de conservation

FTHE1 05j : fromage traité avec 1% d'HE après 05 jours de conservation

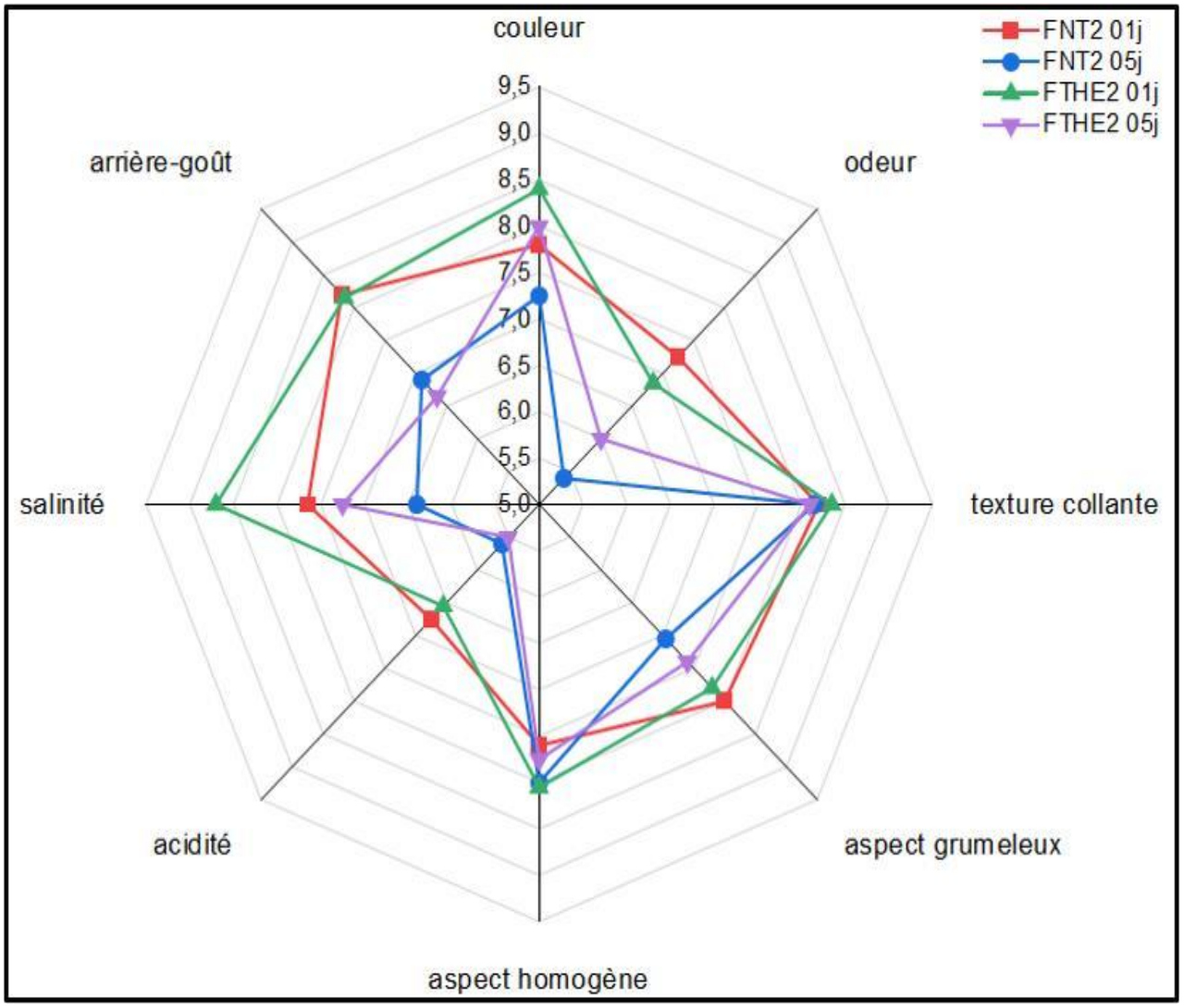


Figure 26 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 2% de l`huile essentielle de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).

FNT2 01j : fromage non traité après 01 jour de conservation

FNT2 05j : fromage non traité après 5 jours de conservation

FTHE2 01j : fromage traité avec 2% d'HE après 01 jour de conservation

FTHE2 05j : fromage traité avec 2% d'HE après 05 jours de conservation

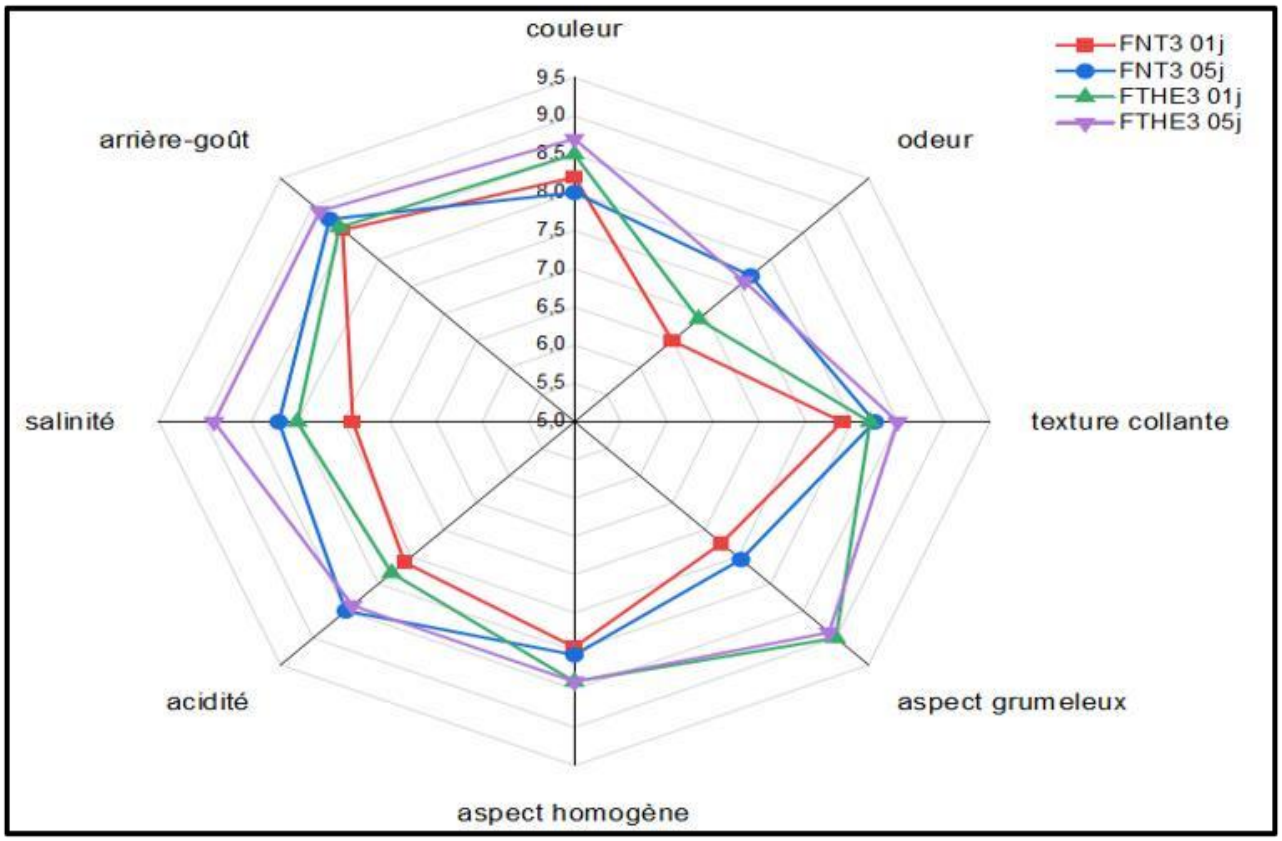


Figure 27 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 3% de l'huile essentielle de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).

FNT3 01j : fromage non traité après 01 jour de conservation

FNT3 05j : fromage non traité après 5 jours de conservation

FTHE3 01j : fromage traité avec 3% d'HE après 01 jour de conservation

FTHE3 05j : fromage traité avec 3% d'HE après 05 jours de conservation

3.1. Couleur

Pour le paramètre couleur, l'évolution entre le 1er et le 5ème jour montre des résultats disparates selon les lots. Au sein du lot à 1%, l'échantillon traité FTHE1 présente une amélioration (7,7 à 8,35) par rapport à son témoin FNT1 (8,8 à 7,35). En revanche, pour le lot à 2%, une tendance à la baisse est observée tant pour le témoin FNT2 (7,8 à 7,25) que pour l'échantillon traité FTHE2 (8,4 à 8). Comparativement aux autres lots, le lot à 3% se distingue par une stabilité supérieure, notamment pour l'échantillon FTHE3 qui affiche la valeur la plus élevée (8,7 au 5ème jour). Cette comparaison démontre que la concentration à 3% est plus efficace pour préserver les caractéristiques chromatiques que les lots à 1% et 2%. Pour comparer nos résultats avec la littérature concernant la couleur, **Moghtit (2024)** indique que

l'incorporation de l'extrait hydroéthanolique de *Foeniculum vulgare* modifie l'aspect visuel du produit, où le lot témoin (0 %) présente une meilleure couleur par rapport aux lots traités (1 %, 2 % et 3 %). un autre côté, **Ammar et Chouddani (2020)** ont mis en évidence que le fromage frais se caractérise par une couleur crème 100 % claire.

3.2. Odeur

L'évolution de l'odeur entre le 1er et le 5ème jour révèle des dynamiques contrastées selon les lots. Dans le lot à 1%, l'échantillon traité (FTHE1) montre une amélioration de sa note olfactive, passant de 6,65 au 1er jour à 7,4 au 5ème jour, tandis que son témoin (FNT1) subit une dégradation de 6,5 à 5,65. Pour le lot à 2%, une tendance à la baisse est observée tant pour le témoin (FNT2), passant de 7,25 à 5,4, que pour l'échantillon traité (FTHE2), passant de 6,85 à 6. Contrairement aux autres lots, le lot à 3% se distingue par une stabilité et une amélioration remarquable : l'échantillon témoin (FNT3) passe de 6,5 à 7,7, et l'échantillon traité (FTHE3) passe de 6,9 à 7,6 au 5ème jour. En comparaison, le lot à 3% démontre une efficacité supérieure dans le maintien des caractéristiques olfactives après 5 jours de conservation par rapport aux lots à 1% et 2%. En ce qui concerne l'évaluation de l'odeur dans la littérature, **Hammaoui et Moulai (2023)** ont étudié la formulation de fromage à base de lait de chèvre par l'incorporation des plantes aromatiques. Leurs résultats ont révélé que le lot enrichi en *Nigella sativa* présente le taux d'appréciation le plus élevé (63,3 %), surpassant le lot témoin (60 %) et le lot traité par *Rosmarinus officinalis* (60 %).

3.3. Texture collante

Les résultats de la texture collante révèlent des variations significatives selon les concentrations étudiées au cours de la conservation. Le lot à 1% présente une légère régression, avec des valeurs passant de 8,6 à 8,35 pour le FTHE1 et de 8,2 à 7,9 pour le FNT1. Le lot à 2%, quant à lui, affiche une stabilité relative, le FNT2 passant de 8,2 à 8,15 et le FTHE2 de 8,35 à 8,1. En revanche, le lot à 3% se distingue par une amélioration marquée des propriétés texturales en fin de période de stockage, où le FNT3 progresse de 7,9 à 8,25 et le FTHE3 de 8,2 à 8,5. En comparaison avec nos résultats, alors que l'évaluation de la texture collante de notre fromage frais montre une amélioration marquée en fin de stockage pour le lot à 3 %, les travaux **d'Adda *et al*. (2024)** sur un fromage à pâte molle à base de lactosérum doux indiquent que le produit fini est caractérisé par une texture principalement lisse. Cette confrontation montre que l'incorporation de notre huile essentielle à dose optimale (3 %) permet de perfectionner les

propriétés rhéologiques de la matrice, complétant ainsi l'objectif d'homogénéité texturale décrit par ces auteurs.

3.4. Aspect grumeleux

Concernant l'aspect grumeleux, le lot témoin FNT1 a présenté une diminution importante de la note sensorielle au cours de la conservation, passant de 7,7 au premier jour à 4,7 après 5 jours de stockage, ce qui traduit une altération progressive de la structure du fromage. En comparant ce résultat aux autres lots témoins, il apparaît que cette diminution est la plus marquée dans le lot 1, tandis que les lots FNT2 et FNT3 ont conservé des notes plus élevées après 5 jours (7,05 et 7,55 respectivement). Par ailleurs, les lots traités par l'huile essentielle de *Mentha piperita* ont montré une meilleure stabilité de ce paramètre, avec des valeurs de 6,45 pour FTHE1, 7,4 pour FTHE2 et 8,9 pour FTHE3 après 5 jours de conservation. La note la plus élevée a été enregistrée pour le lot FTHE3, indiquant une meilleure préservation de l'aspect grumeleux.

3.5 Aspect homogène

Pour l'aspect homogène, le lot témoin FNT1 a vu sa note sensorielle diminuer de 7,9 à 6,8 en 5 jours, indiquant une légère perte d'homogénéité pendant le stockage. À l'inverse, FNT2 et FNT3 ont montré une amélioration, leurs notes passant respectivement de 7,6 à 8,0 et de 7,95 à 8,05. Après 5 jours, les lots traités à l'huile essentielle de *Mentha piperita* ont obtenu des notes de 6,8 (FTHE1), 7,75 (FTHE2) et 8,4 (FTHE3). Le lot FTHE3 a présenté la meilleure homogénéité, suggérant que l'huile essentielle stabilise la matrice protéique et limite les modifications structurales. Pour comparer nos résultats avec la littérature concernant l'aspect homogène, nos constatations indiquent que le lot traité à 3% d'huile essentielle de *Mentha piperita* présente la meilleure homogénéité (8,4) après 5 jours de stockage. Ces résultats rejoignent parfaitement les conclusions de **Moghtit (2024)** sur le fromage, qui a mis en évidence que, globalement durant l'expérimentation, les fromages préparés à 0 % et 3 % d'extrait de *Foeniculum vulgare* ont présenté un meilleur aspect homogène par rapport à ceux établis à 1 % et 2 % d'extrait.

3.6 Acidité

L'évaluation sensorielle de l'acidité a révélé des variations selon la concentration de l'huile essentielle de *Mentha piperita* et la durée de conservation. Pour la concentration de 1 %, une légère augmentation des scores a été observée entre le premier et le cinquième jour, passant

de 7 à 7,2 pour le premier essai et de 6,7 à 7,05 pour la répétition, traduisant une bonne stabilité de ce paramètre au cours du stockage. Concernant la concentration de 2 %, une diminution des scores a été enregistrée aussi bien pour l'essai initial (de 6,75 à 5,6) que pour la répétition (de 6,55 à 5,5), indiquant une baisse de l'acceptabilité sensorielle de l'acidité après conservation. En revanche, la concentration de 3 % a présenté une évolution positive, avec une augmentation des notes de 7,6 à 8,5 pour le premier essai et de 7,8 à 8,4 pour la répétition. La similitude des résultats obtenus entre les essais et leurs répétitions témoigne d'une bonne reproductibilité des évaluations. Globalement, la concentration de 3 % a enregistré les scores les plus élevés, suggérant une meilleure appréciation de l'acidité et une meilleure préservation de l'équilibre gustatif du fromage durant la conservation. Pour comparer nos résultats avec la littérature concernant l'acidité sensorielle, **Moghtit (2024)** indique qu'au 1er, 10ème et 15ème jour de conservation, aucune différence d'acidité n'a été observée par les panélistes entre les différents lots de fromage enrichis en extrait de *Foeniculum vulgare*. Cependant, au 5ème jour de stockage, c'est le lot préparé à 2 % d'extrait qui a présenté une acidité mieux appréciée par rapport aux concentrations de 0 %, 1 % et 3 %. D'un autre côté, **Menidjel et Meddah (2022)** ont démontré que l'incorporation de plantes médicinales influence ce paramètre ; leurs résultats indiquent que le lot enrichi en menthe présente le score d'acidité le plus élevé (4,60 ± 0,48), suivi par le lot traité au thym (4,44 ± 0,49) par rapport au lot témoin (3,66 ±0,47), tandis que l'ajout de coriandre diminue significativement cette valeur (2,25± 0,43).

3.7 Salinité

Les résultats de la salinité du fromage frais montrent une évolution variable en fonction de la concentration de l'huile essentielle de *Mentha piperita* et de la durée de conservation (1 jour et 5 jours), ainsi qu'une bonne reproductibilité entre l'essai initial et sa répétition.

À 1 %, on observe une diminution de la salinité dans le fromage témoin entre 1 jour et 5 jours de 7,3 à 6,55, traduisant une légère perte de perception saline durant le stockage. En revanche, dans le fromage traité, une augmentation est enregistrée de 5,7 à 6, 75. Les résultats de la répétition montrent la même tendance (6,75 au 5e jour), ce qui confirme la stabilité et la fiabilité des observations.

À 2 %, une diminution de la salinité est également observée dans les deux conditions. Le témoin passe de 7,65 à 6,4, tandis que l'échantillon traité diminue de 8,7 à 7,25. Cette tendance peut être liée à une redistribution des composés salins dans la matrice du fromage au cours du

stockage. La répétition confirme cette évolution avec une variation similaire, ce qui renforce la cohérence des résultats.

À 3 %, les résultats montrent une tendance inverse, avec une augmentation de la salinité entre 1 jour et 5 jours. Le témoin passe de 7,4 à 8,2, et l'échantillon traité de 8,0 à 8,9. La répétition confirme également cette tendance ascendante, ce qui indique une bonne reproductibilité des résultats. Globalement, l'analyse met en évidence que la perception de la salinité est influencée à la fois par la concentration de l'huile essentielle et par la durée de stockage. Les résultats obtenus entre les essais initiaux et leurs répétitions présentent des tendances similaires, ce qui confirme la fiabilité des données expérimentales et la stabilité du comportement sensoriel du fromage frais traité. Par rapport aux données de la littérature, l'évaluation sensorielle du goût salé réalisée par **Messaour (2018)** sur un fromage fondu incorporé d'huile essentielle d'orange montre une diminution des taux d'appréciation chez les dégustateurs (10 % à 12 %) par rapport au lot témoin (18 %). Ces constatations divergent de nos résultats, où l'incorporation de l'huile essentielle de *Mentha piperita* a induit un effet inverse en maintenant ou en rehaussant la perception de la salinité dans le fromage frais.

3.8. Arrière-goût

L'arrière-goût a varié en fonction de la concentration d'huile essentielle de *Mentha piperita* et de la durée de conservation. Pour le lot témoin à 1 % (FNT1), la note a légèrement baissé de 8,6 à 8,1 après 5 jours, tandis que le lot traité (FTHE1) a connu une diminution plus marquée, de 9,2 à 7,55. Pour les lots à 2 %, les notes sont passées de 8,2 à 6,9 pour le témoin (FNT2) et de 8,15 à 6,65 pour le traité (FTHE2). À l'inverse, les lots à 3 % ont montré une amélioration, avec des notes passant de 8,55 à 8,75 pour le témoin (FNT3) et de 8,6 à 8,9 pour le traité (FTHE3). Après 5 jours, FTHE3 a obtenu le meilleur score (8,9), suivi de FNT3 (8,75), tandis que les lots à 2 % ont affiché les notes les plus faibles (FTHE2 = 6,65 ; FNT2 = 6,9). Ces résultats indiquent qu'une concentration de 3 % d'huile essentielle de menthe améliore la persistance de l'arrière-goût et contribue au maintien de la qualité sensorielle du fromage frais pendant la conservation.

En comparaison avec les données de la littérature, nos résultats sur l'arrière-goût à 3 % rejoignent les constatations de **Cherabi *et al*. (2022)** sur le fromage frais. En effet, l'évaluation de la saveur chez ces auteurs a montré une absence d'amertume plus élevée pour le lot enrichi en graine de lin (48 %) par rapport au lot témoin (44 %). Cela confirme que l'incorporation de l'huile essentielle de *Mentha piperita* à dose optimale (3 %), tout comme

l'ajout de la graine de lin, préserve la qualité organoleptique et évite l'apparition de défauts gustatifs dans le fromage frais.

4. Résultats de l'activité antimicrobienne

4.1. Résultats du test de l'effet antibactérien de la combinaison (huile essentielle + Nisine) à différentes concentrations sur les souches bactériennes testées :

Dans le but de déterminer le type de l'effet antibactérien (synergique, antagoniste, indifférent et additif) de l'huile essentielle de *Mentha piperita* + NISINE envers les trois souches bactériennes, différentes combinaisons sont réalisées. Cette activité est déterminée in vitro par la méthode de diffusion sur gélose en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques en (mm).

- **Effet de la combinaison HE-NIS sur *E. coli* ATCC 25422**

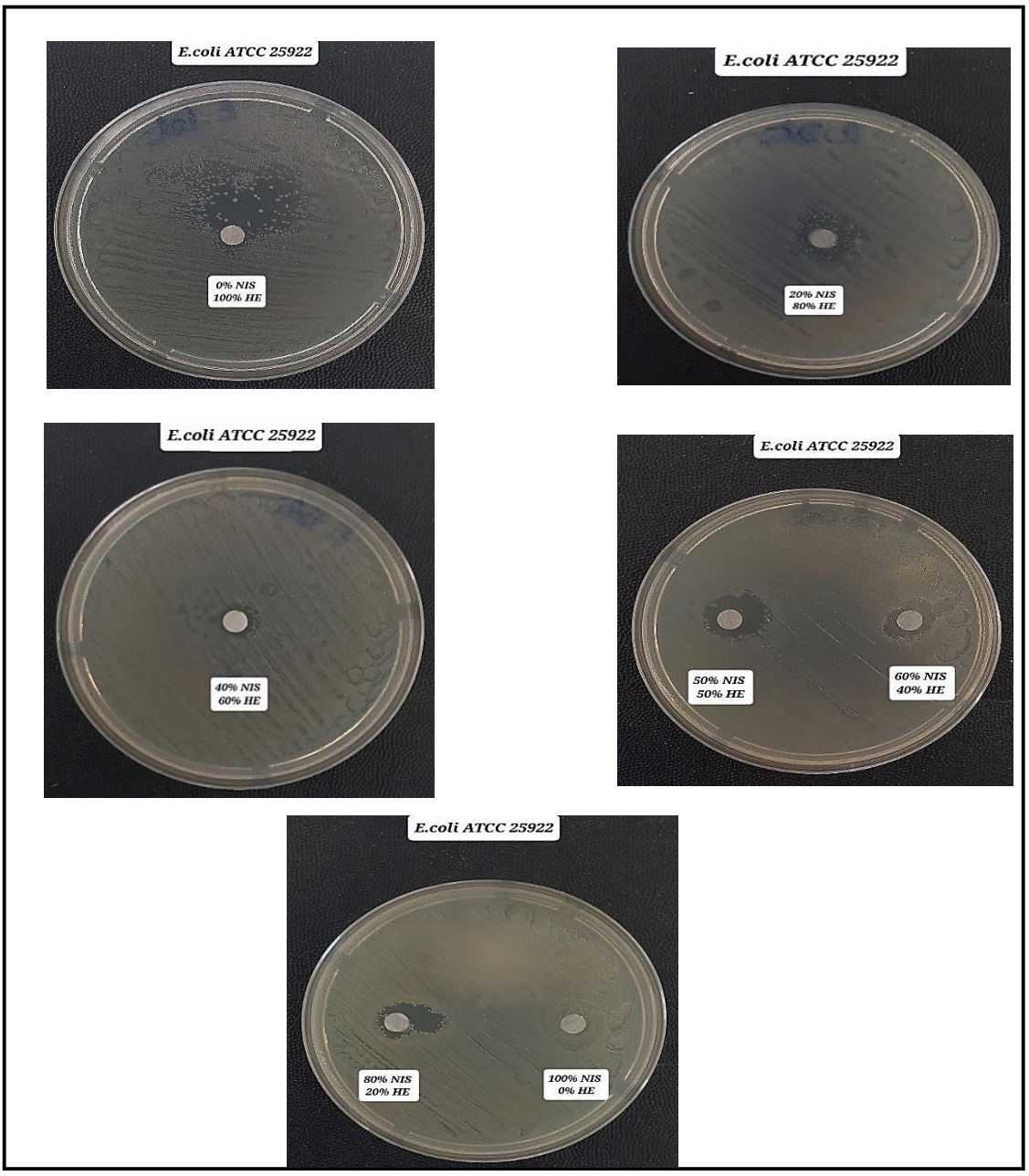


Figure 28 : Effet de la combinaison HE- NIS à différentes concentrations sur *E. coli* ATCC 25422.

- **Effet de la combinaison HE- NIS sur *B. subtilis* ATCC 9372:**

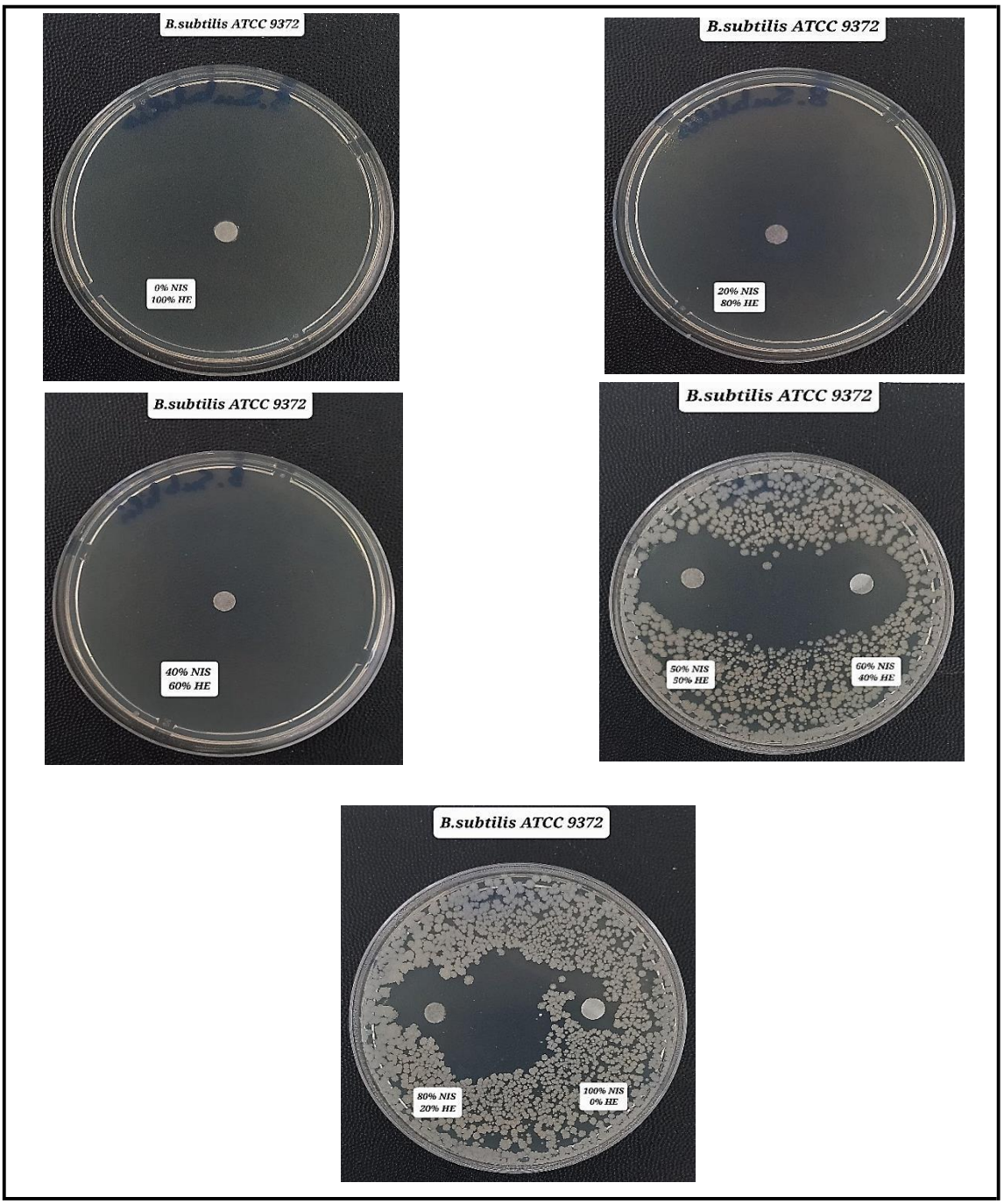


Figure 29 : Effet de la combinaison HE- NIS à différentes concentrations sur *B. subtilis* ATCC 9372.

- **Effet de la combinaison HE- NIS sur *S. aureus* ATCC 25923**

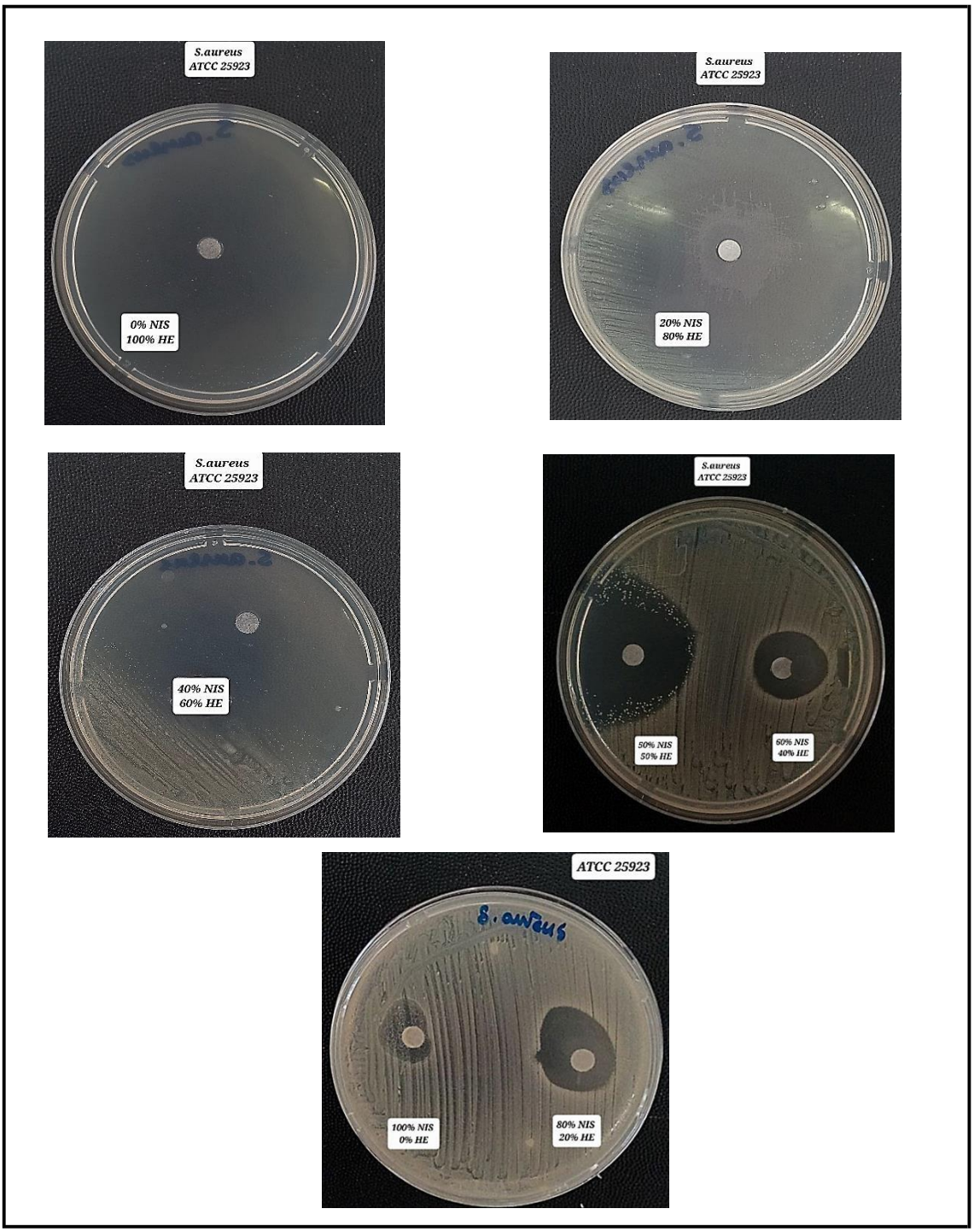


Figure 30 : Effet de la combinaison HE- NIS à différentes concentrations sur *S. aureus* ATCC 25923

Les diamètres des zones d'inhibition ainsi que la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de la combinaison de l'HE et la NIS à différentes concentrations sont présentés sur le **tableau 9 et 10.**

Tableau 09 : l'effet de combinaison de l'HE de *Mentha piperita* et de la nisine par la méthode de diffusion sur disques.

	Diamètre de zones d`inhibition (mm)		
Combinaisons % (v/v)	*E. coli* ATCC 25422	*B. subtilis* ATCC 9372	*S. aureus* ATCC 25923
HE/NIS (100/0)	12	>40	>40
HE/NIS (80/20)	10	>40	>40
HE/NIS (60/40)	11	>40	>40
HE/NIS (50/50)	16	27	>40
HE/NIS (40/60)	12	28	19
HE/NIS (20/80)	17	16	22
HE/NIS (0/100)	13	12	18

Tableau 10 : Effet de différentes combinaisons contre les trois souches testées pour les différentes concentrations d'HE et la nisine.

Souches	Combinaison A+B		Effet de A	Effet de B	Effet de combinaison
E. coli	20%HE+80%NIS	17	12	13	Antagonisme
	40%HE+60%NIS	12	12	13	Indifférent
	50%HE+50%NIS	16	12	13	Antagonisme
	60%HE+40%NIS	11	12	13	Antagonisme
	80%HE + 20 NIS	10	12	13	Antagonisme
B. subtilis	20%HE+80%NIS	16	>40	12	Antagonisme
	40%HE+60%NIS	28	>40	12	Antagonisme
	50%HE+50%NIS	27	>40	12	Antagonisme
	60%HE+40%NIS	>40	>40	12	Indifférent
	80%HE+20%NIS	>40	>40	12	Indifférent
S. aureus	20%HE+80%NIS	22	>40	18	Antagonisme
	40%HE+60%NIS	19	>40	18	Antagonisme
	50%HE+50%NIS	>40	>40	18	Indifférent
	60%HE+40%NIS	>40	>40	18	Indifférent
	80%HE+20%NIS	>40	>40	18	Indifférent

Les tableaux et les figures ci-dessus montrent l'effet de la combinaison de l'huile essentielle de *Mentha piperita* avec la nisine (NIS) sur les trois bactéries testées. D'après les résultats obtenus, on remarque que la combinaison HE-NIS exerce une activité variable

(antagonisme ou indifférent) vis-à-vis des trois bactéries. Les zones d'inhibition sont estimées entre 19 et > 40 mm de diamètre pour *S. aureus* et entre 16 et > 40 mm pour *B. subtilis*, qui sont considérées comme les souches les plus sensibles vis-à-vis de l'effet de cette combinaison par rapport à *E. coli* qui a moins interagi par l'effet de la combinaison HE-NIS avec des zones d'inhibition de 10 à 17 mm. En effet, pour *E. coli*, la combinaison engendre majoritairement un effet d'antagonisme, à l'exception de la combinaison (40 % HE + 60 % NIS) qui montre un effet indifférent. Concernant *B. subtilis*, un antagonisme net est observé pour les concentrations de 20 % à 50 % d'HE, tandis que l'effet est indifférent pour les concentrations de 60 % et 80% d'HE. Pour *S. aureus*, la combinaison induit un effet d'antagonisme pour les concentrations (20 % HE et 40 % HE), et un effet indifférent pour le reste des concentrations.

Par ailleurs, l'analyse des meilleures combinaisons montre que la formulation la plus efficace sur *E. coli* ATCC 25422 est (20 % HE + 80 % NIS Quant à *B. subtilis* ATCC 9372, les meilleures combinaisons sont représentées par (60 % HE + 40 % NIS), (80 % HE + 20 % NIS) et (100 % HE + 0 % NIS). Enfin, concernant *S. aureus* ATCC 25923, les performances les plus élevées sont enregistrées pour les combinaisons (50 % HE + 50 % NIS), (60 % HE + 40 % NIS), (80 % HE + 20 % NIS) et (100 % HE + 0 % NIS).

D'après les travaux de **Naab Dehbia (2018)**, portant sur la combinaison de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et la nisine, un effet synergique a été détecté envers *E. coli* pour la combinaison (75 % de RO + 25 % de NIS), contrairement à nos résultats qui montrent un effet d'antagonisme. En revanche, un effet indifférent a été obtenu par cet auteur sur *S. aureus* et *Bacillus cereus* pour les trois concentrations (25 % HE + 75 % NIS), (50 % HE + 50 % NIS) et (75 % HE + 25 % NIS), ce qui est en concordance avec nos résultats sur *S. aureus* et *B. subtilis.*

4.2 Résultat de e la concentration minimale inhibitrice (CMI) de HEMP et de la nisine

La concentration minimale inhibitrice a été déterminée selon la méthode de micro dilution sur microplaque de 96 puits. La CMI est basée sur l'observation de la présence ou l'absence d'une croissance bactérienne autour du puits. L'huile essentielle de MP et la nisine été testées contre la souche : *S. aureus* ATCC 25923. Les résultats sont représentés sur **la figure 31 le tableau 11**.

Tableau 11 : Résultat de CMI de de HEMP et de la nisine sur la souche indicatrice.

Souche indicatrice	*S. aureus* ATCC 25923
CMI de HEMP (µl/ml)	12.5
CMI de NIS (µl/ml)	1.25

Les valeurs obtenues révèlent que la nisine présente une activité inhibitrice remarquable avec une CMI de 1,25 µl/ml. Quant à l'huile essentielle (HEMP), sa Concentration Minimale Inhibitrice est estimée à 12,5 µl/ml envers cette même souche. Ces résultats démontrent l'efficacité de ces deux agents antimicrobiens, avec une sensibilité plus marquée de la souche indicatrice à l'égard de la nisine.

En comparant nos résultats avec la littérature, la souche *S. aureus* ATCC 25923 s'est révélée beaucoup moins sensible à notre huile essentielle de *Mentha piperita* par rapport à celle d'*Origanum compactum* testée par **Zemouli et Soualmia (2023)**, qui ont obtenu une CMI de 1,56 µl/ml. De même, **Hafsi *et al*. (2023)** ont rapporté pour la même huile essentielle (*Mentha piperita*) une CMI nettement plus basse, estimée à 0,31 µl/ml vis-à-vis de cette même souche, ce qui confirme la résistance plus marquée de notre souche bacterienne.

Par ailleurs, l'efficacité de la nisine vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* a été également documentée par **Kaczorek-Łukowska *et al* (2025)**. Ces auteures ont rapporté des valeurs de CMI oscillant principalement entre 156 IU/ml et 312 IU/ml pour la majorité des souches testées, confirmant ainsi le fort pouvoir inhibiteur de cette bactériocine contre ce pathogène. Ces observations rejoignent nos résultats qui mettent en évidence la sensibilité marquée de notre souche indicatrice à l'action de la nisine.

4.3 Résultat d'Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) de la combinaison de l'HE de *Mentha piperita* et de la nisine sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Le résultat obtenu pour l'Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) de la combinaison de l'HE de *Mentha piperita* et de la nisine sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est représenté sur **le tableau 12 et la figure 31**.

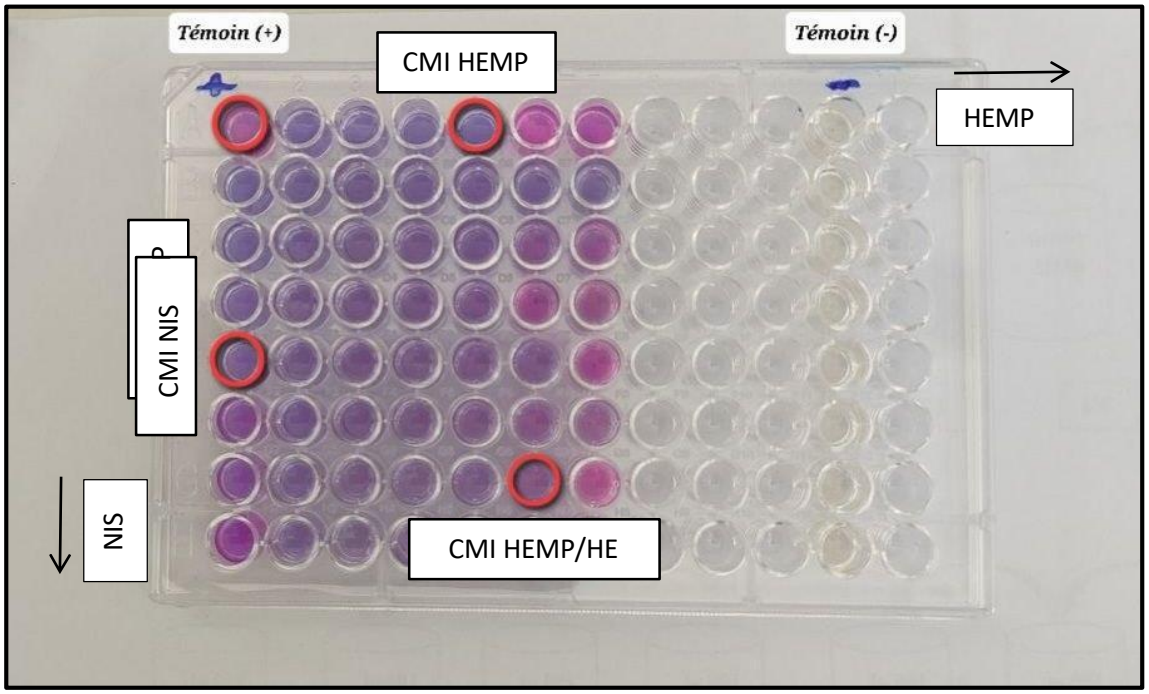


Figure 31 : Lecture de la microplaque de HEMP et NIS vis-à-vis la souche indicatrice.

Tableau 12 : Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) de la combinaison de l'HE de *Mentha piperita* et de la nisine sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Souche indicatrice	CMI de combinaison HEMP (µl/ml)	CMI de combinaison NIS (µl/ml)	ICIF	Type d'interaction
***S. aureus* ATCC 25923**	6.25	0.312	0.75	Association additif

Les données expérimentales montrent que l'incorporation conjointe de ces deux agents antimicrobiens entraîne une réduction des concentrations minimales inhibitrices (CMI), affichant des valeurs de 6,25 µl/ml pour l'HEMP et de 0,312 µl/ml pour la nisine. Le calcul de l'Indice des Concentrations Inhibitrices Fractionnaires (ICIF) a révélé une valeur de 0,75. Selon les critères d'interprétation, cette valeur traduit un type d'interaction qualifié d'association additif entre l'HEMP et la nisine vis-à-vis de la souche testée.

Par rapport aux données de la littérature, l'effet d'association additif obtenu dans notre étude (ICIF = 0,75) diffère de l'effet synergique mis en évidence par d'autres travaux contre *Staphylococcus aureus*. C'est le cas de **Tripti *et al.* (2011)** lors de la combinaison de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* avec la ciprofloxacine (ICIF = 0,5), ainsi que de **Zhao**

***et al*. (2016)** qui ont testé la nisine en association avec l'huile essentielle de périlla (ICIF entre 0,19 et 0,375), et de **Li *et al*. (2022)** qui ont évalué le mélange de la nisine et du carvacrol (ICIF = 0,28125). Ces variations d'interactions confirment que la réponse antimicrobienne dépend fortement de la nature des molécules actives combinées et de la souche bactérienne testée.

Le mécanisme d'action entre les huiles essentielles et les bactériocines des bactéries lactiques est complexe et implique plusieurs interactions entre les molécules actives de ces deux types de composés. Lorsque les huiles essentielles et les bactériocines sont utilisées ensemble, elles peuvent interagir pour produire des effets synergiques. Les huiles essentielles peuvent augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire, ce qui facilite l'entrée des bactériocines dans la cellule et leur action inhibitrice **(Fernandez, 2014)**. De plus, les bactériocines peuvent augmenter la sensibilité des bactéries à l'action des huiles essentielles en modifiant la structure et la fonctionnalité de la membrane cellulaire **(Moll *et al*., 1996).**

Conclusion

Conclusion et Perspectives

En conclusion, ce travail a évalué l'efficacité de l'incorporation combinée de la nisine et de l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita*) pour la bioconservation du fromage frais à caillé lactique traditionnel. L'objectif était de proposer une alternative naturelle aux additifs chimiques afin de prolonger la durée de conservation de ce produit tout en préservant ses qualités intrinsèques.

Les résultats confirment pleinement la réussite de cet objectif. Sur le plan physicochimique, l'incorporation de ces substances biosourcées a maintenu l'équilibre structurel et l'acidité typique du fromage. Sur le plan microbiologique, la combinaison a démontré une action protectrice remarquable : la nisine a efficacement contrôlé la flore contaminante à Gram positif, tandis que l'huile essentielle a exercé un effet inhibiteur contre les germes d'altération, tout en préservant la survie de la flore lactique bénéfique. De plus, l'évaluation sensorielle a validé l'intérêt technologique de cette application, montrant une acceptabilité organoleptique optimale qui a rehaussé les propriétés texturales, olfactives et gustatives du produit.

Enfin, l’étude de l’activité antimicrobienne a mis en évidence une interaction variable selon la méthode utilisée. Alors que la méthode de diffusion sur disque a révélé un effet antagoniste ou indifférent, la méthode de microdilution a montré un effet additif contre *Staphylococcus aureus*. Ces résultats suggèrent un potentiel intéressant de l’association nisine/huile essentielle de menthe poivrée dans une stratégie de bioconservation des fromages frais traditionnels.

Ainsi, cette formulation combinée s’impose comme une solution biologique prometteuse pour garantir la sécurité sanitaire et la qualité sensorielle des fromages traditionnels algériens.

Perspectives

Ce travail ouvre de nouvelles perspectives de recherche dans cette voie, nous comptons poursuivre et approfondir ces aspects en prenant en charge les éléments complémentaires qui nécessitent une telle étude :

- Optimisation de la fabrication du fromage frais par l'association de cette méthode de biopréservation à l'utilisation de ferments lactiques autochtones isolés localement.
- Suivi rigoureux et régulier des paramètres physicochimiques (tels que le pH, l'acidité titrable et l'extrait sec) au cours de la durée de conservation du fromage.
- Identification phénotypique, biochimique et moléculaire des colonies bactériennes isolées pour la caractérisation précise des souches contaminantes.
- Réalisation d'une étude d'acceptabilité sensorielle à plus grande échelle auprès d'un panel élargi de consommateurs pour ce fromage ainsi valorisé.
- Évaluation de l'efficacité de cette formule combinée (nisine / huile essentielle) vis-à-vis d'autres pathogènes d'intérêt laitier, tels que *Listeria monocytogenes*.
- Exploration d'autres extraits bioactifs issus de plantes médicinales comme alternatives de conservation naturelle, avec une étude approfondie de leur cytotoxicité.
- Diversification des applications bioconservatrices de l'huile essentielle de *Mentha piperita* par son incorporation dans d'autres matrices alimentaires hautement périssables.
- Valorisation du potentiel antimicrobien de l'huile essentielle de *Mentha piperita* à travers des essais d'application dans les domaines médical et pharmacetique

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Menidjel, M., & Meddah, A. (2022). Addition des plantes médicinales au fromage fait maison à base du lait de vache et leurs influences sur les paramètres organoleptiques et la durée de la conservation Mémoire de Master en sciences alimentaires, Spécialité/Option: Production et Transformation Laitière, Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie. 107 p. [Juin 2022].

Messaour, H. (2018). L'étude de l'effet de l'incorporation de l'huile essentielle d'orange dans le fromage fondu de la laiterie et fromagerie Boudouaou Mémoire de Master en sciences agronomiques, Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité, Université Akli Mohand Oulhadj- Bouira, Algérie. 108 p. [22/09/2018].

Moghtit, K. (2023). Impact d'ajout des composés phénoliques des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare*) comme additif naturel sur la qualité et la stabilité d'un fromage frais de terroir type J'ben Mémoire de Master en sciences alimentaires, Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Algérie. 143 p. [04/05/2023].

Abbaci, A., Kouahi, S., & Alioua, A. (2023). Production d'un fromage frais enrichi en poudres de *Curcubita pepo* L. en tant qu'aliment fonctionnel. Mémoire de master en sciences alimentaires, spécialité : agroalimentaire et contrôle de qualité, université Mohamed El Seddik Benyahia, Jijel, Algérie. 89 p.

Abi Assaf, J., Holden, E. R., Trampari, E., & Webber, M. A. (2024). Common food preservatives impose distinct selective pressures on *Salmonella typhimurium* planktonic and biofilm populations. Food Microbiology, 121 (104517), 1-10. https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104517.

Abi Rizk, H. (2025). Évaluation et modélisation des propriétés sensorielles des fromages au cours de l'affinage par des approches analytiques et chimiométriques combinées. Thèse de doctorat en Sciences des aliments, Université Laval, Québec, Canada, 234 p.

Adda, F., Bellahreche, M., & Ziani, K. (2024). Essai de fabrication de fromage à pâte molle à base de Lactoserum doux issu de lait de vache Mémoire de Master académique en sciences alimentaires, Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité, Université Ibn Khaldoun-Tiaret, Algérie. 90 p. [26/06/2024].

Adda, F., Bellahreche, M., & Ziani, K. (2024). Essai de fabrication de fromage à pâte molle à base de lactosérum doux issu de lait de vache. Mémoire de master en Sciences alimentaires, spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité, université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie. 90 p.

Afraei, M., Razavi, S. H., Nouri, M., Jahan, F. M., & Shafiepour, M. (2025). Innovative Applications of Pédiocine in Food Preservation: A Natural Alternative to Chemical Additives – A Review. The Microbe, 8, 100452, 1-16. https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100452.

Aissaoui Zitoun-Hamama O., Benyahia-Krid F.A., Saoudi Z., Senoussi A., Boullouf A., Mansouri S., Lazzouni I., &Zidoune M.N. (2022). Bouhezza goat skin bag cheese: traditional cheesemaking and microbial quality. Algerian Journal of Nutrition and Food Sciences, 2(3), 9–13. https://fac.umc.edu.dz/inataa/revue/files/ajnfs0203002.pdf.

Aissaoui, L. (2019). Effet de l'utilisation d'un mélange d'huiles essentielles de romarin et de thym sur l'amélioration de la conservation d'un fromage à caillé lactique Mémoire de Master en sciences alimentaires, Spécialité : Production et transformation laitières, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Algérie. 123 p. [09/07/2019].

Ait Ouarab, A., & Ahmine, I. (2023). Les additifs alimentaires : nitrates, nitrites et risque du cancer. Mémoire de master en science alimentaire, spécialité : biochimie de la nutrition, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie. 54 p.

Aljohani, A.B., Al-Hejin, A.M., & Shori, A.B. (2023). Bacteriocins as promising antimicrobial peptides, definition, classification, and their potential applications in cheeses. Food Science and Technology, 43, 118021, 1-10. https://doi.org/10.1590/fst.118021.

Altun, M. (2023). In vitro evaluation of the antioxidant, antibacterial, antibiofilm, and cytotoxic activity of *Mentha piperita* essential oil. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 12(5),* 1-5. https://doi.org/10.55251/jmbfs.6206.

Amer, D. A., Albadri, A. A., El-Hamshary, H. A., Nehela, Y., El-Hawary, M. Y., Makhlouf, A. H., & Awad, S. A. (2023). Impact of salting techniques on the physio-chemical characteristics, sensory properties, and volatile organic compounds of Ras Cheese. Foods, 12(9), 1855.https://doi.org/10.3390/foods12091855

Amimour M, (2019). Essais d'optimisation des procédés de fabrication des fromages traditionnels de qualité (J'ben). Thèse de doctorat en Science et Technologie Alimentaire, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie, 209 p.

Ammar A., Chouddani H., (2020). Fabrication du fromage a base de lait de chèvre par incorporation d'extrait des fleurs du chardon, Université Akli Mohand Oulhadj. Bouira, 70 p.

Aswini, T., Dhanusha, K., Priya, K., Shalini, R., Sumithra, S., & Helen, W. (2024). Essential oils: Characteristics, extraction and pharmacological activities. International Journal of Science and Research Archive, 12(01), 2457–2475. https://doi.org/10.30574/ijsra.2024.12.1.0909.

Attari, S. (2019). Appréciation de l'aptitude fromagère des laits de vaches individuelles de la ferme expérimentale : Test d'aptitude fromagère et de rendement fromager (Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem).

Azzouz, S., Ahadaf, S., Zantar, S., El Galiou, O., Arakrak, A., Bakkali, M., & Laglaoui, A. (2025). Technological, molecular, and safety characterization of autochthonous lactic acid bacteria in Moroccan Jben cheese: Towards the development of a native starter culture. Mljekarstvo, 75 (3), 174-186.https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2025.0304.

B

B. C, C., & Hegde, K. (2022). An update on the herbal plant *Mentha piperita*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 75(1), 1-5. http://dx.doi.org/10.47583/ijpsrr 2022.v75i01.001.

Barache, N., & Bouatmane, S. (2016). Etude de la qualité physicochimique et microbiologique de deux fromages artisanaux algériens Algafs et Alatig Mémoire de Master en sciences biologiques, Option : Microbiologie Alimentaire et Santé, Université A. MIRA - Bejaia, Algérie. 92 p. [18/06/2016].

Bardache, H., & Bachiri, M. (2019). Etude phytochimique et elaboration d'un fromage Frais a base de *Thymus vulgaris* Mémoire de Master en science alimentaire, Spécialité : production et transformation laitière, Université A. MIRA - Béjaïa, Algérie. 67 p. [02/07/2019].

Barukcˇic´, I., Sˇcˇetar, M., Marasovic, I., Lisak Jakopovic, K., Galic, K., & Bozˇanic, R. (2020). Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. Journal of Food Science and Technology, 57(7), 2722–2731. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04308-6.

Beka, R. G. (2011). Une alternative végétale en fromagerie: préparation d'un extrait coagulant à partir des fruits de Balanites a egyptiaca : étude biochimique et application technologique. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires et Nutrition, Université de Lille, France, 167 p. [21 novembre 2011]. https://doc.univ-lille1.fr

Belattar, N., Benacherine, M.E.M., Kerkabou, A., & Barhouchi, B. (2025). Progressive innovations in essential oils extraction technologies and investigation of their phytochemical evidences. Journal of Molecular and Pharmaceutical Sciences, 4(2), 14–36. https://asjp.cerist.dz/en/article/283888.

Benamara, R. N., Benahmed, M., Ibri, K., Boudjemaa, B. M., &Demarigny, Y. (2022). Algerian extra hard cheese of Klila: a review on the production method, and microbial, organoleptic, and nutritional properties. Journal of Ethnic Foods, 9(41), 1-12. https://doi.org/10.1186/s42779-022-00157-0.

Benattous.D,& Bettayeb.I. (2019). Effet des bactéries lactiques productrices des substances antimicrobiennes sur la qualité de fromage. Mémoire de master en contrôle de qualité. Université de Kasdi Merbah Ouargla.70p.

Bendimerad, N., Boumediene, K., Khiri, Z., Didouh, N., Anntar, A. C., Benamar, I., Zatla, I., & Boudjemaa, B. M. (2024). Crafting Algerian "Jben": a traditional soft cheese enhanced by locally derived starters. *Food Science and Technology*, *44*. https://doi.org/10.5327/fst.00273.

Benhamidat, L. (2022). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire de trois plantes de la famille des Astéracées : investigation phytochimique et activités biologiques. Thèse de doctorat en chimie, spécialité : Chimie des produits naturels analyses et applications, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, Algérie. 199 p. [13/07/2022].

Bensmail, S., Boudjema, K., Naimi-Fazouane, F., Bensmail, S., Djouahra-Fahem, D., Ferhoum, F., & Bourfis, N. (2023). Factors affecting acid protease production by *Mucor circinelloides* MG603064.1 through SmF process: characterization and fromage frais making. Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology, 104(4), 333–349. https://doi.org/10.5114/bta.2023.132770

Benyahia, F.A., Bouali, A., Meghzili, B., Foufou, E., Saadi, S., El Mechta, L., & Aissaoui Zitoun, O. (2025). Review of the main traditional cheese-making in the Mediterranean basin. Journal of Ethnic Foods, 12(31), 1-13. https://doi.org/10.1186/s42779-025-00292-4.

Benzekri, I., Cheriguene, A., Chougrani, F., &Dahou, A. E. (2024). Contribution to the valorization of Klila, a traditional cheese from central Algeria. International Journal of Advanced Natural Sciences and Engineering Researches, 8(7), 131-138.https://as-proceeding.com/index.php/ijanser.

Bjekić, M., Iličić, M., Vukić, V., Vukić, D., Kanurić, K., Pavlić, B., Zeković, Z., Popović, L., Torbica, A., Tomić, J., & Degenek, J. (2021). Protein characterisation and antioxidant potential of fresh cheese

obtained by kombucha inoculum. Mljekarstvo: Dairy Experts Journal, 71 (4), 215–225.https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2021.040

Bouaziz O. 2005. Contribution à l'étude des infections intra mammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en pathologie de la reproduction. Département des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine, pp 156-188.

Boudalia, S., Boudebbouz, A., Gueroui, Y., Bousbia, A., Benada, M., Leksir, C., BOUKAABENE, Z., SAIHI, A., TOUAIMIA, H., AÏT-KADDOUR, A., &Chemmam, M. (2020). Characterization of traditional Algerian cheese "Bouhezza" prepared with raw cow, goat and sheep milks. Food Science and Technology, 40 (Suppl. 2), 528-537.https://doi.org/10.1590/fst.35919.

Boudjaadar. D (2015). Influence des agents additifs sur la qualité microbiologique du fromage traditionnel. Mémoire de master en microbiologie fondamentale et applique. Université Kasdi Merbah Ouargla.68p.

Boumediene, K., Bendimerad, N., Khiri, Z., Benamar, I., Anntar, A.C. &Boudjemâa, B.M. (2024). Characterization of Jben: Microbiological and Physicochemical Analysis of Traditional Raw Cow's Milk Cheese with Dried Lamb Rennet from Ain Sefra, Algeria. Asian Journal of Dairy and Food Research, 1-6. **DOI:** 10.18805/ajdfr.DRF-450.

Bounaama, K. (2024). Potentiel inhibiteur du fromage J'ben. These de doctorat univerisite Andelhamid Ibn Badis Mostaganem, 189p.

Bounaama, K. (2024). Potentiel inhibiteur du fromage J'ben. Thèse de doctorat en sciences agronomiques, spécialité : production et biotechnologie animales, université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie. 189 p. univ-mosta.dz

Bounab, S. (2020). Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila) : étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales. Thèse de doctorat en sciences biologiques, spécialité : Valorisation et protection de la biodiversité végétale, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. 220 p. [26/10/2020].

Brah, A. S., Obuah, C., & Adokoh, C. K. (2024). Innovations and modifications of current extraction methods and techniques of citrus essential oils: a review. Discover applied sciences, 6(9), 460. https://doi.org/10.1007/s42452-024-06100-z.

C

Cama-Curasi, J. V., Saldaña, E., Cruzado-Bravo, M. L. M., Ambrosio, C. M. S., & Mayta-Hancco, J. (2022). Incorporation of nisin and oregano essential oil in cow's milk to improve the quality of fresh cheese. *Scientia Agropecuaria*, *13*(4), 359-367. https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.033.

Cardin, G. (2021). Développement d'une méthodologie preuve de concept pour la recherche et la détermination des fonctionnalités des flores microbiennes et des aliments fermentés .Thèse de doctorat en Biotechnologie, Université Clermont Auvergne, France, 226 p. [10 septembre 2021].

Chammam, A. (2024). Valorisation des cônes issus du genre *Pinaceae* : intensification des procédés d'extraction et identification des molécules bioactives. Thèse de doctorat en ingénieries microbienne et enzymatique, Université de Toulouse, Toulouse, France. 260 p.

Cherabi, D., Djema, M., & Siad, L. (2022). Elaboration d'un fromage frais enrichi par la graine de lin Mémoire de Master en Sciences Agronomique : agro-alimentaire et contrôle de qualité, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie. 87 p.

Chessa, L., Paba, A., Dupré, I., Addis, M., Piga, C., Pes, M., & Comunian, R. (2025). From Raw Milk Microbiome to Cheese: The Challenge of Indigenous Natural Starter Culture Exploitation. Fermentation, 11(12), 660.https://doi.org/10.3390/fermentation11120660.

Codex Alimentarius Commission. (1978). General standard for cheese (CXS 283-1978). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) & World Health Organization (WHO).
Codex Alimentarius. (2001). Group standard for unripened cheese including fresh cheese. Codex Standard, 221.

Commenges, A. (2023). Impact du microbiote laitier sur la biopréservation des fromages. Thèse de doctorat en biotechnologies, spécialité : biotechnologies, agroalimentaires, sciences de l'aliment, physiologie, Université de Lille, Lille, France ; Université Laval, Québec, Canada. 205 p. [7 décembre 2023].⟨NNT : 2023ULILR063⟩.

Commission Européenne. (2005). Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on Microbiological Criteria for Foodstuffs, Official Journal of The European Union, L338/1–26.

D

Dahou, A., Bekada, A., & Homrani, A. (2021). Identification of a Lactococcus lactis isolated from a fresh local cheese of the western algerian steppe "J'ben of Naama". Asian Journal of Dairy and Food Research, 40(1), 40-44.

Dahou, A.E. (2017). Étude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel à pâte molle type camembert au cours de son affinage et évaluation de ses aptitudes technologiques. Thèse de

doctorat en sciences agronomiques, spécialité : production et biotechnologie animales, université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie. 132 p. [02/11/2017].

Darbandi, A., Asadi, A., Mahdizade Ari, M., Ohadi, E., Talebi, M., Halaj Zadeh, M., Darb Emamie, A., Ghanavati, R., & Kakanj, M. (2022). Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 36(1), 1-40. https://doi.org/10.1002/jcla.24093.

De Oliveira, I., Santos-Buelga, C., Aquino, Y., Barros, L., & Heleno, S. A. (2025). New frontiers in the exploration of phenolic compounds and other bioactives as natural preservatives. Food Bioscience, 68, 106571. 1-2 4. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106571.

De Sousa, D. P., Damasceno, R. O. S., Amorati, R., Elshabrawy, H. A., de Castro, R. D., Bezerra, D. P., Nunes, V. R. V., Gomes, R. C., & Lima, T. C. (2023). Essential Oils: Chemistry and Pharmacological Activities. Biomolecules, 13(7), 1144.1-29. 4. https://doi.org/10.3390/biom13071144.

Derouiche, M., & Zidoune, M. (2015). Caractérisation d'un fromage traditionnel, le Michouna de la région de Tébessa, Algérie. Livestock Research for Rural Development, 27(11), 229.http://www.lrrd.org/lrrd27/11/meri27229.html.

Derouiche, N., Medjouj, H., Aissaoui-Zitoune, W., & Zidoune, M. (2017). Some traditional cheeses manufactured in Algeria. Cheese Production, Consumption and Health Benefits. New York: Food Science and Technology, Nova Science Publisher, 225-242.

Diet, A. (2025). Les fromages au lait cru : des aliments fermentés sources de métabolites actifs pour la prévention du vieillissement et des troubles de mobilité associés. Thèse de doctorat en Biologie-Santé, Université Clermont Auvergne, Clermont Auvergne, France, 252 p. [13 mai 2025].

Djokhdem, L. (2024). Conservation du lait de certains ruminants : études des paramètres microbiologiques, physicochimiques et aptitudes technologiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : sciences vétérinaires, École nationale supérieure vétérinaire. Rabie Bouchama. Alger, Algérie 152 p. [22 février 2024].

Domagała, J., Pluta-Kubica, A., Sady, M., Bonczar, G., Duda, I., & Pustkowiak, H. (2020). Comparison of the composition and quality properties of fromage frais-type cheese manufactured from the milk of selected cow breeds. Annals of Animal Science, *20*(2), 661-676. DOI: 10.2478/aoas-2019-0083.

Donkor, E. S., Sosah, F. K., Odoom, A., Odai, B. T., & Kunadu, A. P.-H. (2025). How Long Do Microorganisms Survive and Persist in Food? A Systematic Review. *Microorganisms*, *13*(4), 901. https://doi.org/10.3390/microorganisms13040901.

Dormenval, F. (2024). Développement d'un outil d'aide à la décision pour l'adaptation des paramètres de coagulation du lait de fromagerie. Mémoire en sciences des aliments, Université Laval. Québec, Canada. 70 p.

Duarte, R.V., Casal, S., Gomes, A.M., Delgadillo, I., & Saraiva, J.A. (2023). Nutritional and quality evaluation of hyperbaric stored fresh cheeses .Food Chemistry Advances, 2, 100212, 1-11.https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100212.

E

El Marnissi, B., Belkhou, R., & Bennani, L. (2013). Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). Les technologies de laboratoire, 8(33).

Elsherif, W. M., Hassanien, A. A., Zayed, G. M., & Kamal, S. M. (2024). Natural approach of using nisin and its nanoform as food bio-preservatives against methicillin resistant Staphylococcus aureus and E. coli O157:H7 in yoghurt. BMC Veterinary Research, 20(1), 192. https://doi.org/10.1186/s12917-024-03985-1.

Everett, D. W., Fox, P. F., Cotter, P. D., & McSweeney, P. L. H. (2017). *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Academic Press.

FAO OMS (1990). La situation mondiale de l`alimentation et de l`agriculture. (CollectionFAO:Agriculture,n"23) ISBN92-5-202989-3.

Fernandez, B., Hammami, R., Savard, P., Jean, J., & Fliss, I. (2014). Pediococcus acidilactici UL 5 and Lactococcus lactis ATCC 11454 are able to survive and express their bacteriocin genes under simulated gastrointestinal conditions. Journal of applied microbiology 116(3), 677-688.

food biopreservation. Int J Food Microbiol.120: 51-70.

Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). Chemistry and biochemistry of cheese. In *Dairy chemistry and biochemistry* (pp. 499-546). Cham: Springer International Publishing.

G

Gálvez A., Abriouel H., Lopez R. L., Ben Omar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for

Garric, G. (2020). La technologie fromagère : de la tradition aux technologies de rupture. Hal open sciences, ⟨hal-03048869⟩

Gholamipourfard, K., Salehi, M., Banchio, E. (2021). *Mentha piperita* phytochemicals in agriculture, food industry and medicine: features and applications. South African Journal of Botany, 141, 183-195. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.05.014.

Guiraud J. et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Édition l'usine. 236p.

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. p : 136-139.

Guiraud, J.P. (2012) Microbiologie Alimentaire. Hors Collection, Dunod, 696.

Gutiérrez Coronado, K. A., García-Torres, S. M., Caldas-Cueva, J. P., & Ludeña-Urquizo, F. E. (2025). Physicochemical, textural properties, and lactic acid bacteria counts of Peruvian fresh cheese with added probiotic cultures. Brazilian Journal of Food Technology, 28, 1-12. https://doi.org/10.1590/1981-6723.05424.

Guțu, C. (2022). Élaboration un produit dessert à partir de fromage de vache à haute valeur nutritive. (2022). Technical Scientific Conference of Undergraduate, Master, PhD Students, Technical University of Moldova, Chișinău, 1, 572–575. [29-31/03/2022]. http://repository.utm.md/handle/5014/20780.

H

Habila et Garroudj (2023). Caractérisation de Djben Elgafs au cours de fabrication et affinage. [Mémoire de Master, Université Frères Mentouri - Constantine 1],], Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaire-Constantine 1.

Hachez-Leroy F. (2019). Menaces sur l'alimentation. Presses universitaires François-Rabelais de Tours. , Tables des hommes, Martin Bruegel, 978-2-86906-716-5. ⟨hal-04392483⟩.

Haddou, M (2022). Activité larvicide des huiles essentielles du citron et de la menthe poivrée sur la pyrale *Plodia interpunctella* (Lepidoptera : Pyralidae). Mémoire de Master. Université ABOUBEKR BELKAID–TLEMCEN. 102p.

Hadef, S, (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. (En ligne). Mémoire de magister: Microbiologie appliquée. Ouargla: Université Kasdi Merbah, 135p. Disponible sur : https://nanopdf.com/download/evaluation-des-aptitudes-technologiques-et probiotiques-des_pdf « Consulté le 2/1/2020 ».

Hafsi, M., Mansour, I., & Smida, A. (2024). Effets de synergie des bactériocines issues des bactéries lactiques et des huiles essentielles de (*Salvia officinalis* et *Mentha piperita*) contre les germes pathogènes d'origine alimentaire Mémoire de Master en sciences biologiques, Option : Microbiologie appliquée, Université Larbi Tebessi-Tébessa, Algérie. 90 p. [06/06/2024].

Halli, L., Harchaoui, L., Messaoudi, M., Dahmane, T., Aid, F., Sawicka, B., & Zahnit, W. (2025). Chemical constituents and in vitro/in vivo pharmacological effects of *Mentha piperita* L. essential oil in different regions of Algeria. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *18*(1), 258–271. https://doi.org/10.35516/jjps.v18i1.3069.

Hammaoui, H., & Moulai, H. (2023). Formulation de fromage à base de lait de chèvre par l'incorporation des plantes aromatiques Mémoire de Master académique en sciences alimentaires, Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie. 86 p. [20/06/2023].

Hassid, A., Salla, M., Krayem, M., Khaled, S., F. Hassan, H., & El Khatib, S. A review on the versatile applications of plant-based essential oils in food flavoring, culinary uses and health benefits. Discover Food, 5 (130). https://doi.org/10.1007/s44187-025-00417-3.

Helaimia, D., & Zairi, S. (2025). Évaluation de la qualité hygiénique d'un fromage traditionnel algérien Jben Elgafs frais. Mémoire de master en science biologique, Spécialité: sécurité alimentaire et assurance qualité, Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi**,** Tébessa, Algérie. 83 p.

Hermine, P. (2022). Association entre produits laitiers, volume cérébral et fonctions cognitives chez le sujet âgé. Thèse de doctorat en spécialité : Université de Bordeaux, France. 242 p. [25/03/2022].

Hudz, N., Kobylinska, L., Pokajewicz, K., Horčinová Sedláčková, V., Fedin, R., Voloshyn, M., Myskiv, I., Brindza, J., Wieczorek, P. P., & Lipok, J. (2023). *Mentha piperita*: essential oil and extracts, their biological activities, and perspectives on the development of new medicinal and cosmetic products. *Molecules*, *28*(21), 7444. https://doi.org/10.3390/molecules28217444.

Islam, M., Basunia, M., Rahman, A., Bari, M., Rahman, M., Mannan, M., & Datta, T. (2021). Effect of coagulants on the chemical and microbial quality of fresh cheese.

J

J.O.R.A n°35. (1998). Critères microbiologiques relatifs à certaines denrées alimentaires, 7 25.

Joco, RA, Lavarias, JA, Peneyra, RG et Somera, CG (2024). Recent Development on the Extraction Process of Plants Essential Oil and its Effect on Chemical Composition: A Review. Advanced Journal of Graduate Research, 14 (1), 9-20. https://doi.org/10.21467/ajgr.14.1.9-20.

JORA. (2017). Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critéres microbiologiques des denrèes alimentaires. Available on: https://www.joradp.dz/HFR/Index.htm.
Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire. (2022, 31 mai). Journal officiel n° 37. Secrétariat général du Gouvernement.
Journal officielle de la république algérienne (1998). Arrêté interministériel du 24 janvier 1998. Aouel Safar 1419 correspondant au 27 mai 1998. Critères microbiologique relatifs à certaines denrées alimentaires spécifications et à la présentation des creters microbiologiques des laits et des produits laitiers de certains laits de consommation, N° JORA : 035 du 27-05-1998.

Jozala, A. F., Novaes, L. C. L., & Pessoa Junior, A. (2015). Nisin. In V. Bobbarala (Ed.), Concepts, Compounds and the Alternatives of Antibacterials (pp. 104–113). InTech. https://doi.org/10.5772/60932.

K

Kaczorek-Łukowska, E., Foksiński, P., Małaczewska, J., Wójcik, R., & Szyryńska, N. (2025). The Effects of Low Concentrations of Nisin on Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus* Isolated from Dairy Cattle. *Pathogens*, *14*(6), 566. https://doi.org/10.3390/pathogens14060566.
Kadari, Y. (2025). Évaluation de l'activité scolicidale de quelques huiles essentielles. Thèse de doctorat en parasitologie vétérinaire, Université Ibn-Khaldoun, Tiaret, Algérie. 154 p. http://dspace.univ-tiaret.dz/handle/123456789/16442.

Kaidi, K., Boulal, A., & Meknassi, A. (2023). L'effet antibactérien et antifongique d'huile essentielle des feuilles de *Moringa oleifera* L. International Journal of Natural Resources and Environment, 5(1), 58-66. https://asjp.cerist.dz/en/article/228900.

Kamal, G. M., Uddin, J., Asmari, M., Noreen, A., Liaqat, A., Sabir, A., Khan, J., Iqbal, R., Sharma, A., Nayik, G. A., Mugabi, A., & Musharraf, S. G. (2025). Natural polyphenols as a promising aquatic food preservative: A concurrent review. Journal of Agriculture and Food Research, 22(102046), 1-10. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.102046.

Kerdougheli, H., & Abdessemed, R. (2022). Contribution à la valorisation des figues dans l'élaboration du fromage frais Mémoire de Master en sciences biologiques, Spécialité : Microbiologie appliquée, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, Algérie. 107 p.

Kfoury, M., & Fourmentin, S. (2024). Les huiles essentielles : renaissance d'ingrédients naturels et durables Essential oils: the renaissance of natural and sustainable ingredients. Technologie et innovation, Les filières de production dans la bioéconomie, 24 (9), 1-21. 10.21494/ISTE.OP.2024.1059.

Kheloufi, M., Meddah, M., Djemouai, N., & Telli, A. (2021). Ethnobotanical study of wild plants used in the Algerian traditional cheese-making of Kemariya in the M'Zab Valley (Algeria). International Journal of Biosciences, 18(1), 193–206. http://dx.doi.org/10.12692/ijb/18.1.193-206.

Korber, C. (2025). Les principales huiles essentielles à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lille. 236 p. [29/09/2025].

Korber, M. C. (2025). Les principales huiles essentielles à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lille, Lille, France. 236 p. [29/09/2025].

Kose, S., Ceylan, M. M., Altun, I., & ERIM KOSE, Y. (2021). Determınatıon of some basıc properties of tradıtıonal malatya cheese. Food Science and Technology, 42, e03921.

Kothe, C. I. (2021). Diversité des bactéries halophiles dans l'écosystème fromager et étude de leurs impacts fonctionnels. Thèse de doctorat en biochimie, biologie moléculaire, spécialité : microbiologie, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France. 272 p. [01/04/2021].

Kout, A (2017). Bactériocines des bactéries lactiques : étude biochimique. Thèse de doctorat, université Ahmed ben Bella Oran 1. 155p.

L

Lahrech, A., Hamidi, M., Choukri, A., and Ancer, B. (2018). Microbiological quality of milk and cheese of Arbia goat: coagulation with Cynara cardunculus. Livestock Research for Rural Development 30.

Langlois-Deshaies, R. (2022). Impact des traitements thermiques sur la concentration et la bioactivité des systèmes antimicrobiens naturels dans le lait cru, le lait de fromageries et les fromages du Québec. Mémoire en sciences des aliments, Université Laval, Québec, Canada, 75 p.

Larpent J.P., (1997).Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 1073P

Lattab, A., Khouatemiani, A. A., Tounsi, I., Boudiaf, A., Harizi, N., & Djida, M. (2024). Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* contre Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa, 2 (2). 79-84. [15 juillet 2024].

Law, B. A., & Tamime, A. Y. (Eds.). (2010). *Technology of Cheesemaking*. Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1002/9781444323740.

LEKSIR, C. (2018). Caractérisation, fabrication et consommation du dérivé laitier traditionnel 'Klila' dans l'Est Algérien. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques, Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie, 190 p. [14 Novembre 2018].

Leksir, C., Boudalia, S., Moujahed, N., & Chemmam, M. (2019). Traditional dairy products in Algeria: case of Klila cheese. Journal of Ethnic Foods, 6(7), 1–14. https://doi.org/10.1186/s42779-019-0008-4.

Lemita, L. (2022). Hépato-toxicité mixte par le spinosad et le plomb et effet protecteur des huiles essentielles du fenouil chez le rat Wistar Thèse de doctorat en sciences biologiques, Spécialité : toxicologie cellulaire, Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi, Tébessa, Algérie. 146 p.

Lerbes E. (2002) . cours nationale d'hygiène et de microbiologie des aliments (microbiologie des eaux de boisson des boissons et des produits de la mer). Institut Pasteur d'Algérie. 60p.

Leyral, G., Vierling, E. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et

Li, Q., Yu, S., Han, J., Wu, J., You, L., Shi, X., & Wang, S. (2022). *Synergistic antibacterial activity and mechanism of action of nisin/carvacrol combination against Staphylococcus aureus and their application in the infecting pasteurized milk. Food Chemistry, 380, 132009.* https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.132009.

M

Macedo, A. C., & Malcata, F. X. (1997). Changes of lactose, lactic acid, and acetic acid contents in Serra cheese during ripening. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A, 204(6), 453–455. https://doi.org/10.1007/s002170050112.

Mahdi, MH & Atatra, T. (2025). Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et de la ciprofloxacine contre des souches multirésistantes aux antibiotiques. Mémoire de master. Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie. 99p

Mahmoudi, M. (2024). Essal de fabrication et caractérisation d'un fromage frais à base du lait de vache et additionné d'ail Mémoire de Master II « Maîtrise de la filière de la production laitière », Département des Sciences Agronomiques, Université Chadli Bendjedid - El Tarf, Algérie. 75 p.

Mamjoud Amal. (2025). Impact des bactériocines sur la composition, la dynamique et l'activité métabolique du microbiote cæcal aviaire : étude in vitro par metabarcoding 16S et métabolomique. Thèse

de doctorat en cotutelle Sciences des aliments – Microbiologie alimentaire, Université Laval Québec, Canada. 178 p.

Martine, C. (2024). Aromathérapie : exemple pratique de mise en place de l'olfactothérapie dans un établissement de santé spécialisé en cancérologie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Toulouse III Paul-Sabatier, Toulouse, France. 298 p.

Mechai, A (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat Option Biochimie. Université Badji-Mokhtar- Annaba, 154p.

Medjoudj, H., Aouar, L., Zidoune, M. N., & Hayaloglu, A. A. (2017). Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese *Bouhezza* made using goat's raw milk. International Journal of Food Properties, *20*(sup3), S3246–S3265. https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1375515

Mefleh, M., Darwish, A.M.G., Mudgil, P., Maqsood, S., &Boukid, F. (2022). Traditional Fermented Dairy Products in Southern Mediterranean Countries: From Tradition to Innovation. Fermentation, 8(743), 1-22. https://doi.org/10.3390/fermentation8120743.

Menassel C. (2019). Contrôle de qualité du fromage frais « j'ben » à partir du lait cru de vache. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah Ouargla.75p.

Mennane, Z., Khedid, K., Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M., & Elyachioui, M. (2007). Microbial characteristics of Klila and Jben traditional Moroccan cheese from raw cow's milk. World Journal of Dairy & Food Sciences, 2(1), 23-27.

Messaour, H. (2018). L'étude de l'effet de l'incorporation de l'huile essentielle d'orange dans le fromage fondu de la laiterie et fromagerie Boudouaou. Mémoire de master Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité. Université Akli Mouhand Oulhadj- Bouira, Algérie. 108 p. http://193.194.80.38:8080/jspui/handle/123456789/1823

Metrouh, R. (2022). Caractérisation d'une collection de bactéries lactiques autochtones : étude des propriétés biotechnologiques et probiotiques. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques, Spécialité: Microbiologie Appliquée, Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi**,** Tébessa, Algérie.185p.

Mezhoud, M. (2024). La Nigelle, *Nigella sativa* L. une plante au grand potentiel officinal. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Montpellier, Montpellier, France. 146 p. https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04836094.

Moll G.N., Roberts G.C.K., Konings W.N., Driessen A.J.M. (1996). Mechanism of lantibioticinduced pore-formation. Antonie van Leeuwenhoek. 69: 185-191.

Moussa, K. (2024). Extraction et caractérisation des huiles essentielles et des extraits des trois plantes Curcuma, Absinthe, la corète potagère : étude comparative de leurs éléments minéraux. Thèse de doctorat en chimie. Université Mustapha Stambouli de Mascara, Algérie. 159 p.

N

Naab D., Hadibi S. (2018). Evaluation de l'activité antimicrobienne des deux huiles essentielles Zingiber officinale et Rosmarinus officinalis en combinaison avec la nisine. Mémoire de Master : Biotechnologie microbienne : Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, 101p.

NCCLS (2002) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, Approved Standard. 2nd Edition, NCCLS Document M31-A2 22(6), Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

Nebie, B. (2023). Composition chimique et activités biologiques d'huiles essentielles obtenues par co-distillation de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso. Thèse de doctorat en sciences et technologies, spécialité : chimie organique/substances naturelles, Université Nazi Boni, Burkina Faso. 185 p. [04/09/2023].

Nicosia, F. D., Puglisi, I., Pino, A., Caggia, C., & Randazzo, C. L. (2022). Plant milk-clotting enzymes for cheesemaking. Foods, 11(6), 871 p. https://doi.org/10.3390/foods11060871

Nitu, S., Geicu-Cristea, M., & Matei, F. (2021). Milk-clotting enzymes obtained from plants in cheesemaking-a review.Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies, 25(1). 66–75.

Nouar, I. E. H. (2025). Extraction et identification des composés chimiques des huiles essentielles et extraits d'*Arbutus unedo* L., *Acacia farnesiana* L. et *Pistacia lentiscus* L. dans différents biotopes de l'Ouest algérien Thèse de doctorat en Écologie et Environnement, Université Ibn-Khaldoun, Tiaret, Algérie. 155 p. http://dspace.univ-tiaret.dz:80/handle/123456789/16847.

O

Omrani, A., Sboui, A., Hamouda, M., Dbara, M., Hammadi, M., & Khorchani, T. (2025). Potentiels des plantes dans l'amélioration de la qualité du fromage et du yaourt au lait de chamelle. INRAE Productions Animales, 38(3), 8383-8383.

P

Parada Fabián, J. C., Álvarez Contreras, A. K., Natividad Bonifacio, I., Hernández Robles, M. F., Vázquez Quiñones, C. R., Quiñones Ramírez, E. I., & Vázquez Salinas, C. (2025). Toward safer and sustainable food preservation: A comprehensive review of bacteriocins in the food industry. Bioscience Reports, 45(04), 277–302. https://doi.org/10.1042/BSR20241594.

PÉCIFICATION TECHNIQUE ISO/TS 11869 FIL/MR 150. Laits fermentés — Détermination de l'acidité titrable — Méthode potentiométrique. Première édition 2012-01-15.

Penland, M. (2020). Etude de la diversité microbienne de produits fermentés traditionnels méditerranéens: olives de table et fromage de chèvre. Thése de doctorat en Microbiologie et Parasitologie, Université de Bretagne occidentale-Brest, France, 335 p. [21 Mars 2022].

Pibiri M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes dePonce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT-Food Science and Technology, 36(7) : 679-684 https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4.

Popa, E. E., Miteluț, A. C., Râpă, M., Popescu, P. A., Drăghici, M. C., Geicu-Cristea, M., & Popa, M. E. (2022). Antimicrobial active packaging containing nisin for preservation of products of animal origin: An overview. Foods, 11(23), 3820. https://doi.org/10.3390/foods11233820.

Porwal, O., Koye, B.J., Bahdeen, K., Abdulqadir, S.K., Khurshid, R.S.H., Abdlarhman, A., Abdalwahid, R., Al-Khafaf, L.R., & Kamal, S.K. (2025). A review on comparative studies on chemical composition and biological properties of *Mentha piperita* L. with special reference to Kurdistan, Iraq. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 15(5), 219-231. https://doi.org/10.22270/jddt.v15i5.7155.

Proutière, A. (2020). Biosynthèse, mécanisme d'action et régulation d'une bactériocine sécrétée par *Streptococcus gallolyticus.* Thèse de doctorat en microbiologie, Université de Paris, France, 199 p. [01/12/20].

Putri, D.A., Lei, J., Rossiana, N., & Syaputri, Y. (2024). Biopreservation of Food Using Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Classification, Mechanisms, and Commercial Applications. International Journal of Microbiology, 2024, 8723968, 1-18. https://doi.org/10.1155/ijm/8723968.

Q

Quynh My, O. (2019). Caractérisation physico-chimique et microbiologique des fromages fermiers. Master en bioingénieur : chimie et bioindustries, à finalité spécialisée http://hdl.handle.net/2268.2/7711**.**

R

Rais, R., Ziyate, N., Soubai, Z., Chaqchaq, R., Al-Eissa, M. S., Al-Zharani, M., Aanniz, T., & Bouyahya, A. (2025). Harnessing essential oils for sustainable food preservatives: chemical composition,

mechanisms, applications, and safety insights. Food Chemistry, 30, 102943. 1-26. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102943.

Regguem, S. (2022). Hygiène des procédés et germes indicateurs dans l'industrie laitière : dans deux unités de production laitière. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires, École nationale supérieure vétérinaire Rabie Bouchama, Alger, Algérie. 131 p. [05/05/2022].

Rhiat Mohammed ., Hicham Labioui. ,Abdelhak Driouich., Mahjoub Aouane., Youness Chbab., Abdelhak Driouich., Zakaria Mennane Et Mohammed Ouhssine. (2011). Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl , BP 133, 14000 Kenitra, Maroc.

Rulence, A. (2023). Mise en œuvre de procédés membranaires pour la séparation sélective de la nisine à partir de surnageants de cultures complexes. Thèses de doctorat en cotutelle en biotechnologies, agroalimentaires, sciences de l'aliment, physiologie et en sciences des aliments, Université de Lille, Lille, France, et Université Laval, Québec, Canada. 145 p. [12/07/2023].

S

Saci, A., Gharbi, S., Djadouni, F., Karkachi, N. (2025). Screening of Five Lactobacillus Bacteria with Probiotic Properties from Indigenous Klila Cheese. The North African Journal of Food and Nutrition Research, 9 (20), 59–73. https://doi.org/10.51745/najfnr.9.20.59-73.

Salah, R. Y. M., Mahmoudi, R., Mancer, W., & Tazdait, D. (2017). Effect of total solids and fat contents on titratable acidity and sensory properties of set-type yoghurt. Journal of Advances in Food Science & Technology, 4(1), 31–37. https://ikprress.org/index.php/JAFSAT/article/view/3661.

Salma S., Zerifi S (2015). Étude microbiologique d'un fromage frais de type « Jben » commercialisé au niveau des laiteries traditionnelles dans la région de Tébessa. Mémoire de master. Option microbiologie appliquée.

Samet L., Aouad S. (2023). Antimicrobial activity of bacteriocinogenic lactic acid bacteria and the effectiveness of essential oils of Artemisia herba and Ruta montana against ESBL producing Enterobacteriaceae (resistant to antibiotics). Mémoire de Master en Microbiologie Appliquée. Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi- TEBESSA. 103p.

Saqib, S., Ullah, F., Naeem, M., Younas, M., Ayaz, A., Ali, S., & Zaman, W. (2022). *Mentha*: nutritional and health attributes to treat various ailments including cardiovascular diseases. Molecules, 27(19), 6728. [9/10/2022]. https://doi.org/10.3390/molecules27196728.

Sebbane, H. (2021). Caractéristiques du lait et évaluation de la phase d'affinage des fromages a pâte molle type camembert fabriqués dans la région de Tizi-Ouzou à partir du lait cru ou du lait pasteurisé. Thése de doctorat en Sciences Biologiques, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie, 143 p.

Sécurité alimentaires. Wolters Kluwer, France. 287p.

Setiarto, R. H. B., & Anshory, L. (2023). Bacteriocin, Plantaricin and Pediocin Biosynthesis in Lactic Acid Bacteria, Antimicrobial Mechanism and Applications as Food Preservatives: Review. CURRENT APPLIED SCIENCE AND TECHNOLOGY, 24(1), 1-19. https://doi.org/10.55003/cast.2023.258161.

Setiarto, R. H. B., Anshory, L., & Wardana, A. A. (2023). Biosynthesis of nisin, antimicrobial mechanism and its applications as a food preservation: A review. In *IOP* Conference Series: Earth and Environmental Science, 1169 (1), 1-7. 10.1088/1755-1315/1169/1/012105.

Shahbazi, Y. (2015). *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin as potential antimicrobial agents against *Escherichia coli* O157:H7 in Doogh (Iranian Yoghurt Drink). Journal of Pathogens, 176024, 1-7. https://doi.org/10.1155/2015/176024.

Siboukeur, A. (2018). Etude d'une bactériocine (type nisine) produite par deux souches de bactéries lactiques (Lactococcus lactis subsp. lactis) isolées à partir des laits camelin et caprin et essai d'application dans la bioconservation des viandes, Thèse de doctorat en Sciences Biologiques, Spécialité : Microbiologie, Université Kasdi Merbah Ouargla, Ouargla, Algérie. 166 p.

Souiy, Z. (2023). Essential Oil Extraction Process. In Essential Oils – Recent Advances, New Perspectives and Applications, 113311.1–12 p. https://doi.org/10.5772/intechopen.

Soumahoro, B. (2022). Étude comparative de la composition chimique des feuilles de *Hyptis suaveolens* L. Poit. (Lamiaceae) avant et après extraction de l'huile essentielle. Thèse de doctorat en chimie organique et substances naturelles, Institut national polytechnique Félix Houphouët-Boigny, République de Côte d'Ivoire. 288 p.

T

TABET, R. (2024). Caractérisation biochimique et évaluation de la qualité microbiologique d'un fromage artisanal « Jben » fabriqué dans les régions de l'est Algérien. Thèse de doctorat en sciences, Spécialité : Biochimie, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algerie.164 p.

Tadjine, D., Boudalia, S., Bousbia, A., Gueroui, Y., Symeon, G., Mebirouk Boudechiche, L;Tadjine, A ;& Chemmam, M. (2021). Milk heat treatment affects microbial characteristics of cows' and goats'

"Jben" traditional fresh cheeses. Food Science and Technology, 41(1), 136-143. DOI: https://doi.org/10.1590/fst.00620.

Tavares, T. D., Ribeiro, A. R. M., Silva, C., Antunes, J. C., & Felgueiras, H. P. (2024). Combinatory effect of nisin antimicrobial peptide with bioactive molecules: A review. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 91, 105246.1-14. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105246.
Tavares, T. D., Ribeiro, A. R. M., Silva, C., Antunes, J. C., & Felgueiras, H. P. (2024). Combinatory effect of nisin antimicrobial peptide with bioactive molecules: A review. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 91, 105246.1-14. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105246.
Thieulon M. (2005). Lait pathogènes staphylocoques. Revue de la chambre d'agriculture du Cantal. pp1-2.

Tita, M.A., Constantinescu, M.A., Georgescu, C., Canciu, A.M., Iancu, M.L., & Tita, O. (2025). Investigation of Antioxidant Capacity, Chemical Composition, and Sensory Characteristics Using Camu-Camu Powder in the Production of Fresh Cow's Cheese. Applied Sciences, 15(12071), 15 (12071), 1–15. https://doi.org/10.3390/app15221207.

Tsouli Sarhir, S., Amanpour, A., Bouseta, A., & Selli, S. (2022). Potent odorants and sensory characteristics of the soft white cheese "Jben": Effect of salt content. Flavour Fragr Journal, 1–11.https://doi.org/10.1002/ffj.3696.

Turgis, M., Vu, K. D., Dupont, C., & Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. Food Research International, 48(2), 696–702. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.016

Typhaine, M. (2025). Origine du microbiote naturel de deux variétés de fromages du terroir québécois et détermination de la sensibilité d'espèces d'intérêt aux assainisseurs. Thèse de doctorat en sciences des aliments, Université Laval, Québec, Canada. 152 p.

Uzun, P., Serrapica, F., Masucci, F., Assunta, B. C. M., Yildiz, H., Grasso, F., & Di Francia, A. (2020). Diversity of traditional Caciocavallo cheeses produced in Italy.

V

Viglietta, A. (2024). L'huile essentielle de menthe poivrée : état des connaissances et espoirs thérapeutiques. Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques, Université de Poitiers, France, 112 p. [08/03/2024].

Vigneux, M. P. (2023). Impact du caséinate de sodium sur les propriétés fromagères des concentrés d'osmose inverse modèles. Thèse de doctorat en sciences des aliments, Université Laval, Québec, Canada, 154 p.

Villarreal, L. A., Ladero, V., Sarquis, A., Martinez, B., Rio, B. D., & Alvarez, M. A. (2024). Bacteriocins against biogenic amine-accumulating lactic acid bacteria in cheese: Nisin A shows the broadest antimicrobial spectrum and prevents the formation of biofilms. Journal of Dairy Science, 107 (7), 4277–4287. https://doi.org/10.3168/jds.2023-24358.

Von Gastrow, L. (2021). Dynamique des communautés microbiennes de produits fermentés entretenus par 'back-slopping', une démarche de recherche participative. Sciences agricoles. Université Montpellier,.Français. ⟨NNT : 2021MONTG045⟩. ⟨tel-03558219⟩.

Vora, L. K., Gholap, A. D., Hatvate, N. T., Naren, P., Khan, S., Chavda, V. P., Balar, P. C., Gandhi, J. & Khatri, D. K. (2024). Essential oils for clinical aromatherapy: A comprehensive review. Journal of Ethnopharmacology, *330*, 118180. 1-21. https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118180.

Vukić, D., Pavlić, B., Vukić, V., Iličić, M., Kanurić, K., Bjekić, M., & Zeković, Z. (2022). Antioxidative capacity of fresh kombucha cheese fortified with sage herbal dust and its preparations. Journal of Food Science and Technology, *59*(6), 2274–2283. https://doi.org/10.1007/s13197-021-05241-y.

Vukić, V., Degenek, J., Kanurić, K., Vukić, D., Pavlić, B., Iličić, M., Kocić-Tanackov, S., Mrkonjić, Ž., Bulut, S., & Zeković, Z. (2024). The effect of *Thymus serpyllum L*. and its preparations on reduction of *L. monocytogenes* and *S. aureus* in Kombucha Fresh Cheese.Processes, 12(1187), 1–12. https://doi.org/10.3390/pr12061187.

W

Wang, R., Yu, S., Huang, Y., & Liu, Y. (2023). Synthesis, high yield strategy and application of nisin: A review. International Journal of Food Science and Technology, 58(6), 2829–2841. https://doi.org/10.1111/ijfs.16418.

Y

Yang, S., Zhang, Y., Wang, Y., Qin, R., Chen, Y., Hu, H., Liu, Z., Hu, Y., Hua, Q., Wu, Y., & Liu, Z. (2025). A study of antibacterial activity and mechanism of potassium cinnamate intended as a natural preservative. LWT - Food Science and Technology, 215 (117237), 1-11. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117237.

Yu, W., Guo, J., Liu, Y., Xue, X., Wang, X., Wei, L., & Ma, J. (2023). Potential impact of combined inhibition by bacteriocins and chemical substances of foodborne pathogenic and spoilage bacteria: a review. *Foods, 12*(16), 1-19. https://doi.org/10.3390/foods12163128.

Z

Zaker-Esteghamati, H., Seidavi, A., & Bouyeh, M. (2021). Effect of Cynara scolymus and its derivatives on broilers: an updated review. Animal Biotechnology, 32 (5), 656-662. [10 Mars 2020]. https://doi.org/10.1080/10495398. 2020.1737097

Zaouadi, N. (2020). Valorisation des protéines et de substances actives extraites de plantes (Atriplex *halimus*, *Griffonia simplicifolia*, et *Lupinus albus*,) comme additifs dans la formulation de produits alimentaires diététiques. Thèse de doctorat en nutrition et transformation des aliments, université Saad Dahleb, Blida, Algérie .281 p.

Zhang, X., Zheng, Y., Liu, Z., Su, M., Wu, Z., Zhang, H., Zhang, C., & Xu, X. (2024). Insights into characteristic metabolites and potential bioactive peptides profiles of fresh cheese fermented with three novel probiotics based metabolomics and peptidomics. Food Chemistry, X (21), 1-12. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101147.

Zhao, X., Shi, C., Meng, R., Liu, Z., Huang, Y., Zhao, Z., & Guo, N. (2016). *Effect of nisin and perilla oil combination against Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus in milk.* Journal of Food Science and Technology, 53(6), 2644–2653. https://doi.org/10.1007/s13197-016-2236-6.

Zikou, A, (2021). Valorisation de fleurs de cardon algérien : caractérisation, action coagulante sur le lait et fabrication de fromage. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaire, Université Frères Mentouri Constantine 1, Constantine, Algérie. 173 p. [26/01/2021].

LES ANNEXES

Annexe A : Liste de matériel utilisé (Verrerie, instruments et consommable, appareillage, réactifs, produits et colorants)

Verreries	Instruments et consommables	Appareils	Réactifs, produits et Colorants
• Pipette Pasteur en verre stérile • Béchers • Flacons en verre • Tubes à essai • Eprouvettes • Bocaux en verre • Un ballon en verre à fond rond de 1 litre	• Spatule • Seringues • Boites de pétrie • Barreau magnétique • Micropipettes1000µl • Micropipettes 500µl • Portoirs • Anse de platine • Pince • Ecouvillons • Lames • Tubes Eppendorf • Disques en papier (Whattman n°4) • Microplaques à 96 puits • Louche • Mousseline • Pissette • Casserole • Passoire • Récipient • papier aluminium • papier absorbant • marqueur permanent	• Appareil Clevenger • Balance électrique de précision • Balance électronique • Etuve à 37°C • Etuve à 44°C • Réfrigérateur • Agitateur • Cocotte autoclave • Microscope optique • Bec bunsen • Stérilisateur • Thermomètre à sonde	• Eaux distillées • Eaux physiologiques • Eau oxygéné • Chlorure de sodium Na Cl • Violet de Gentiane • Lugol • Fushine • Ethanol • Huile d'imersion • Sulfite de Sodium • Alun de fer huile de paraffine

Annexe B : Composition et préparation des milieux de culture utilisés pour 1 litre de milieu.

1. Gélose nutritif (GN)

Composition

- Peptone de viande ..... 5,0 g
- Extrait de viande de bœuf. ..... 3,0 g
- Agar-agar..... 12,0 g

pH = 7,0 ± 0,2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 20,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer progressivement sous agitation continue jusqu'à dissolution complète.
- Distribuer la solution dans des flacons.
- Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir le milieu à 45-50°C.

2. Gélose Mueller - Hinton agar (MH)

Composition

- Extrait de viande de bœuf. ..... 2,0 g
- Hydrolysat acide de caséine..... 17,5g
- Amidon ..... 1,5 g
- Agar 17g

pH=7,3 ± 0,2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 38 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer progressivement sous agitation continue jusqu'à dissolution complète.
- Distribuer la solution dans des flacons.
- Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir le milieu à 45-50°C.

3. Violet Red Bile Lactose Agar (VRBL)

Composition

- Peptone.....7,0 g
- Extrait de levure..... 3,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Lactose ..... 10,0 g
- Sels biliaires ..... 1,5 g
- Rouge neutre ..... 0,03 g
- Cristal violet..... 0,002 g
- Agar-agar.....13,0 g

pH= 7 ,4 ± 0,2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 39,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer progressivement sous agitation continue jusqu'à dissolution complète.
- Par la suite, ne pas laisser bouillir plus de 2 minutes.
- Ne pas autoclaver.
- Laisser refroidir le milieu à 45-48°C.
- Couler aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles.
- Laisser solidifier à température ambiante.

4.Gélose SS (*Salmonella- Shigella*)

Composition

- Extrait de viande de bœuf.....
  5,0 g
- Mélange de peptones.....5,0 g
- Lactose ..... 10,0 g
- Sels biliaires ..... 8,5 g
- Citrate de sodium ..... 8,5 g

- Thiosulfate de sodium ..... 8,5 g
- Citrate ferrique ..... 1,0 g
- Agar bactériologique ..... 13,5 g
- Rouge neutre ..... 0,025 g
- Vert brillant ..... 0,0003 g

pH=7,0 ± 0,2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 60 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer progressivement sous agitation continue et porter à ébullition pendant une minute jusqu'à dissolution

  Complète.
- ne pas autoclaver.
- Laisser refroidir le milieu à 45 - 50 °C.
- Couler aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles.
- Laisser solidifier à température ambiante.

5. Gélose Chapman

Composition

- Peptone.....10 g
- Extrait de viande de bœuf ..... 1 g
- Mannitol..... 10 g
- Chlorure de sodium (Na Cl).....75 g
- Rouge de phénol .....0.025 g
- Agar .....15 g

pH = 7.4 ± 0.2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 111 g de poudre dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer doucement sous agitation jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- Laisser refroidir le milieu à 45–50°C.
- Couler aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles.
- Laisser solidifier à température ambiante.
- Conserver à 4°C jusqu'à utilisation.

6. Gélose Viande – Foie (VF)

Composition

- Peptone viande - foie ..... 20,0 g
- Glucose ..... 0,75 g
- Amidon ..... 0,75 g
- Citrate d'ammonium ferrique .....0,5 g
- Agar ..... 11,0 g

pH = 7,6 ± 0,2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 34,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Faire chauffer dans de l'eau bouillante et agiter fréquemment jusqu'à dissolution complète.
- Distribuer la solution dans des flacons.
- Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir le milieu à 45-50 °C.

7. Gélose Sabouraud

Composition

- Peptone ..... 10,0 g
- Glucose.....40,0 g
- Agar.....15,0 g

pH=5 ,6 ± 0,2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 65,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Faire chauffer dans de l'eau bouillante et agiter fréquemment jusqu'à dissolution complète.
- Distribuer la solution dans des flacons.
- Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir le milieu à 45-50 °C.

8. Gélose Hektoen

Composition

- Peptone..... 12 g
- Extrait de levure..... 3 g
- Lactose .....12 g
- Saccharose.....12 g
- Salicine..... 2 g
- Chlorure de sodium (Na Cl)..... 5 g
- Désoxycholate de sodium .....3.5 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....1.5
- Thiosulfate de sodium..... 5 g
- Bleu de bromothymol.....0.065 g
- Fuchsine acide..... 0.1 g
- Agar.....15 g

pH = 7.5 ± 0.2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 80 g de milieu déshydraté Hektoen dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer progressivement sous agitation continue et porter à ébullition légère jusqu'à dissolution complète.
- Ne pas autoclaver.
- Laisser refroidir le milieu à 45–50°C.
- Couler aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles
- .Laisser solidifier à température ambiante.

9 .Gélose MRS (Man, Rogosa et Sharpe)

Composition

- Peptone .....10 g
- Extrait de viande de bœuf..... 10 g
- Extrait de levure.....5 g
- Glucose .....20 g
- Citrate d'ammonium..... 2 g
- Acétate de sodium.....5 g
- Sulfate de magnésium ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ..... 0.1 g
- Sulfate de manganèse ($MnSO_4 \cdot H_2O$).....0.05 g

- Phosphate di potassique (K_2HPO_4)..... 2g
- Tween 80 .....1mL
- Agar .....15 g

pH = 6.2 ± 0.2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 70 g de poudre de milieu MRS dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer doucement sous agitation jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir le milieu à 45–50°C.
- Couler aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles.
- Laisser solidifier à température ambiante.
- Conserver à 4°C jusqu'à utilisation

10. Bouillon nutritif (BN)

Composition

- Peptone de viande .....5,0 g
- Chlorure de sodium (Na Cl).....5,0 g
- Extrait de viande de bœuf..... 1,5 g
- Extrait de levure..... 1,5 g

pH=7,4 ± 0,2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 13,0 g de poudre dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer doucement jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir à température ambiante.

11. Bouillon Tryptone-sel

Composition

- Tryptone.....1 g
- Na Cl..... 8,5 g

Préparation

- Dissoudre 8,5 g de Na Cl et 1 g de tryptone dans 1 litre d'eau distillée

- Remuer doucement jusqu'à dissolution complète..
- Distribuer la solution dans des flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 à 20 minutes.
- Laisser refroidir le milieu à température ambiante.

12. Bouillon Mueller-Hinton

Composition

- Hydrolysat acide de caséine ..... 17.5 g
- Extrait de viande de bœuf .....3 g
- Amidon (amidon soluble) .....1.5 g

pH = 7.4 ± 0.2 à 25°C

Préparation

- Dissoudre 22 g de poudre de bouillon Mueller-Hinton dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer doucement sous agitation jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir à température ambiante

Annexe C : Résultats des analyses physicochimiques

LABORATOIRE DE CONTROLE QUALITE ET DE CONFORMITE

KHALFAOUI CHIHAB EDDINE

CHIHAB LAB

Autorisation ministérielle N°004 DU 22 /02/2018

ADRESSE : ZONE D ACTIVITE ET DE STOCKAGE

RTE ANNABA Local 114 /03 ; Tébessa/ALGERIE

Tel : +213 550 324 430/+213 561 905 216

Mail : chook8419@Gmail.com

CHIHAB.LAB

BULLETIN D'ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

RAPPORT N° PH 177/26

CLIENT

•*CLIENT: MECHAI ABD EL BASSET*

•*ADRESSE:* TEBESSA

ECHANTILLON

•ID echantillon F 200A prelevé le : 17/03/2026 PREL PAR TECH LABO

•denomination FROMAGE (ECHANTIOLLN D'ESSAIS)

•nature: FROMAGE FRAIS (Témoin A PH)

resultats

•recu le 17/03/2026 A 10H

•lancé le 17/03/2026

FACTEURS PHYSICO CHIMIQUES :

Paramètre	Résultats	Méthode
Teneur en matière sèche	22.77%	Arrêté du 08/12/2013
Teneur en matière grasse	13%	Arrêté du 17/12/2013
Détermination du pH	4.46	CHIMIE –VII-9
SALINITE	2.26	/
Détermination de la teneur en matière grasse par rapport à la matière sèche	57.09 %	Arrêté du 17/12/2013

NB : ce résultat est représentatif seulement pour l'échantillon prélevé le 17/03/2026

EDITEE LE 18/03/2026

LE DIRECTEUR DU LABORATOIRE

CHIHAB LAB KHALFAOUI Chihabeddine Autorisation Ministère du Commerce N°00- du 22 Fevr 2018 Laboratoire de Contrôle de Qualité et de Conformité

FROMAGE

17/03/2026 Page 1 sur 1

LABORATOIRE DE CONTROLE QUALITE ET DE CONFORMITE
KHALFAOUI CHIHAB EDDINE
CHIHAB LAB
Autorisation ministérielle N°004 DU 22 /02/2018
ADRESSE : ZONE D ACTIVITE ET DE STOCKAGE
RTE ANNABA Local 114 /03 ; Tébessa/ALGERIE
Tel : +213 550 324 430/+213 561 905 216
Mail : chook8419@Gmail.com

BULLETIN D'ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

RAPPORT N° PH 161/26

CLIENT
•CLIENT: MECHAI ABD EL BASSET
•ADRESSE: TEBESSA

ECHANTILLON
•ID echantillon F 184A prelevé le : 12/03/2026 PREL PAR TECH LABO
•denomination FROMAGE (ECHANTIOLLN D'ESSAIS)
•nature: FROMAGE FRAIS (HE 1%)

resultats
•recu le 12/03/2026 A 10H
•lancé le 12/03/2026

FACTEURS PHYSICO CHIMIQUES :

Paramètre	Résultats	Méthode
Teneur en matière sèche	42.95%	Arrêté du 08/12/2013
Teneur en matière grasse	22.16%	Arrêté du 17/12/2013
Détermination du pH	4.90	CHIMIE –VII-9
SALINITE	3.34	/
Détermination de la teneur en matière grasse par rapport à la matière sèche	51.59%	Arrêté du 17/12/2013

NB : ce résultat est représentatif seulement pour l'échantillon prélevé le 12/03/2026

EDITEE LE 18/03/2026

LE DIRECTEUR DU LABORATOIRE

CHIHAB LAB KHALFAOUI Chihabeddine Autorisation Ministère du Commerce N° 004 du 22 Fév. 2018 Laboratoire de Contrôle de Qualité et de Conformité

FROMAGE
12/03/2026 Page 1 sur 1

LABORATOIRE DE CONTROLE QUALITE ET DE CONFORMITE
KHALFAOUI CHIHAB EDDINE
CHIHAB LAB
Autorisation ministérielle N°004 DU 22 /02/2018
ADRESSE : ZONE D ACTIVITE ET DE STOCKAGE
RTE ANNABA Local 114 /03 ; Tébessa/ALGERIE
Tel : +213 550 324 430/+213 561 905 216
Mail : chook8419@Gmail.com

BULLETIN D'ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

RAPPORT N° PH 178/26

CLIENT
- *CLIENT: MECHAI ABD EL BASSET*
- *ADRESSE:* TEBESSA

ECHANTILLON
- ID echantillon F 201A — prelevé le : 17/03/2026 — PREL PAR TECH LABO
- denomination FROMAGE (ECHANTIOLLN D'ESSAIS)
- nature: FROMAGE FRAIS (HE 2%)

resultats
- recu le 17/03/2026 A 10H
- lancé le 17/03/2026

FACTEURS PHYSICO CHIMIQUES :

Paramètre	Résultats	Méthode
Teneur en matière sèche	31.28%	Arrêté du 08/12/2013
Teneur en matière grasse	15.2%	Arrêté du 17/12/2013
Détermination du pH	4.49	CHIMIE –VII-9
SALINITE	2.38	/
Détermination de la teneur en matière grasse par rapport à la matière sèche	48.59%	Arrêté du 17/12/2013

NB : ce résultat est représentatif seulement pour l'échantillon prélevé **le 17/03/2026**

EDITEE LE 18/03/2026

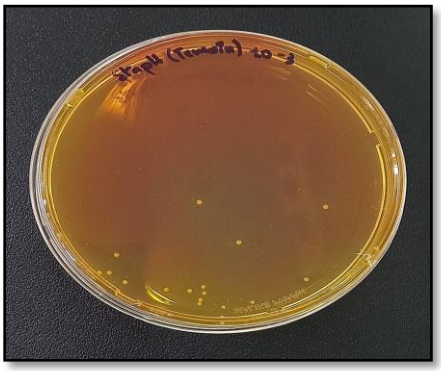
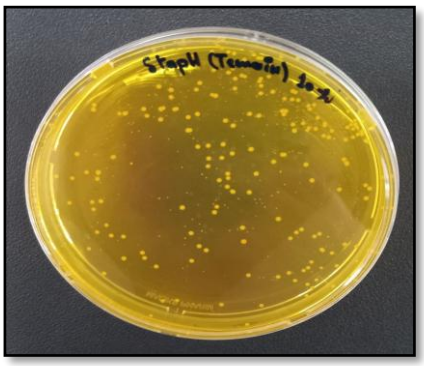
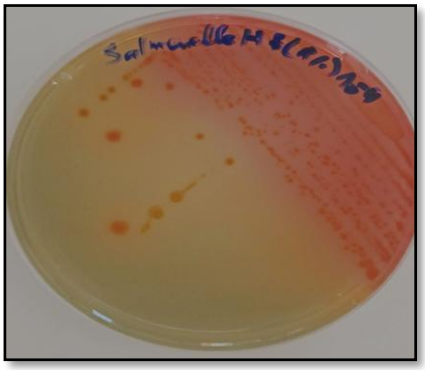
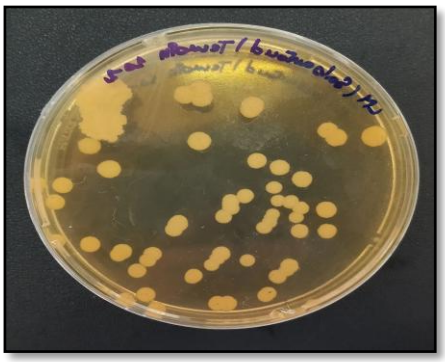
LE DIRECTEUR DU LABORATOIRE

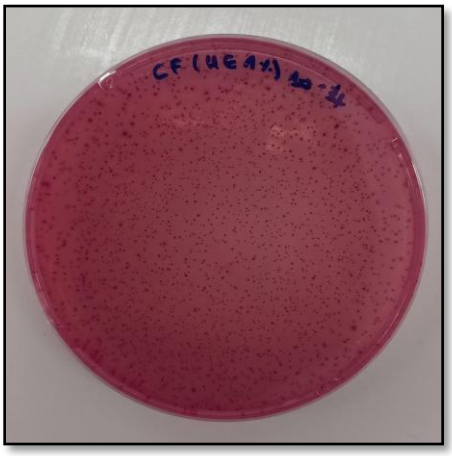
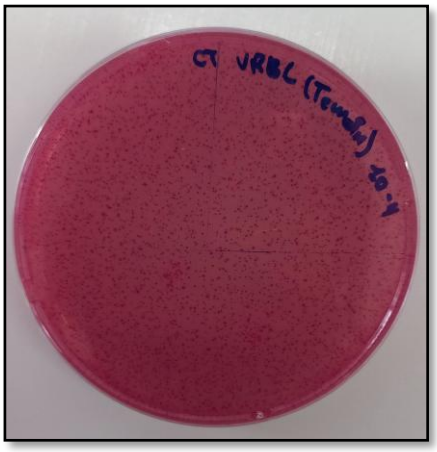
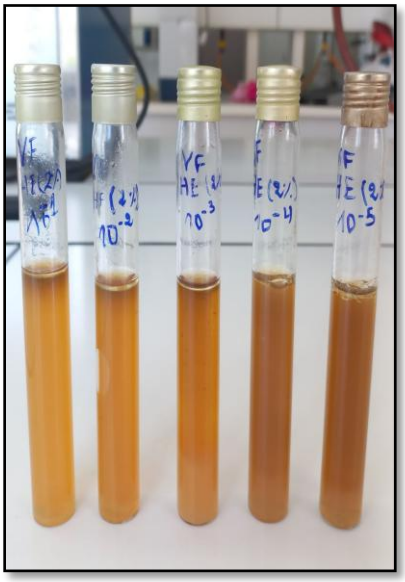
CHIHAB LAB KHALFAOUI Chihabeddine Autorisation Ministère du Commerce N° 004 du 22 Fevr 2018 Laboratoire de Contrôle de Qualité et de Conformité

FROMAGE

17/03/2026 Page 1 sur 1

Annexe D : Résultat des analyses microbiologique

Flores	Résultat
Bactéries Lactiques sur Milieu MRS	 
Staphylocoques sur milieu chapman	 
Absence de salmonelles sur milieu Hecktoen et SS	 
Levures et moisissures sur milieu Sabouraur	 

Coliformes totaux et fécaux sur milieu VRBL	 
Clostridium sulfito-réducteurs sur Milieu VF	 

Annexe E : Tableaux des résultats détaillés de l'analyse sensorielle du fromage frais traité par l'huile essentielle de *Mentha piperita* après 1 et 5 jours de conservation ,fiche de dégustation et échelle de notation.

Tableau 01 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 1% de l`huile essentielle de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).

	FNT1 01j	FNT1 05j	FTHE1 01j	FTHE1 05j
couleur	**8,8**	**7,35**	**7,7**	**8,35**
odeur	**6,5**	**5,65**	**6,65**	**7,4**
texture collante	**8,2**	**7,9**	**8,6**	**8,35**
aspect grumeleux	**7,7**	**4,7**	**6,8**	**6,45**
aspect homogène	**7,9**	**6,8**	**6,65**	**6,8**
acidité	**7**	**7,2**	**6,7**	**7,05**
salinité	**7,3**	**6,55**	**5,75**	**6,75**
arrière-goût	**8,6**	**8,1**	**9,2**	**7,55**

Tableau 02 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 2% de l`huile essentielle de *Mentha piperita* (après 1 et 5 jours de conservation).

	FNT2 01j	FNT2 05j	FTHE2 01j	FTHE2 05j
couleur	**7,8**	**7,25**	**8,4**	**8**
odeur	**7,25**	**5,4**	**6,85**	**6**
texture collante	**8,2**	**8,15**	**8,35**	**8,1**
aspect grumeleux	**8**	**7,05**	**7,8**	**7,4**
aspect homogène	**7,6**	**8**	**8,05**	**7,75**
acidité	**6,75**	**5,6**	**6,55**	**5,5**
salinité	**7,65**	**6,4**	**8,7**	**7,25**
arrière-goût	**8,2**	**6,9**	**8,15**	**6,65**

Tableau 03 : Résultat de test sensoriel du fromage frais traité à 3% de l`huile essentielle de *Mentha piperita*

(après 1 et 5 jours de conservation).

	FNT3 01j	FNT3 05j	FTHE3 01j	FTHE3 05j
couleur	**8,2**	**8**	**8,5**	**8,7**
odeur	**6,5**	**7,7**	**6,9**	**7,6**
texture collante	**7,9**	**8,25**	**8,2**	**8,5**
aspect grumeleux	**7,25**	**7,55**	**9**	**8,9**
aspect homogène	**7,95**	**8,05**	**8,4**	**8,4**
acidité	**7,6**	**8,5**	**7,8**	**8,4**
salinité	**7,4**	**8,2**	**8**	**8,9**
arrière-goût	**8,55**	**8,75**	**8,6**	**8,9**

Fiche de dégustation

Critères organoleptiques	Echantillon Fromage sansHE	Echantillon 1 Formage avec HE 1%
Couleur		
Aspect homogène		
Aspect grumeleux		
Texture collante		
Odeur		
Acidité		
Salinité		
Arrière gout		

Les panelistes sont invités à noter les critères organoleptiques des fromages frais selon une Échelle de notation variable de 0 à 10 (Voir tableau ci-dessous).

Echelle de Notation :

Echelle de Notation	**0 – 1**	**2 – 3 - 4**	**5 - 6 - 7**	**8 – 9 – 10**
Couleur	Non acceptable	Moins acceptable	Acceptable	Très acceptable
Aspect homogène	Non homogène	Moins homogène	Acceptable	Très homogène
Aspect grumeleux	Très grumeleux	Grumeleux	Moins grumeleux	Non grumeleux
Texture collante	Très collante	Collante	Moins collante	Non collante
Odeur	Désagréable	Ordinaire	Moins collante	Très agréable
Acidité	Très acide	Acide	Légèrement acide	Non acide
Salinité	Très salé	Salé	Légèrement salé	Non salé
Arrière gout	Très amère	Amère	Légèrement amère	Non amère

Annexe F : coloration de Gram et Test de la catalase

1. Protocole de coloration de Gram

➢ Principe :

La coloration de Gram est une méthode de coloration différentielle utilisée en microbiologie pour distinguer les bactéries selon les caractéristiques structurales de leur paroi cellulaire. Elle repose sur la capacité des cellules bactériennes à retenir ou non le complexe violet de cristal–Lugol après l'étape de décoloration à l'alcool. Cette technique permet ainsi de différencier les bactéries Gram positives des bactéries Gram négatives.

➢ Préparation du frottis :

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile (Na Cl 0,9 %) ou d'eau distillée stérile sur une lame propre
- Dans la zone marquée (dans le cas d'une culture solide).
- Prélever une petite quantité de colonie bactérienne à l'aide d'une anse stérile.
- Émulsionner et étaler la colonie en couche mince sur la lame.
- Laisser sécher à l'air libre.
- Fixer le frottis à la chaleur.

➢ Procédure de coloration :

- Colorer le frottis avec le violet de cristal pendant 1 minute.
- Rincer rapidement à l'eau distillée.
- Ajouter la solution de Lugol pendant 1 minute.
- Rincer rapidement à l'eau distillée.
- Décolorer avec l'éthanol à 95 % pendant 15 à 30 secondes.
- Rincer immédiatement à l'eau distillée
- .Réaliser une contre-coloration avec la fuchsine pendant 10 à 30 secondes.
- Rincer brièvement à l'eau distillée.
- Sécher le frottis à l'aide d'un papier absorbant.

- Observer au microscope optique à l'objectif X100 à immersion.

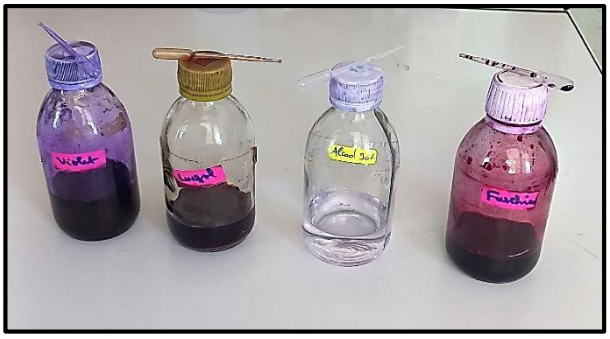
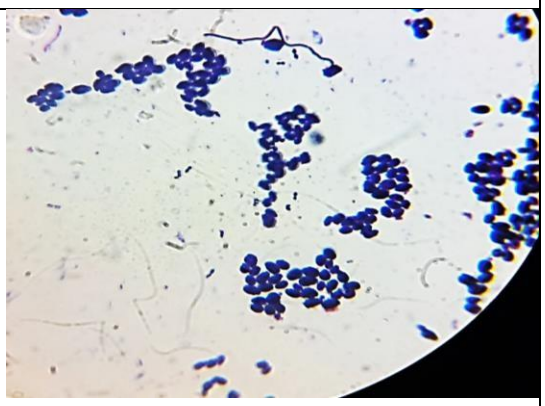
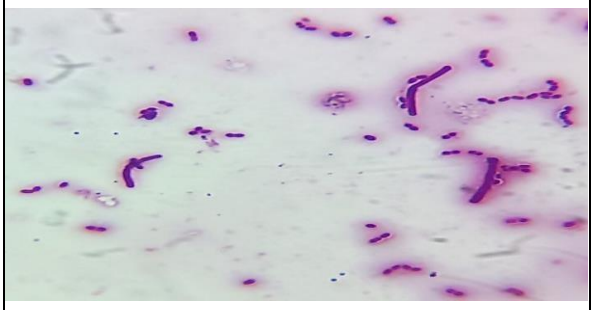
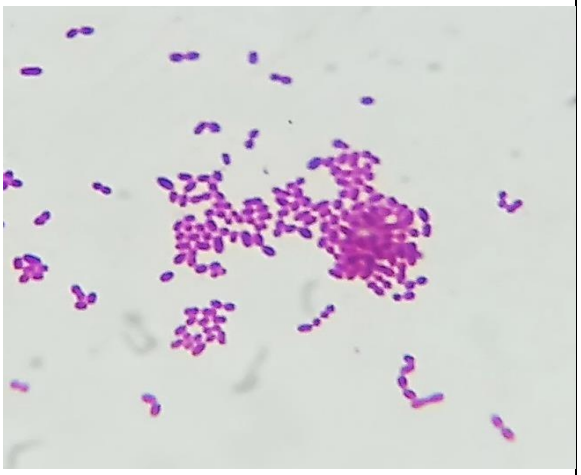


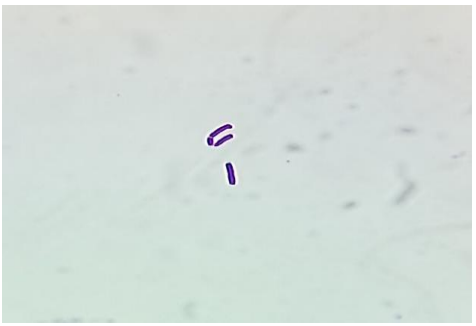
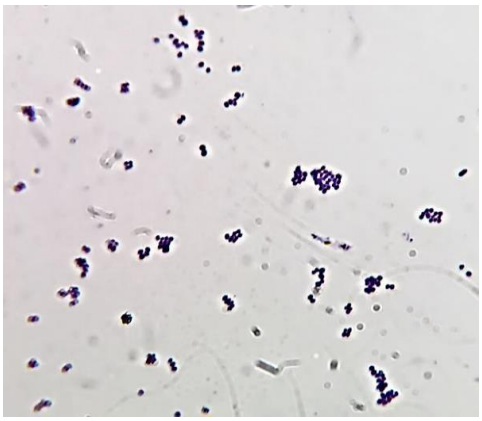
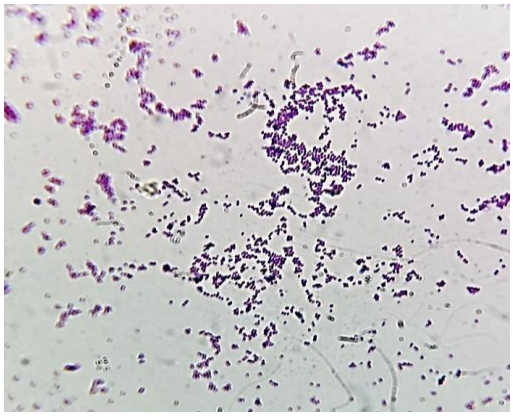
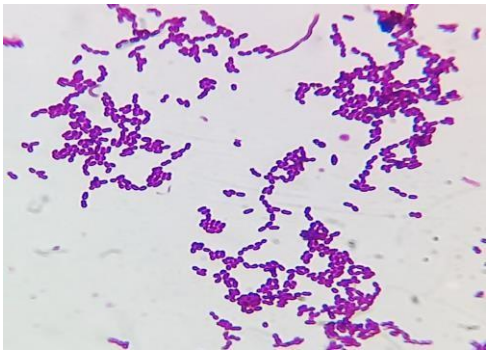
Figure 1 : Les différents réactifs de la technique de coloration de Gram.

➢ Résultats

- **Bactéries à Gram positif (Gram +) :** Elles apparaissent colorées en violet foncé. Cela est dû à leur paroi épaisse en peptidoglycane qui retient le complexe violet de cristal-Lugol, résistant ainsi à la décoloration par l'alcool.
- **Bactéries à Gram négatif (Gram -) :** Elles apparaissent colorées en rose ou rouge. Leur paroi, plus fine et riche en lipides, laisse passer l'alcool qui élimine le premier colorant ; elles fixent alors le contre-colorant la fuchsine.

Tableau 01 : Observation microscopique de différentes souches bactériennes : bactéries lactiques et *Staphylocoques* provenant du fromage, témoin et traité par l'huile essentielle de *Mentha piperita* à différentes concentrations (1% ; 2% ; 3%).

Bactéries	Description	Photo
Bactéries lactiques Témoin 10^{-1}	• Cocci à Gram positives en paire. • Bacilles à Gram positives. • *Lactobacilles* en chaînette • Levures.	
Bactéries lactiques Témoin 10^{-3}	Bacilles à Gram positives	
Bactéries lactiques HE (2 %) 10^{-1}	• Cocci à Gram positives en paire. • Cocci à Gram positives isolées. • Cocci à Gram positives en amas.	

Bactéries lactiques HE 10^{-3} (2 %)	• Bacille à Gram positives moyen. • Bacille à Gram positives en paire. • Bacille à Gram positives en courte chaînette.	
Staphylocoques Témoin 10^{-2}	• Cocci à Gram positives en tétrades. • Cocci à Gram positives en amas. • Cocci à Gram positives en courte chaînette. • Cocci à Gram positives isolé. • Cocci à Gram plus volumineux en paire.	
Staphylocoques HE (2%) 10^{-1}	• Cocci à Gram positives en paire. • Cocci à Gram positives en chaînette. • Cocci à Gram positives en amas irrégulier.	
Staphylocoques HE (2%) 10^{-2}	• Cocci à Gram positives en paire. • Cocci à Gram positives courte chaînette. • Cocci à Gram positives petite amas.	

2. Protocole du test de la catalase

➢ Principe

Le test de la catalase est une méthode biochimique qualitative utilisée pour mettre en évidence la présence de l'enzyme catalase chez les bactéries. Cette enzyme joue un rôle important dans la protection des cellules contre les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit au cours du métabolisme aérobie. La catalase décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



➢ Les étapes

- Prendre une lame propre et sèche.
- À l'aide d'une pipette Pasteur stérile en verre, déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 10 volumes) sur la lame.
- Prélever une colonie bactérienne fraîche à l'aide d'une anse stérile.
- Émulsionner délicatement la colonie bactérienne dans la goutte de peroxyde d'hydrogène.
- Observer immédiatement la réaction à température ambiante.
- Noter la présence ou l'absence de formation de bulles