



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur
et de La Recherche Scientifique.



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de :

Master Académique

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION : Microbiologie appliquée

Thème

**Essai de l'utilisation de l'huile essentielle de
Pulicaria odora L. dans la
bioconservation des produits carnés**

Présenté par:

- BOUZIANE Salma
- MEDJHED Chaima

Membres du jury :

Président: M. ZERAIB Azzedine

MCB Univ. Abbès Laghrouur –Khenchela

Promoteur : M. BOUSSAA Abdelhalim

MAA Univ. Abbès Laghrouur –Khenchela

Examineur: M. RAHAL Khaled

MAA Univ. Abbès Laghrouur –Khenchela

Année universitaire : 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicace

En premier lieu , je remercie le bon Dieu tout puissant , pour donné la force et l'audace pour dépasser tous les difficultés.

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents qui Dieu le protège et que Dieu offres une bonne santé et long vie.

A ma chère sœur Salîha pour sonsoutien dans ma tout carrière scolaire , j'espère que Dieu le rendra heureuse et réalisera ce qu'elle désire , si Dieu le veut .

*A mes chères et adorables frères **Abed erafik** , **Yacine** , **Karim** , **Nabil** et **Ramzi** , je vous souhaite une vie heureuse, plain de joies et bonheur , et j'espère que Dieu les protèges et les perpetues .*

*Sans oublier notre petite princesse et machère nièce **Assinet Djouri** , j'espère que Dieu la protège pour ses parents et en fera une bonne plante , je lui souhaite les plus hauts gardes, sile Dieu veut .*

*A ma chère amis et deuxième sœur **Wissal** , je souhaite une vie plain de succ »s et du réalisé ce que vous souhaitez .*

*A mon chère enclé **Bachir** , je souhaite que Dieu le garde pour sa famille et nous et le garde bonne santé et bien .*

A tous mes amis , A tout la promot de master 2 microbiologie appliquée .

*Je le dédie et je tiens à remercier vivement notr encadreure monsieur **Boussaa abelhalim** , pour ses conseiles et ses forces .*

Chaima



*D*edicaces

Avant tout je remercie « Allah » qui m'a donné le Courage, La volonté et la santé pour accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents mon père « Ammar » et ma mère « Messaouda » Pour leur patience leur amour leur sacrifice et leur précieux conseil, Qu'Allah leur procure bonne santé et longue vie.

A mes deuxième parents : mon oncle « Amor » et ma grande mère « Biya » Qui dieu le protège et prolonge leur vie.

A mon unique sœur : Ibtissem et leur mari merci pour votre amour, soutien et encouragement je souhaite bonheur vie.

A mes chers frères : Abderazak, Rami, Khir eddine et leur épouse Kaouther merci pour votre amour, soutien et encouragements.

A notre encadreur monsieur Boussaa Abdelhalim pour ses conseil et ses efforts mon profond respect pour lui.

A mes amis K, I, N, M, K, R, H, A, Z, et mon binôme, toute ma famille.

SALMA

Résumé

L'objectif du présent travail est l'élaboration d'un film d'emballage alimentaire de nouveau type fonctionnel à base de l'extrait d'une plante médicinale *Pulicaria odora*.

La macération des feuilles de cette plante avec quatre solvants (éthanol, méthanol, acétone et eau distillée), montré que l'éthanol donné le meilleur rendement de (8.38%).

Le dosage des polyphénols des extraits de *P. odora* indique que l'extrait méthanolique est le plus riche en phénols ($47,769 \pm 0,407$ mgEAG/g), et la teneur la plus faible a été enregistrée avec l'extrait d'acétone ($9,923 \pm 0,407$ mgEAG/g), de l'autre part l'extrait aqueux a donné la meilleur teneur en flavonoïdes ($367,190 \pm 89,972$ mgAQ/g).

L'essai de conservation de la viande hachée avec un emballage incorporé de l'extrait aqueux de *P. odora* a montré un abaissement de la flore total au cours de la conservation en comparant avec l'échantillon témoins.

Les mots clés ; *Pulicaria odora*, emballage bioactif, produit carné.

Abstract

The objective of this work is the development of a new functional food packaging based on the extract of a medicinal plant *Pulicaria odora*.

Maceration of the leaves of this plant with four solvents (ethanol, methanol, acetone and distilled water), showed that ethanol gave the best yield of (8.38%).

The determination of the polyphenols of the extracts of *P. odora* indicates that the methanolic extract is the richest in phenols (47.769 ± 0.407 mgEAG / g), and the lowest content was recorded with the acetone extract (9.923 ± 0.407 mgEAG / g), on the other hand the aqueous extract gave the best flavonoid content (367.190 ± 89.972 mgAQ / g).

The minced meat storage test with an incorporated package of the aqueous extract of *P. odora* showed a decrease in total flora during storage when compared to the control samples.

Keywords ; *Pulicaria odora*, bioactive packaging, meat product.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير عبوة طعام وظيفية جديدة تعتمد على مستخلص نبتة طبية معروفة بإسم

(أذن النعجة) *Pulicaria odora*.

نقع أوراق هذا النبات بأربعة مذيبات (إيثانول ، ميثانول ، أسيتون ، الماء المقطر) أظهر أن مستخلص الإيثانول أعطى أفضل محصول (8.38%).

يشير تحديد البوليفينول لمستخلصات *P. odora* إلى أن المستخلص الميثانول هو الأغنى بالفينولات (0.407 ± 47.769 مجم EAG / جم) ، وتم تسجيل أقل محتوى بمستخلص الأسيتون (9.923 ± 0.407 مجم EAG / جم) ، من ناحية أخرى ، أعطى المستخلص المائي أفضل محتوى من الفلافونويد ($89.972- + 367.190$ mgAQ / g).

أظهر اختبار تخزين اللحوم المفرومة مع عبوة مدمجة من المستخلص المائي لـ *P. odora* انخفاض في العدد الاجمالي للبكتيريا أثناء التخزين بالمقارنة مع عينات الشاهدة.

الكلمات الدالة : *Pulicaria odora* ,التعبئة والتغليف النشطة بيولوجيا ,منتجات اللحوم.

Liste des Abréviations

HEs : huiles essentielles.

FAO : Food and Agriculture Organisation.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

MO : microorganisme.

PE : Extrait Ethanolique de *Pulicaria*.

PW : Extrait d'eau de *Pulicaria*.

PM : Extrait Méthanolique de *Pulicaria*.

PA : Extrait d'Acétone de *Pulicaria*.

SFF : solution formant le film.

FS : films sans Extrait.

FT : films testés.

WVP : Perméabilité à la vapeur d'eau.

GN : gélose nutritif.

SS : Gélose Salmonella Shigella.

VF : Gélose Viande-Foie Glucosée.

MH : Mueller Hinton.

VRBL : le milieu gélosé lactose bilié au cristal violet et au rouge neutre.

Liste des Figures

Figure	Titre de figure	page
1	représentation de <i>Pulicaria odora</i> : 1- la plante, 2- les feuilles, 3- la fleur	4
2	Schéma représentes les substances bioactifs	10
3	schéma représenté le Protocol de préparation des Extraits de plante	16
4	schéma représenté le mode opératoire de dosage des polyphénols	17
5	schéma représenté le mode opératoire de dosage des flavonoïdes	18
6	Représentation graphique de teneur des polyphénols de <i>P. odora</i> par 4 solvants	25
7	Représentation graphique de teneur des flavonoïdes de <i>P. odora</i> par 4 solvants	26
8	Aspect visuelle du Film	27
9	graphe représenté les couleurs du film sans extrait	28
10	graphe représenté les couleurs de film avec extrait (PW)	28
11	la lecture des antibiogrammes à l'aide pied à coulisse	31
12	Pouvoir antibactériennes des extraits des feuilles <i>P. odora</i>	32
13	Graphe représenté le comptage de la charge de FTAM lors de conservation.	34

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Classification de <i>Pulicaria odora</i>	5
2	Rendement d'extraction des composés phénoliques de <i>Pulicaria odora</i>	24
3	représenté l'opacité de film	29
4	les valeurs de perméabilité de deux films	30
5	l'hydrosolubilité des films	30
6	résultat d'analyse microbiologique de la viande	33

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicace

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralité sur *Pulicaria odora*

I.	1. La famille des <i>Asteraceae</i>	3
I.	2. Le genre <i>Pulicaria</i>	3
I.	3. Généralité sur <i>Pulicaria odora</i>	3
I.	3.1. Description botanique	4
I.	3.2. Habitat et distribution géographique	5
I.	3.3. La classification	5
I.	3.4. Utilisation de <i>P. odora</i>	6
I.	3.5. Les études précédemment	6
I.	4. Les HEs de <i>Pulicaria odora</i>	7

Chapitre II : Emballage bioactif

II.	1. Emballage alimentaire	8
II.	1.1. Généralité sur Emballage alimentaire	8
II.	1.2. Rôle d'emballage alimentaire	8
II.	2. La déference entre l'emballage actif et bioactif	8
II.	3. Emballage actif	9
II.	4. Emballage bioactif	9
II.	4.1 .Les substances fonctionnelles d'Emballage bioactif	10
II.	4.1.1. Les bactériocines	10
II.	4.1.2. Enzymes	11
II.	4.1.3. Vitamines	11
II.	4.1.4. Polyphénols	11
II.	4.1.5. Probiotiques	12
II.	4.2. Les matériaux et concept d'emballage bioactif	12
II.	4.3. Rôle d'emballage bioactif	12
II.	4.4. Les Difficultés des produits alimentaires fonctionnels	12

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Matériel	14
1.1. Matériel végétale.....	14
1.2. Produits chimiques et réactifs.....	14
1.3. Appareillage	14
1.4. Matériel Biologique	15
2. Méthode	15
2.1. Extraction	15

2.1. 2. Calcul du rendement	16
2.2.3. Dosage des polyphénols	17
2.2.4. Dosage des flavonoïdes	18
2.3. Préparation de film d'emballage	19
2.4. Propriétés physico-chimique du film	19
2.4.1 Aspect visuel du film	19
2.4.2. La couleur	19
2.4.3. Opacité du film.....	19
2.4.4. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP)	20
2.4.5. Hydro solubilité	20
2.5. L'activité antibactérienne des extraits	21
2.5.1. Principe de l'activité Antibactérienne	21
2.5.2. Protocole	21
2.6.1. Analyse de l'échantillon conserve.....	22
2.6.2. Dénombrement de la flore total aérobie mésophile (FTAM)	22
2.6.3. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (T /F)	22
.2.6.4. Dénombrement de <i>Clostridium</i>	22
.2.6.5. Dénombrement des <i>Salmonelles</i>	22
2.7. Contrôle de la viande haché pendant la conservation	23
2.7.1. Evaluation du nombre de FTAM	23

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Calcule de Rendement des Extraits	24
2. Résultats de dosage.....	25
2.1. Dosage des Polyphénols	25
2.2. Dosage des flavonoïdes	26
3. Propriétés physico-chimique du film.....	27

3.1. Aspect visuelle de Film	27
3.2. La couleur	28
3.3. Opacité du film.....	28
3.4. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP).....	29
3.5. Hydro solubilité.....	30
4. L'activité antibactérienne des extraits	31
4.1. L'activité antimicrobienne vis-à-vis d' <i>E.coli</i>	32
4.2. L'activité antimicrobienne vis-à-vis d' <i>S.aureus</i>	33
5. Analyse Microbiologique de la viande	33
6. Le comptage de FTAM lors de la conservation de viande hachée	34
Conclusion et perspectives	36
Référence bibliographiques	

Introducción

Partie
Bibliographique

Chapitre I
Généralité sur
Pulicaria
odora L

I. 1. La famille des *Asteraceae*

Les *Asteraceae*, du genre *Aster* (nom grec et latin de diverses fleurs en étoile) anciennement appelée *Compositae*, se réfère à la forme de l'inflorescence, constitue la plus grande famille des plantes à fleurs. Elle est constituée de plus de 1500 genres et 25000 espèces dont 750 endémiques en Algérie, cette famille est la plus importante (**Kenoufi, 2018**).

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues, cette famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule. Le fruit est un akène généralement surmonté d'un pappus provenant du calice (**boulechfar, 2014**).

Les *Asteraceae* est principalement distribuée en région tempérée, subtropicale, ou tropicale, souvent en région montagneuse, Les propriétés biologiques attribuées aux *Asteraceae* sont très nombreuses, notamment des propriétés cytotoxique, immunosuppressive, antioxydants, antimicrobienne, antivirale antifongique, trypanocide, hépato protective, cytotoxique, antiulcéreuse, anti-inflammatoire, anti-nociceptive, antitussive, expectorante, antidiabétique et hémolytique (**Girardic, 2015**).

2. Le genre *Pulicaria*

Pulicaria est le troisième plus grand genre de la tribu *Asteraceae*, elle comprend environ 85 espèces dans le monde entier et dans la région méditerranéenne, Le genre est hétérogène et taxonomiquement incohérent (**Coutinho et al., 2011**), Les études antérieures de ce genre ont montré la présence de plusieurs métabolites secondaires, Diverses activités biologiques ont été signalées pour certaines espèces du genre *Pulicaria* (**Zafzoufi et al., 2020**).

3. Généralité sur *Pulicaria odora*

Pulicaria odora est un espèce appartient à la famille d'*Asteraceae* (*compositae*), *Pulicaria odora* est un plante vivace herbacée parfumée aux fleurs jaunes. (**Elhanbali et al., 2005**)

Pulicaria odora est un plante médicinale méditerranéenne, largement utilisée par la

population algérienne, on pense qu'il possède des propriétés biologique et médicinale très intéressantes, comme les activités antibactériennes, anti-inflammatoires, antioxydants et curatives, (Benhmed djilali. et all,2020)

les flavonoïdes ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques chez le genre *Pulicaria*. (Hammiche et Ouazene,2013) .

3.1. Description botanique

C'est une plante vivace, à 20-90 cm de hauteur (Hammiche ,Ouazene, 2013), à tige simple ou rameuse (la flore électronique de tela botanica , 2011) .

Les feuilles basales à pétiole courts, ovoïdes, pointues et vertes à floraison, allongées et dépourvues d'oreilles saillantes , feuilles de l'involucre sont linéaires, étroites . (la flore électronique de tela botanica , 2011 , Hammiche ,Ouazene, 2013)) .

Les fleurs sont linguiformes de couleur jaune , dépassant l'involucre (la flore électronique de tela botanica , 2011) Les fruits peuvent aller jusqu'à 1,8 mm de long à 10-12 soies, entourés à la base d'une petite corolle membraneuse. (la flore électronique de tela botanica , 2011)



Figure 1 : représentation de *Pulicaria odora* :1_ la plante , 2_les feuilles , 3_ la fleur .(Anonyme ,2017)

3.2. Habitat et distribution géographique

Pulicaria odora qui pousse à l'état sauvage dans le Nord-Ouest du Maroc. (Elhanbali et all,2005) , est une espèce méditerranéenne, colonise les buissons, les maquis et les clairières. (Touati et all, 2018)

Pulicaria odora est une plante qui accepte quelques variations climatiques , elle tolère aussi la variation de la texture de sol et de pH , elle se trouve dans le Nord-Est d'Algerie.

Dans le Nord-Ouest du Maroc *Pulicaria odora* appelée « Ouden ELhallouf » (Elhanbali et all,2005). *Pulicaria odora* est connue sous le nom « Oudene nadjja » dans le Nord-Est d'Algerie

Nom commun : Pulicaire odorante.

La classification

Tableaux 1 : Classification de *Pulicaria odora* (Hammiche et Ouazene 2013)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Gamopétales</i>
Sous classe	<i>Asteraceae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèce	<i>Pulicaria odora</i> L

Utilisation de *P. odora*

Les racines de *P. odora* sont souvent utilisées dans l'ethnomédecine marocaine pour traiter les troubles intestinaux, les crampes menstruelles, les maux de dos et comme remède naturel populaire pour le rhume et les frissons. Les racines de *P. odora* sont également utilisées comme une épice appréciée pour sa saveur de parfumer le pain et la viande (Zefzoufi et all,

2020). La plante est également un composant du remède traditionnel appelé « Mssakhen », qui est donné aux femmes après l'accouchement (**Ezubeiri et all , 2005**).

Pulicaria odora est une plante médicinale ,utilisé de façon classique par les population locale de (Nord d'Algérie) , ses feuilles et ses racines ont diverses utilisations traditionnelles , comme le traitements des ulcère d'estomac et le traitement des blessures , et également pour traiter les troubles gastriques et les douleurs abdominales (**Benhmed djilali et all,2020**) ,les racine de cette plante sont encore utilisées pour leur propriétés anti-inflammatoires.((**Elhanbali et all,2005**).

Les études précédemment

Plusieurs études sont réalisées sur la plante *Pulicaria odora* pour évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de cette plante et aussi de leur feuilles et leur racines , dans les résultats de l'étude de (**Hammiche , Ouazene , 2013**) montre que cette plante possède des agents antimicrobienne naturelle , et l'étude de (**Ezoubeiri et all , 2005**) qui intitulé sur « **isolation and antimicrobial activity of two phenolic compouns from *P.odora*** » montré dans sont résultats que l'huile essentielle de *P.odora* porte des propriétés antibactérienne très intéressent , l'étude de (**Touati et all , 2018**) conclure la présence de l'activité antibactérienne des feuilles et des racines de cette plant et aussi montre que les souches bactériennes Gram positif sont les plus sensible aux extraits de *P.odora* , les résultat de l'étude de (**Benahmed Djilali et all , 2020**) conclure que la poudre de *P. odora* favoris la conservation , et aussi la libration des substances bioactive , et montre aussi la présence d'une propriété antibactérienne chez *P.odora* contre les Gram positif.

Et selon l'étude de (**ELHanbali et all , 2005**) , la composition chimique du composant d'huile volatile des racines de *Pulicaria odora* à été analysée , les principaux constituants de l'huile à été testé contre 7 bactéries à des concentration différentes , les résultat ont montre que l'huile présent une activité antibactérienne importante.

Une autre étude sur la plante *Pulicaria odora* , de (**Boussaa , 2013**) qui sert à évaluer l'activité antimicrobienne de *Pulicaria odora* et estimer et séparer leur composes phénoliques par chromatographie sous vide sèche sur colonne sèche de bonne efficacité de la séparation et taux de purification levée , les testes d'activité anti microbienne à une forte activité de *P.odora* de toutes les souches testés .

Les HEs de Pulicaria odora :

Les résultats qui présent par l'étude de (Hanbeali et all 2005) montré que les huiles essentielles de P .odora a été isolée par distillation à la vapeur des racines séchées à température ambiante , et aussi les huiles essentielles sont riche en composés oxygénés , en majeure constituants ; le Thymol et Thymolisobutyrate , la concentration élevée de composés oxygénés est responsable de odeur parfumée de huiles essentielles de *P. odora* .

Les résultats des travaux de (Ezubeiri et all , 2005) montré que les huiles essentielles de P,odora contient d'un mélange de 70 composés ,et aussi montre des propriétés antimicrobiennes très intéressantes .

Chapitre II
Emballage
bioactif

II.1. Généralité sur Emballage alimentaire

L'emballage alimentaire est défini comme une barrière passive pour retarder les effets néfastes de l'environnement sur le produit emballé (**Lopez, 2011**).

L'emballage actif est une barrière protectrice extérieure adapté de toute nature d'un produit, qui devrait faciliter sa protection contre les facteurs externes et assurer la qualité et la sécurité des produits, cet emballage en générale classé en deux groupes : l'emballage (bio) actif qui possède un effet sur les processus de dégradation des aliments et aussi sur leur qualité, et emballage intelligent (**Yahyaoui, 2020**).

II.2. Rôle d'emballage alimentaire

L'emballage alimentaire joue un rôle important comme une barrière entre les milieux internes et externes (**Birck , 2014**).

L'utilisation d'emballage appropriés pour minimiser et limiter la pollution de l'environnement et pour fournir des aliments à meilleure stabilité (**Ozdemie et Floros , 2010**), et aussi EA ont des fonctions différentes :

- ✓ Prolonger la dure de vie des produits alimentaires.
- ✓ Contribue à faciliter la commercialisation des produits et la praticité.
- ✓ Inhibant le développement des contaminants pendant le transport.
- ✓ Empêchant la transition et la migration de contaminant (**Beauchesne et associés, 2008**)

II.3. La déférence entre l'emballage actif et bioactif :

L'emballage bioactif a un impact direct sur la santé du consommateur en générant des aliments emballés plus sains.

L'emballage actif traite principalement du maintien ou de l'augmentation de la qualité et de la sécurité des aliments emballés, c'est-à-dire la durée de conservation des produits alimentaires emballés.

2 .Emballage actifs

Selon le rapport de la FAO/OMS (2011) , l'emballage actif est un emballage qui contient des composées actifs qui réagissent avec l'environnement pour conserver les produits (**Ghali, 2017**), il implique des interactions entre l'emballage ou les composants de l'emballage et les

aliments ou l'atmosphère gazeuse interne et est conforme aux exigences des consommateurs pour des produits de haute qualité (Foloros, 2010). Parmi les systèmes d'emballage actifs, le système antimicrobien est d'une grande importance et le système antioxydant. (Coma, 2008)

Il basé sur des matériaux dans les quels des additifs ayant des propriétés active (antimicrobiennes et ou antioxydants) sont incorporés dans la matrice polymérique dans le but d'augmenter la durée de conservation des produits alimentaires et de maintenir ou d'améliorer les propriétés des aliments emballés .(Yahyaoui, 2020)

Les éléments fonctionnelle de l'emballage actif sont des composants chimiques qui sont introduits dans l'emballage sous deux formes : **contenu d'un sachet, ou en contact direct avec l'aliment** (fixé à la surface de polymère), qui sont appliqués pour des fonctions spécifiques (Kothpalli, 2007) .

3. Emballage bioactif

Selon Salgado et all ,2019 l'emballage bioactif est une stratégie innovante dans la production d'aliments fonctionnels.

L'emballage bioactif ou emballage fonctionnels est un domaine émergent dans le domaine de l'emballage alimentaire actif, Ce concept a été testé pour une application dans les aliments à l'échelle du laboratoire (Kothpalli, 2007), il cherche à avoir un impact sur la santé du consommateur par l'incorporation contrôlée de substances bioactives ou fonctionnelles (Lopez , 2011).

Les EB souvent utilisés pour contrôler la croissance des microorganismes dans les aliments emballés.

Le système d'emballage bioactif dépend du 5 éléments suivants :

1. matériau d'emballage.
2. de l'aliment emballé,
3. de l'atmosphère dans l'emballage.
4. des microorganismes cibles.
5. et l'agent antimicrobien (Portes, 2008)

3.1 .Les substances fonctionnelles d'Emballage bioactif

Dans l'emballage bioactif il ya des substances fonctionnelles et conservateurs utilisés (Yahyaoui, 2020 ; Avik Khan et al, 2012).

Parmi les composés bioactifs les plus étudiés à cet effet sont représenté dans le schéma suivant (**Figure 2**).

Ces composés bioactifs doit être approuvé par les autorités réglementaire nationales et ou internationales et produire un effet biologique mesurable qui entraîne des bienfaits pour la santé sans présenter une toxicité .(**Salgadoet al. ,2019**)

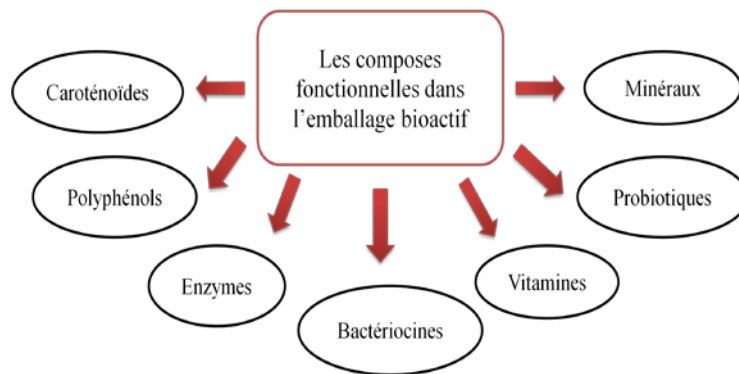


Figure 2 : Schéma représentes les substances bioactifs

Les bactériocines :

Les aliments peuvent être complétés par de la bactériocine produite en situ préparations, les bactériocines produites peuvent également être ajoutées sous la forme de concentrés bruts obtenus par culture du producteur souche dans un substrat de qualité alimentaire ou sous forme de préparations immobilisées, dans lesquelles la bactériocine partiellement purifiée, les bactériocines produites offrent plusieurs propriétés qui les rendent aptes à la conservation des aliments :

- ✓ sont généralement reconnues comme des substances sûres, ne sont pas actives et non toxiques sur les cellules eucaryotes .
- ✓ deviennent inactivées par voie digestive protéases, ayant peu d'influence sur le microbiote intestinal.
- ✓ elles présentent un mode d'action bactéricide, agissant généralement sur la membrane cytoplasmique bactérienne : pas de croisement résistance aux antibiotiques .
- ✓ leurs déterminants génétiques sont généralement codés par un plasmide, facilitant la manipulation génétique.(**Antonio , 2007**)

Enzymes :

Les enzymes sont des protéines dont la réactivité est assez sensible à la température. Et à des températures aussi basses, la réactivité catalytique des enzymes peut être temporairement ou définitivement perturbée, cette sensibilité à la température est une considération importante dans l'application commerciale des enzymes dans les opérations de traitement.

Parmi les nombreuses enzymes fonctionnant dans les réactions qui ont été et sont utilisées commercialement, on trouve : **La rénine**, **les protéases**, **l'amylase**, **lactase**, et la **catalase**. D'autres applications plus génériques des enzymes comprennent la production d'acides aminés stéréospécifiques, la production de sucre à haute teneur en fructose, la fermentation de la bière et du vin, l'attendrissement des viandes, la mouture et la cuisson. (Anon, 1995)

Vitamines :

Les vitamines sont un groupe de substances organiques dont les humains ont besoin en petites quantités pour diverses fonctions biologiques et pour prévenir les troubles du métabolisme. Les 13 vitamines connues sont classés en fonction de leur solubilité relative dans l'eau et les graisses. (Salgado, 2019)

Polyphénols :

Ils vont de molécules phénoliques simples, Ces composés ont des propriétés antioxydants parce qu'ils agissent comme collecteurs de radicaux libres, comme chélateur ou pro-oxydant des ions métalliques, Les polyphénols ont été associés aux bienfaits pour la santé découlant de la consommation. (Salgado et al, 2019)

Probiotiques :

sont définis comme des microorganismes vivants qui sont administrés dans des conditions adéquates un avantage pour la santé de l'hôte, Ils étaient à l'origine utilisé pour améliorer la santé des animaux et des humains grâce à la modulation du microbiote intestinal

(Salgado et al, 2019)

Les matériaux et concept d'emballage bioactif

Les matériaux d'emballage fonctionnels, ou plus précisément bioactifs, seraient ainsi capables de retenir les principes bioactifs souhaités dans des conditions optimales. jusqu'à leur libération éventuelle dans le produit alimentaire soit par une libération contrôlée ou rapide pendant le stockage, ou simplement avant consommation, en tenant compte des caractéristiques ou exigences spécifiques du produit/de la substance fonctionnelle (**Lopez-Rubio et al, 2006**).

Le concept d'emballage bioactif vise la protection des composés bioactifs à l'aide de biomatériaux (**Lopez , 2011**) , qui englobe une série de technologies qui peut être réalisé par :

- A. Nanocomposants (**Lopez ,2011**) : intégration et libération contrôlée de composants bioactifs issus de biodégradables et/ou des systèmes d'emballage durables .(**Lopez, 2006**)
- B. Micro- et nanoencapsulation (**Lopez , 2011**) : de ces substances actives soit dans les emballages et/ou au sein des aliments .(**Lopez , 2006**)
- C. les emballages pourvus de activité enzymatique exerçant un effet bénéfique sur la santé par la transformation de composants spécifiques d'origine alimentaire.(**Lopez , 2006**)

3.3. Rôle d'emballage bioactif

L'emballage bioactif possède un rôle unique de l'amélioration de l'impact des aliments sur la santé des consommateurs. (**Salgado et al , 2019**)

3.4. Les Difficultés des produits alimentaires fonctionnels :

Actuellement les industries rencontrées des difficultés des substances actif sur le développement des produits (**Fortunati , 2013**), et parmi ces difficultés :

- ✓ La perturbation des substances bioactifs durent la commercialisation.
- ✓ Les substance fonctionnelle n'est pas souvent compatible avec la matrice alimentaire.
- ✓ Apportez des modifications aux nutriments pendant le traitements par des composés ajoutés . (**Yahyaoui, 2020**)

Partie
Expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

Objectif

L'étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de microbiologie, Université Abbés Laghrour -khenchela- durant la période 23 /05/2021 au 17/06/2021, Elle a pour objectif d'utiliser l'extrait *Pulicaria odora L.* dans la bio conservation des produits carnée.

1. Matériel

1.1. Matériel végétale

Les feuille des *Pulicaria odora L* ont été récoltées au mois d'Avril 2021 dans la Wilaya de Jijel, les feuilles ont été lavées et séchées à l'abri de la lumière, et ensuite broyées et conservées à l'obscurité.

1.2. Produits chimiques et réactifs

Plusieurs réactifs chimiques et solvants et milieux de culture ont été utilisés, parmi ces réactifs : gélatine, glycérolé, sorbitol, gel de silice, Barium de sodium « NaBr », Ethanol, Méthanol, Acétone, carbonate de sodium, NaOH, Nitrite de sodium NaNO₂, Chloride d'aluminium ALCL₃, Diméthyl sulfoxide DMSO, Folin-ciocalteu, et parmi les milieux de culture utilisés sont : Gélose Nutritive, Muller Hinton, SS, Gélose Viande-Foie Glucosée « VF », le milieu gélosé lactose bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBL).

1.3. Appareillage

- ✓ Etuve de 37°C (memmert).
- ✓ Balance électrique (KERN).
- ✓ Balance de précision (Adventurer).
- ✓ Plaque chauffante (nahita).
- ✓ Bain marie (memmert).
- ✓ Agitateur vortex (VELP SCIENTIFICA).
- ✓ colonie mètre (Stuart).
- ✓ Spectrophotomètre SP-UV 2005.
- ✓ Rotavapeur (Hanvapor (KIT LAB)).
- ✓ pH-mètre (Hanwa Ainstrument).
- ✓ Centrifugeuse (SIGMA 2-16).
- ✓ Lyophilisateur (CHRIST).
- ✓ four pasteur (memmert).

- ✓ La Haute (ESCO).
- ✓ Dessiccateur.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Bec benzène.

1.4. Souches bactériennes

Deux bactéries ont été utilisées pour le test de l'activité antibactérienne, *Staphylococcus aureus*, et *Escherichia coli*.

2. Méthode

2.1. Extraction

L'extraction a été réalisée selon la méthode de (**Bouhanna, et al 2021**) avec quelques modifications, une prise d'essai de 20g de la feuille de la plante *P.odora* ont été macérée (5g dans un 50ml de solvant (éthanol, eau distillée, méthanol, Acétone), après les mélanges ont été laisse une nuit avec température ambiante, ensuite les extraits ont été récupéré par filtration à l'aide de papier filtre, puis centrifugés à 5000 pm/10mn. L'extrait de l'eau a été lyophilisé, et les solvants organiques ont été séchés par évaporation sous pression à l'aide d'un Rotavapeur à 40 C° pour les autres extraits..

Les extraits brut d'éthanol (PE), méthanol (PM) et Acétone (PA) ont été dissout dans le DMSO, et l'extrait aqueux (PW) dans de l'eau distillée stérile.

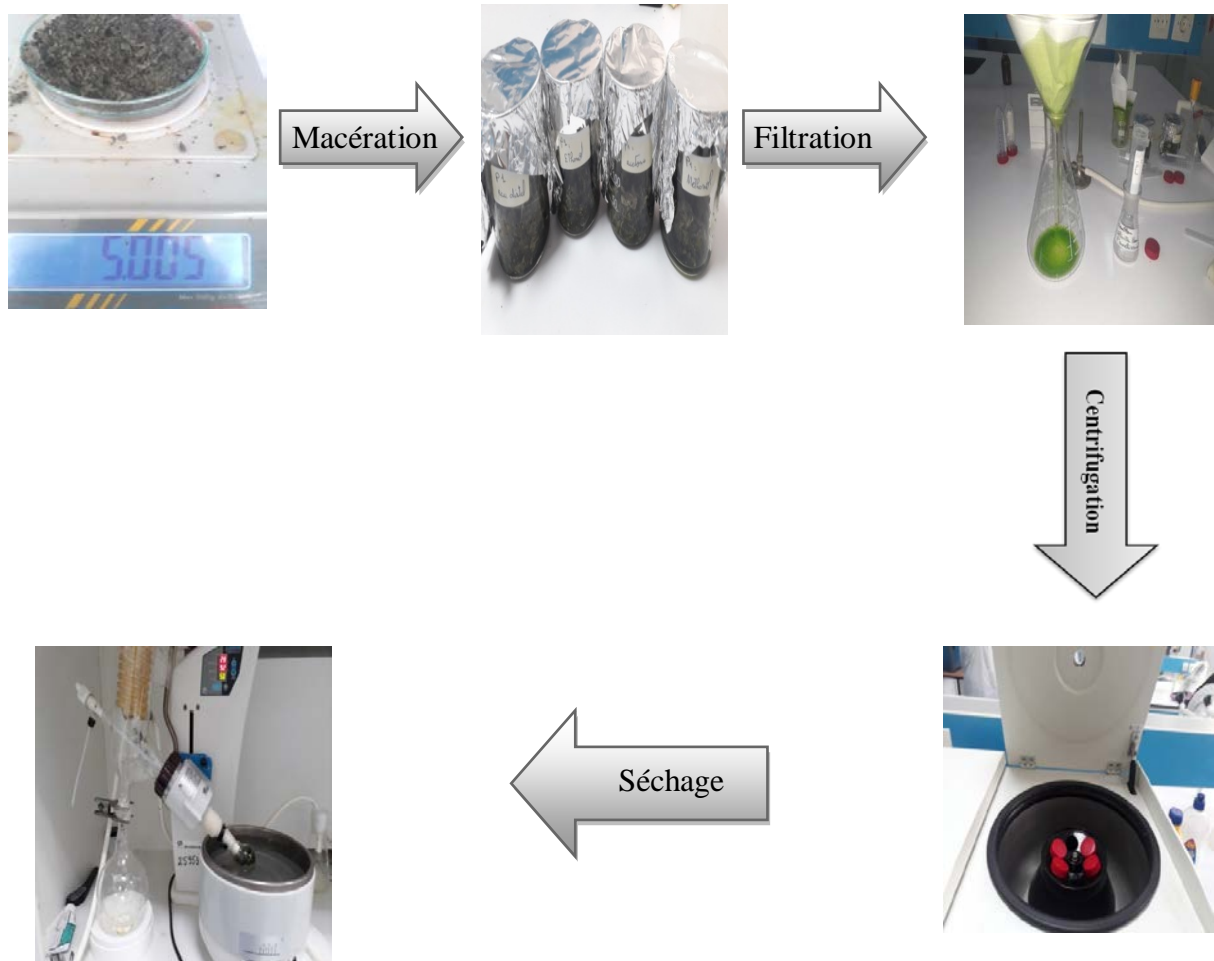


Figure 3 : schéma représenté le Protocol de préparation des Extraits de plante.

2.1. 2. Calcul du rendement

Le rendement des Extraits d'eau distillée et Ethanol ont été déterminé par le rapport entre le poids vide de ballon de Rotavapeur et poids d'extrait par la formule suivante :

$$R(\%) = M/M_0 \times 100$$

R(%) : rendement exprimé en %.

M : Masse en grammes de l'extrait sec.

M₀ : masse en grammes du matériel végétal à traiter.

2.1. 3. Dosage des polyphénols

Le dosage de polyphénols à été déterminée avec le réactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune (Djeridane et al, 2006), Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue (Falleh et al, 2008) et la lecture de l'absorbance par spectrophotomètre à 765nm (Parejo et al, 2003), et ont préparé le dosage des polyphénols par trois répétitions selon la méthode suivant : (Figure 4).

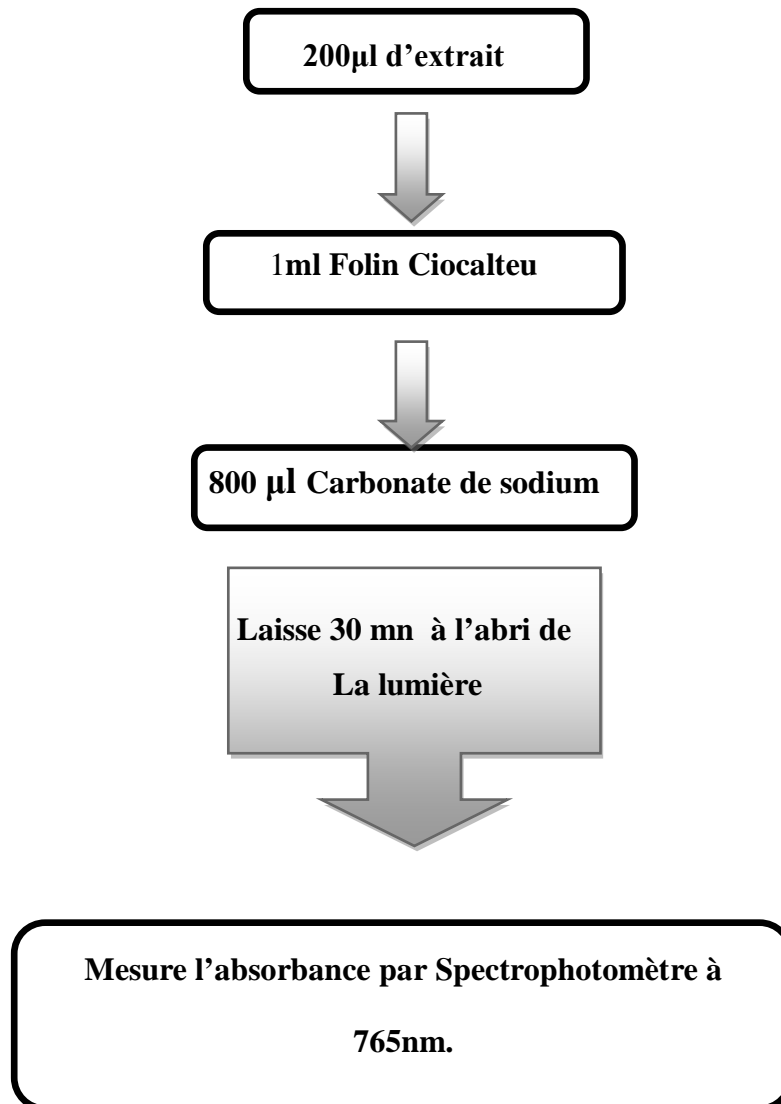


Figure 4 : schéma représenté le mode opératoire de dosage des polyphénols.

2.1.4. Dosage des flavonoïdes

Le dosage de flavonoïde a été préparé à l'aide d'un dosage calorimétrique avec chlorure d'aluminium « AlCl₃» et carbonate de nitrate et NaOH, et la lecture déterminé par

spectrophotomètre à longueur d'onde est 510nm (Falleh et al ,2008), et le mode opératoire comme suivant (Figure 5).

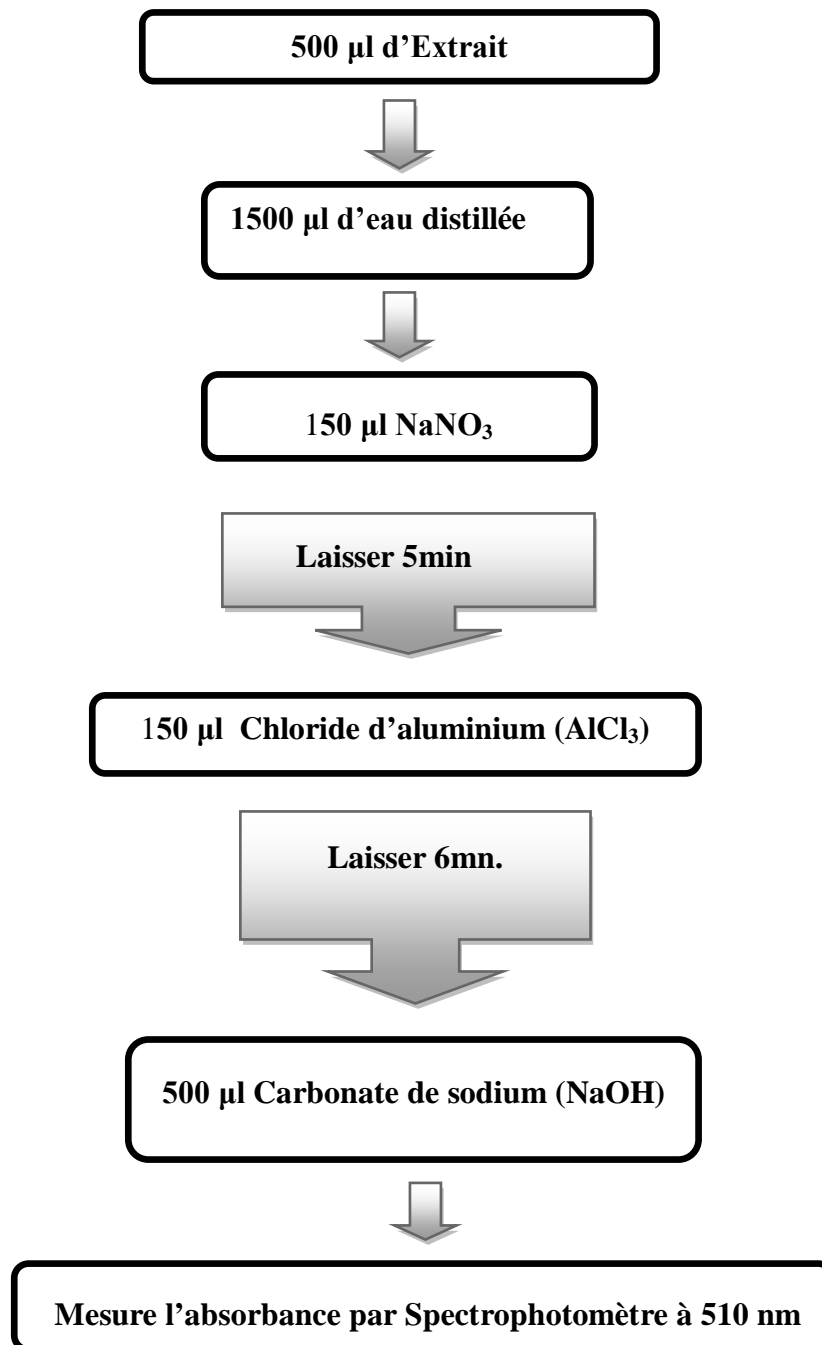


Figure 5 : schéma représenté le mode opératoire de dosage des flavonoïdes.

2.3. Préparation de film d'emballage

Selon Thomazine et al. 2005, la gélatine (concentration finale dans la solution formant le film SFF 4g/50ml) à été dissous dans l'eau distillée à un rapport de 5.6g/ 70ml et le glycérol (0.3ml/1g de gélatine) ajouté comme plastifiant et le sorbitol (0.3g/1g), après un mélange approprié, pour le film témoin (FS), et pour les films testés (FT), étaient préparées comme

décrit avec remplacement de 5.6ml et 11.4ml d'eau distillée par l'extrait d'Ethanol et d'eau distillée dans le SFF est 4 % et 8 % respectivement .

Chaque SFF a été mélangé et chauffé à 40 C° pendant 15mn pour obtenir des solutions homogènes puis versé doucement un quantité de 69 ml dans des plateaux de 30x23 cm pour obtenir une épaisseur uniforme (0.1ml), ensuite les plateaux ont été séchés dans un four ventilé (memmert) à 45 C° pendant 15h, les film obtenir ont été conditionnés dans un dessiccateur on présence de solution de BrNa à 22 C° pendant 2 jours avant utilisation.

2.4. Propriétés physico-chimique du film

2.4.1. Aspect visuel du film

Des analyses visuelles et tactiles ont été effectuées avec chaque type de film, dans le but d'utiliser uniquement des films homogènes par rapport à l'absence de particules insolubles, uniforme couleur (**Bertan et al, 2005**).

2.4. 2. La couleur

La couleur du film est mesurée à l'aide d'un colorimètre. Pour mesurer la densité de la couleur bleu rouge et verte, des longueurs d'onde de 520nm, 850nm et 470nm ont été utilisées respectivement (**Bouhanna et al, 2021**).

2.4. 3. Opacité du film

Selon l'étude de (**Gómez-Estaca et al, 2009**), les films coupés en des morceaux carrés et places directement dans une cuvette (cellule d'essai de spectrophotomètre), et à l'aide d'une autre cuvette vide utilisé comme blanc, en mesuré l'absorbance dans le spectrophotomètre à 600nm, et l'indice d'opacité des films calculé selon l'équation :

$$O = Abs\ 600nm/x$$

Ou:

O : Indice d'opacité.

X : Épaisseur de film.

2.4.4. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP)

La perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films a été mesurée à l'aide d'une méthode ASTM modifiée (1989), réalise par (**Bertan et al, 2005**), des creusées a été rempli par le gel de silice à l'humidité relative 0%, les films ont été fixés sur les ouvertures des creusées et

Scellés avec papier paraffine, ensuite ces derniers ont été placés dans un dessiccateur avec un flacon d'eau distillée à 22 °C, et les creusées ont été pesées après 7 heures. La perméabilité à la vapeur d'eau a été calculée à l'aide de l'équation suivante (Gómez-Estaca et al. 2009) :

$$WVP = \frac{w \cdot x}{A \cdot t(P_2 - P_1)}$$

W : Poids de creusé, **X** : épaisseur de film, **A** : la surface exposée de film.

T : le temps, **(P₂-P₁)** : pression différentielle de la vapeur à travers le film.

2.4.5. Hydro solubilité

Des morceaux de 4cm² de film ont été pesés et ensuite mis dans des béchers contenant 15ml d'eau distillée et fermés, puis remués pendant 15 heures à 22 °C. La solution a ensuite été filtrée sur du papier pour récupérer les films séchés à 105 °C pendant 24 h. La solubilité du film a été calculée à l'aide de l'équation (Gómez-Estaca et al, 2009) :

$$FS \% = (W_0 - W_f/w_0) \cdot 100$$

W₀ : le poids initial du film exprimé comme la matière sèche, **W_f** : est le poids du résidu desséché non dissous de film.

2.5. L'activité antibactérienne des extraits

➤ Repiquage des souches et préparation des suspensions bactériennes

Dans un milieu solide gélose nutritif (GN), on repique les deux souches bactériennes « *E. coli*, *Staphylococcus aureus* », ensuite incubent dans l'étuve à 37 °C pendant 24h, après répétition de repiquage plusieurs fois jusqu'à obtenir des colonies pures et identiques.

Afin d'obtenir des cultures jeunes, on prépare une suspension bactérienne par revivification de quelques colonies à l'aide d'une anse de platine bien isolées et parfaitement identiques et on les dépose dans 9ml d'eau physiologique et compare chaque suspension avec la solution de Mac-Farland pour obtenir la même concentration 10⁷UFC/ml (Djermane, 2014).

2.5.1. Principe de l'activité antibactérienne

Le principe de cette méthode la diffusion des composées antimicrobiennes en milieu solide Muller Hinton (MH) (Djermane, 2014), et on utilise des disques stériles et après certaine temps de contact entre les extraits et le microorganisme cible, et finalement mesure le diamètre de la zone d'inhibition.

2.I.2. Protocole

- Ont coule les boites de pétri avec le milieu MH et laisse le refroidissement et solidifiant le milieu.
- Avec un écouvillon stérile qui tromper la suspension bactérienne frottée la surface de gélose de haute en bas et des strés serrées et la bordure de la boîte.
- Avec un pince stérile prélever les disques stériles en papier Whatman (6mm) déposer sur la gélose et puis versé 10-20 μ l d'extraits de plante à tester PE, PW, PM, PA.
- Les boites de Pétri sont mises au réfrigérateur à 4°C pendant 30min pour une pré-diffusion.
- Incubé les boites de pétri incubé à 37C° pendant 24h (Mouas et al, 2017).
- L'activité antibactérienne était évaluée en mesurant la zone d'inhibition de la croissance entourant les disques (Gherib et al, 2016).

➤ **Préparation de l'échantillon à conserve**

Un échantillon de produit carnée (**viande hachée**) ont été achetés chez boucher sur le marché local de Elmahmel wilaya de Khenchela acheminée au laboratoire dans une glacière à 4°C.

2.6.1. Analyse de l'échantillon conserve

➤ **Préparation des dilutions décimales**

En préparé une solution mère par le mélange de 1g de viande hachée dans 9ml d'eau peptone tamponné stérile pour obtient une dilution mère 10^{-1} , ensuite on réalise une sérié des dilutions décimales à partir de solution mère jusqu'à la dilution 10^{-6} (Labioui et al, 2009).

Les analyses microbiologiques réalisées sur notre échantillon (viande hachée) correspondent à la recherche des germes suivants :

- Dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale :
 - ✓ Coliformes totaux.
 - ✓ Coliformes fécaux.
- Recherche des germes pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Clostridium Salmonella*.

2.6.2. Dénombrement de la flore total aérobie mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la FTAM à été réaliser avec milieu GN, par ensemencement en masse de 1 ml des délutions (10^{-4} 10^{-5} 10^{-6}), ensuite on couler une couche de GN, puis on fait des mouvements à la forme de 8 et l'incubation à $37C^{\circ}$ pendant 24 h.

2.6.3. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux s'effectue sur un milieu VRBL, par ensemencement de 1ml des délutions (10^{-4} 10^{-5} 10^{-6}), en masse, et puis on couler une couche de VRBL sur les boites pétri et on laisse solidifier, ensuite l'incubation à $37C^{\circ}$ pour les coliformes totaux et $44C^{\circ}$ pour les coliformes fécaux, pendant 24h. (**Hamama, 1989**).

2.6.4. Dénombrement de *Clostridium*

Le dénombrement de *Clostridium* sur un milieu solide viande foie (VF) (**Boudieb, 2017**) par ensemencement en masse de 1 ml des délutions décimales, ensuite on couler les boites de pétri avec une couche de VF et laisse solidifier milieu, puis une incubation à $37C^{\circ}$ pendant 24h.

2.6.5. Dénombrement des *Salmonelles*

Pour la recherche des *Salmonelle*, il est nécessaire le dénombrement sur un milieu SS, on coule les boites avec une couche de SS et puis laisse solidifier le milieu et puis à laide d'un écouvillon stérile onensemencer 0.1ml des délutions, ensuite l'incubation des boites à $37 C^{\circ}$ pendant 18 à 24 h (**Labioui et al, 2009**).

- La lecture des tous Dénombrements des (FTAM, coliformes T/F, *Salmonelles*, *Clostridium*), fait par comptage des colonies à l'aide de colonie mètre.

2.7. Contrôle de la viande haché pendant la conservation

2.7.1. Evaluation du nombre de FTAM

Selon **Bouhanna et al, (2021)** et avec quelque changement, des analyses microbiologiques sont effectuées pour suivre la cinétique de la croissance des FTAM.

Le dénombrement des FTAM sont réalisés dans la période de 9 jours à partir des prélèvements de 1 g de viande hachée conservé chaque 3 jours, et mise dans 9ml d'eau peptone tamponné ensuite ont fait une sérié des dilutions décimales à partir de solution mère jusqu'à la dilution 10^{-5} .

Le dénombrement de la FTAM à été réaliser avec milieu GN, par ensemencement en masse de 1 ml des délutions (10^{-1} 10^{-3} 10^{-4}), ensuite on couler une couche de GN, puis l'incubation à 37 C°.

- La lecture est réalisée par comptage directe des colonies.

Chapitre IV
Résultats et
discussions

1. Calcule de Rendement des Extraits

La macération des extraits avec les 4 solvants donné une couleur vert foncé par apport l'Éthanol, Méthanol, Acétone, avec différence densité de couleur et marron claire avec l'eau distillée, l'extrait de méthanol donné le meilleur rendement et les résultats de calcule de rendement de l'extrait de *P.odora* en « % » sont résumé dans le (tableau 3).

Tableau 2: Rendement d'extraction de *Pulicaria odora*.

Solvant	Poids d'extrait (g)	Rendement (%)
Ethanol	0.419 g	8.38%
Méthanol	0.3015 g	6.03%
Acétone	0.2528 g	5.056%
Eau distillé	0.1101 g	2.202%

Le tableau montre que le rendement de d'extraction de *P.odora* le plus élevé obtenu par le éthanol «8.38%» et suivi par l'extrait méthanolique « 6.056%» et l'acétone « 5.056% », et le rendement d'extrait le moine de tous obtenu par l'eau distillée « 2.202%».

Le rendement d'extraction dépendait selon la nature de solvant (**Falleh et al, 2008**), ces résultats ne sont pas compatibles avec les résultats de (**Boussaa, 2013**) qui trouvé que l'extrait de méthanol le plus élevé et l'acétone le plus basse, et aussi les résultats de rendement d'extraction de (**Hammiche et Ouazene, 2013**) de méthanol non accord avec notre résultats pour le méthanol.

Pour l'eau distillé est essai par nous pour la macération des feuilles de *P.odora*, et on trouve que le rendement d'extrait d'eau distillée est le moine de tous extraits utilisées, et pour comparais notre résultats il n'existe aucune étude précédemment utilisé ce solvant.

2. Résultats de dosage

2.1. Dosage des Polyphénols

La teneur des Polyphénols obtenus à partir des feuilles de *P. odora* est déterminé par milligramme équivalent l'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g), et les résultats d'absorbance sont représentés dans le graphe suivant (**Figure 8**).

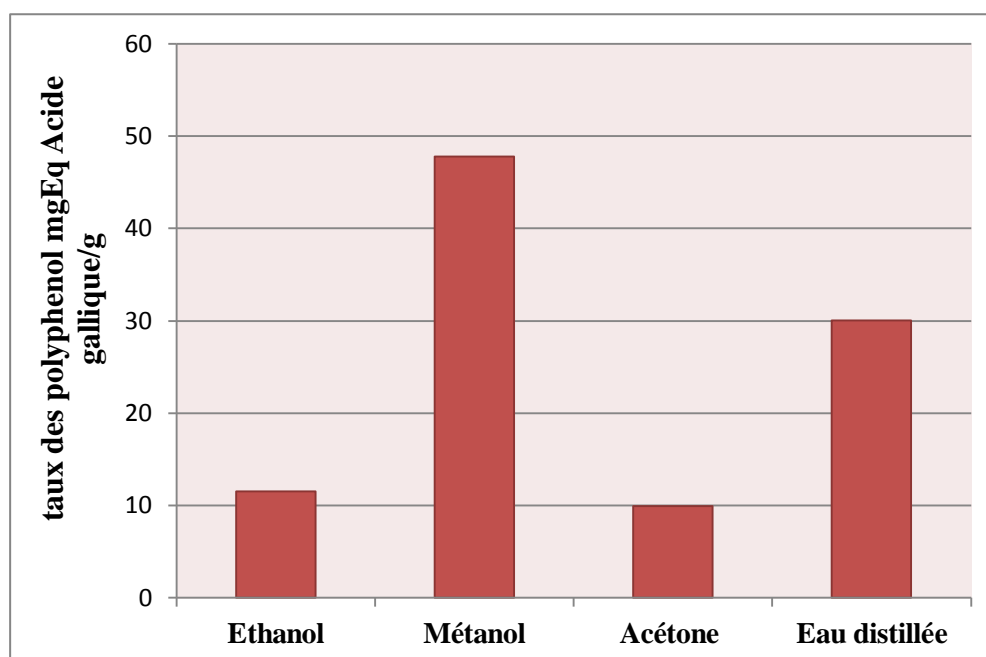


Figure 6: Représentation graphique de teneur des polyphénols de *P. odora* par 4 solvants.

Le graphe de nos résultats montre que la teneur en Polyphénols la plus élevée est obtenue par le méthanol (47.769 ± 0.407 mgEAG/g), suivi par la teneur de d'eau distillée par la valeur (30.025 ± 3.028 mgEAG/g), puis la teneur éthanolique (11.513 ± 1.472 mgEAG/g), et la teneur bas est la teneur d'acétone (9.923 ± 0.407 mgEAG/g), nos résultats sont non accord avec ceux de (**Benhmed Djilali et al, 2020**) qui ont trouvé que la teneur des polyphénols de *P. odora* d'extrait éthanolique est plus élevée par rapport aux Polyphénols d'extrait d'eau distillée.

Les résultats d'étude de (Gherib et al, 2016) sur *Pulicaria mauritanica* une plante de même espèce de *P. odora* indique que l'extrait éthanolique montré une teneur plus élevée en Polyphénols.

Notre résultat de teneur de Polyphénols d'extrait méthanolique et acétonique sont cohérents a les résultats de (Touati et al, 2018), qui trouve que la teneur en méthanol est plus élevée ($90 \pm 0.63 \mu\text{gEAG/g}$), et une teneur faible avec l'acétone ($73 \pm 0.68 \mu\text{gEAG/g}$).

Selon (Jakopic et al 2009 ; Falleh et al 2008) la teneur en polyphénols des extraits dépend fortement du type de solvant ainsi que des différentes concentrations de solvant.

2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur des flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche (mgEQ/g).

La figure 9 représente les résultats de dosage des flavonoïdes des extraits de *P. odora*.

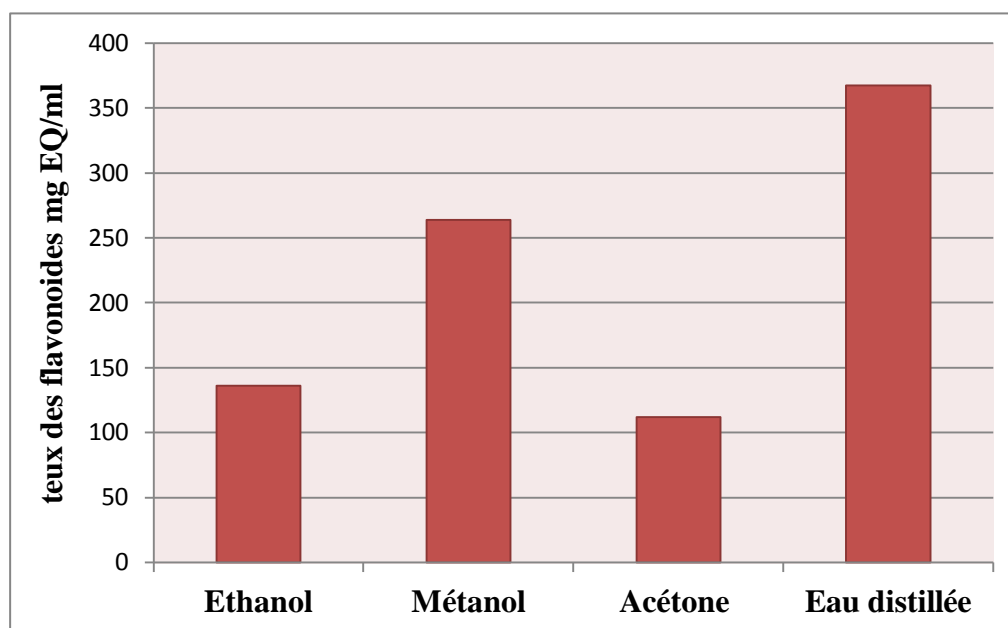


Figure 7 : Représentation graphique de teneur des flavonoïdes des extraits de *P. odora*.

Selon les résultats de graphe, la teneur des flavonoïdes en eau distillée représente la valeur la plus élevée ($3367.190 \pm 89.972 \text{mgEQ/g}$), suivi par la teneur méthanolique ($263.857 \pm$

101.133mgEQ/g) et l'éthanol par (136 ± 19.219 mgEQ/g), et la valeur minimal représenté par la tenue d'acétone (111.714 ± 14.869 mgEQ/g).

Ces résultats sont en accord avec les résultats d'étude de (**Hammiche et Ouazene, 2013**) juste de la part que la tenue de méthanol ($11,34 \pm 3,15$ mgEQ/g) est plus élevée que la tenue acétonique ($1,47 \pm 0,05$ mgEQ/g).

Plusieurs études indiquées des tenures en flavonoïdes différents à celles obtenues dans notre résultat, parmi les résultats de (**Benhmed Djilali et al, 2020**) trouvé que la tenue en acétone et plus élevée que l'extrait d'eau distillée.

Selon (**Falleh et al, 2008**) les valeurs en flavonoïdes peuvent être liées aux différentes conditions climatiques et écologiques des plantes.

3. Propriétés physico-chimique du film

3.1. Aspect visuelle de Film

Les films obtenu à partir de gélatine est d'épaisseur 0.1 mm, homogène de couleur transparent incliné au jaune et flexible, aussi le film obtenu après l'ajoute d'extrait d'eau distillée de *P.odora* est de d'épaisseur similaire de 0.1 mm avec le film sans Extrait de couleur jaune homogène et moine flexible.



Figure 8 : Aspect visuelle de Film.

3.2. La couleur

Les graphes (Figures 10 et 11) représentés La lecture des résultats de couleur de deux film sans extrait (film témoin FT) et avec extrait d'eau distillée (PW) ont fait par colorimètre.

Les résultats présentés que les trois couleurs sont élevée dans le film avec l'extrait (PW) par apport au film (FT).

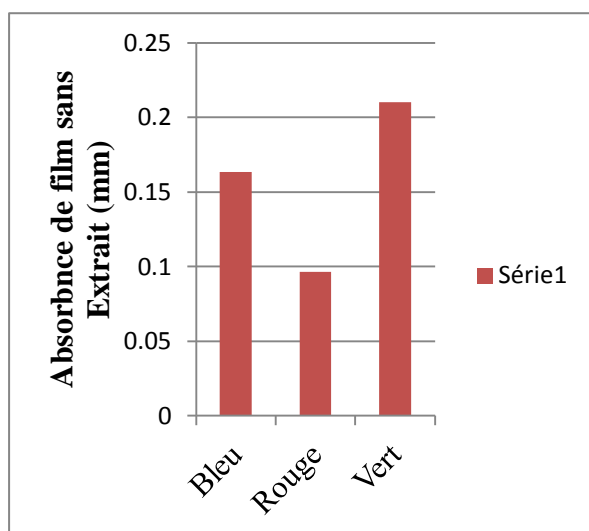


Figure 9 : graphe représenté les couleurs De film sans extrait.

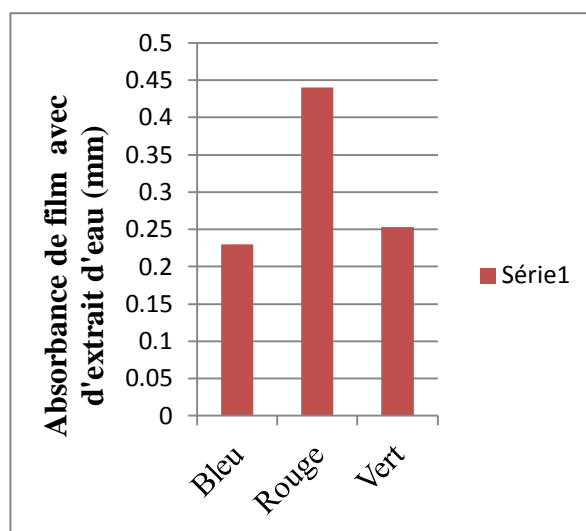


figure 10 : graphe représenté les couleurs De film avec extrait (PW).

Dans le film (FT) on voire que la couleur abondant est la couleur vert (0.210 ± 0.065), suivi par le bleu (0.163 ± 0.028), et la couleur minimal est le rouge (0.096 ± 0.025), et dans le

Deuxième film (PW) en trouve que la couleur éminents est le rouge (0.440 ± 0.47) par rapport les autre couleurs vert (0.253 ± 0.081), et le moins couleur présente est le bleu (0.230 ± 0.117).

3.3. Opacité du film

Les résultats d'opacité obtenue sont présentés dans le tableau suivant (tableau 7).

Tableau 3 : représenté l'opacité des films.

Type de film	Film témoin (sans extrait)	Film avec extrait d'eau (PW)
Opacité (mm ⁻¹)	5,506 ± 1,008	1,57 ± 0,656

L'analyse de résultat montré que l'opacité de film sans Extrait (FT) plus élevée par rapport le film avec l'extrait d'eau (PW).

(Gomez et al, 2009) préparer deux types de films avec gélatine différant l'un de sole et l'autre de poisson-chat, dans leur étude sur propriété de barrière de la lumière de deux film trouvé que sont de faible opacité, et après l'incorporation d'extrait de bourrache il ya une augmentation et amélioration d'opacité des deux films, à notre connaissance, aucun document sur les films à base de gélatine incorporés à l'extrait de *P. odora*.

Notre résultats sont reflétés avec plusieurs études sur l'opacité des films sans et avec des extraits des plants qui montrés des changements significatifs, que l'opacité des films avec extrait est élevée que les films témoins.

Dans l'étude de (Bouhanna et al, 2021) sur la capacité de film incorporé par l'extrait d'*Arbutus unedo L* a conservé le poisson, montré l'opacité de film avec extrait de plant est élevée que le film témoin.

Selon (Rubilar et al, 2013) l'opacité est un paramètre important pour emballage alimentaire parce qu'il permet d'éviter la détérioration des aliments et en même temps la capacité du film à agir comme barrière protectrice pour prévenir l'oxydation des produits alimentaires emballés.

3.4. Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP)

Les résultats de perméabilité d'eau des films sans extrait (FT) et film avec extrait sont représentés dans le tableau (Tableau8) suivant par (g mm⁻¹h⁻¹Pa⁻¹) :

Tableau 4 : les valeurs de perméabilité de deux films.

Type de film	Film sans extrait	Film Avec extrait
WVP (g mm ⁻¹ h ⁻¹ Pa ⁻¹)	3,12.10 ⁻⁴ ± 0,228	2,96.10 ⁻⁴ ± 0,020

L'analyse des résultats de ce tableau montré que la perméabilité de film sans extrait ($3,12.10^{-4} \pm 0,228 \text{ g mm}^{-1}\text{h}^{-1}\text{Pa}^{-1}$) plus que le film avec extrait ($2,96.10^{-4} \pm 0,020 \text{ g mm}^{-1}\text{h}^{-1}\text{Pa}^{-1}$), cela signifie qu'après avoir ajouté l'extrait d'eau distillée de *P. odora* la perméabilité de l'eau de film diminué.

Ces résultats sont en accord mais par des valeurs inférieures aux résultats trouvés par (**Bouhanna et al, 2021**) avec autre plante qui trouvé que WPV de film témoin ($8.98.10^{-9} \pm 0.41.10^{-9}$) qu'après l'incorporation d'extrait de *Arbutus unedo L*, voire que la perméabilité de film diminué ($5.01.10^{-9} \pm 0.11.10^{-9}$).

Autre étude de (**Gomez et al. 2009**) montrait qu'après l'incorporation d'extrait de bourrache aucun changement de WVP.

3.5. La solubilité du film

Les résultats de la mesure de l'hydro solubilité sont présentés dans le tableau (tableau 9) suivant :

Tableau 5 : l'hydro solubilité des films

Type de film	Film sans extrait	Film avec extrait
Hydrosolubilité (%)	$98,445 \pm 1,520$	$58,885 \pm 5,536$

D'après le tableau, les résultats montrent que le film sans extrait est plus soluble dans l'eau par ($98.445 \pm 1.520 \%$) que celui avec extrait ($58.885 \pm 5.536 \%$), pour comparer nos résultats nous n'avons trouvé aucune travaille avec *P. odora*.

(**Bouhanna et al, 2021**) qui ont enregistré une valeur de solubilité de film d'extrait *Arbutus unedo L* élevée que le film sans extrait, La résistance des films à l'eau déterminée par leur solubilité dans l'eau , et aussi la tenue de solubilité est un facteur important qui détermine la biodégradabilité des films lorsque utilisé comme matériau d'emballage (**Rubilar et al, 2013**).

4. L'activité antibactérienne des extraits

L'activité antibactérienne des Extraits de *P. odora* testé vis-à-vis de deux souches bactériennes (*E.coli*, *Staphylococcus aureus*).

La lecture des résultats est réalisée par la mesure du diamètre d'inhibition et exprimées Selon (**Bansemir et al, 2006 ; Mouas et al, 2017**) en quatre niveaux :

Résistante (-) : diamètre < 8 mm.

Sensible (+) : diamètre compris $9 < D < 14$ mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre $15 < D < 19$ mm.

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 m.



Figure 11 : la lecture des antibiogrammes à l'aide pied à coulisse.

Les résultats de tableau montre que la bactérie *E. coli* : est très sensible aux trois extrais de plante (Ethanolique, Méthanolique, Acétonique), et résistance pour l'Extrait d'eau distillée , et concernant la bactérie *S. aureus* résistance pour tout les Extraits , et donc les extrait de *Pulicaria odora* très efficace au *E.coli* apport la bactérie *S. aureus* sauf l'extrait d'eau.

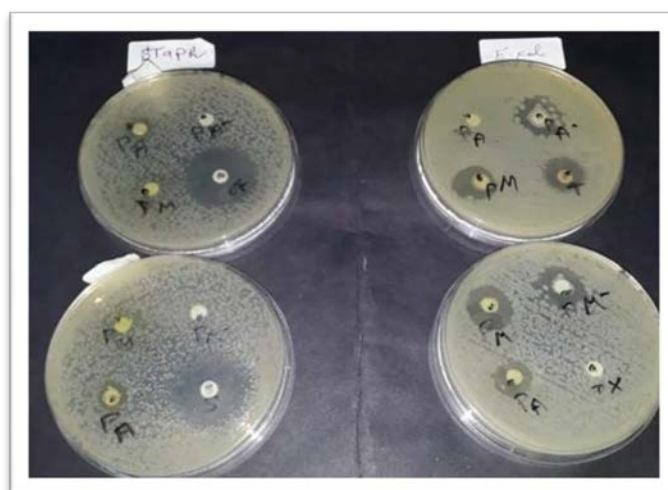


Figure 12 : Pouvoir antibactériennes des extraits des feuilles *P. odora*.

➤ **L'activité antimicrobienne vis-à-vis d'*E.coli***

La meilleure activité est exercée par l'extrait méthanolique et éthanolique (17.7 et 17.04 mm) respectivement suivi l'activité d'acétone (12.9mm), par ailleurs, l'extrait d'eau n'exerce aucune inhibition contre *E.coli* , nos résultats sont non accord avec les résultats de **(Touati et al, 2018)** qui trouve que pour *E.coli* l'extrait acétonique de feuilles de *P.odora* présenté la bonne activité par rapport au extrait méthanolique (11mm et 9mm) respectivement, cette différence peut être due aux concentrations des extraits ou à la qualité des solvants utilisées.

(Hammiche et Ouazene, 2013) trouvé que la bonne activité antimicrobienne de *P.odora* à l'*E.coli* enregistré par l'extrait de chloroforme d'acétone des racines par (15.5 et 15 mm), et que l'extrait des feuilles représenté une activité intermédiaire par zone entre 9 et 13.5 mm ,leurs résultats sont non accord avec nos résultats qui montre que la bonne activité antimicrobienne pour le méthanol , **(Falleh et al, 2008)** trouvé dans leur étude sur *Cynara cardunculus L* plante de la même famille de *P.odora* que l'extrait méthanolique possède une bonne activité antimicrobienne sur *E.col* (22.3 mm) après *S.aureus*.

(Ezoubeiri et al, 2005) et **(Hanbali et al, 2005)** montrait que l'huile essentielle de *Pulicaria odora* possède une haute activité antimicrobienne aux *E.coli*, en générale ces résultats sont compatible avec que les extrait de *P.odora* possède une activité pour *E.coli*.

➤ **L'activité antimicrobienne vis-à-vis d'*S.aureus***

Les résultats de nos études indique que n'existée pas des zones d'inhibition autour de *S.aureus* avec les quatre extraits de plante, ceci explique que cette bactérie résistante aux tous les extraits de *Pulicaria odora*.

Ces résultats sont en contradiction avec les résultats d'une autre étude de **(Hammiche et Ouazene, 2013)** qui montrait que les extraits acétonique et méthanolique des feuilles de *P.odora* possède une bonne activité antimicrobienne vis-à-vis *S.aureus*, et aussi avec l'étude de **(Falleh et al, 2008)** avec une autre plante de famille d'*Asteraceae* s'avère que l'extrait méthanolique de plante est à une haute activité pour *S.aureus*.

Concernant les huiles essentielles de *P.odora* sont caractérisé par une activité antimicrobienne sur *S.aureus* **(Ezoubeiri et al, 2005)**.

5. Analyse Microbiologique de la viande hachée

Les résultats de L'analyse microbiologique de viande hachée avent l'emballage représenté dans le tableau suivant :

Tableau 6 : résultat d'analyse microbiologique de la viande.

Germe recherché	Nbr des germes UFC/g
<i>FTAM</i>	30.10^2
<i>Coliformes totaux</i>	0
<i>Coliformes fécaux</i>	0
<i>Salmonella</i>	Abs
<i>Clostridium</i>	Abs

D'après le tableau les résultats microbiologique de la viande montrait la présence des FTAM (30.10^2) et l'absence totale de germe pathogène *Salmonelles*, et les germes des *Coliformes totaux* et fécaux et *Clostridium* , tous ces résultats de *Clostridium* , coliformes totaux et fécaux et *salmonelles* sont inférieures aux normes de la commission internationale (**Jora, 1998**), qui fixée et précisé que Coliformes = 10^2 UFC/g et les *Clostridium* = 30 UFC/g , *Salmonella*=0 et donc sont conformes.

L'absence de *Salmonella* et indice l'absence de toxi-infection alimentaire.

Notre analyse bactériologique a montré que la contamination initiale des viandes étudiées est très élevée, et plus contaminée par la FTAM et les Coliformes.

6. Le comptage de FTAM lors de la conservation de viande hachée

Les résultats de comptage de la FTAM lors de la conservation de viande hachée qui à était conservé par deux films (témoin « FT", et l'extrait de la plante *P.odora* avec l'eau distillée « PW ») représenté dans le graphe suivant :

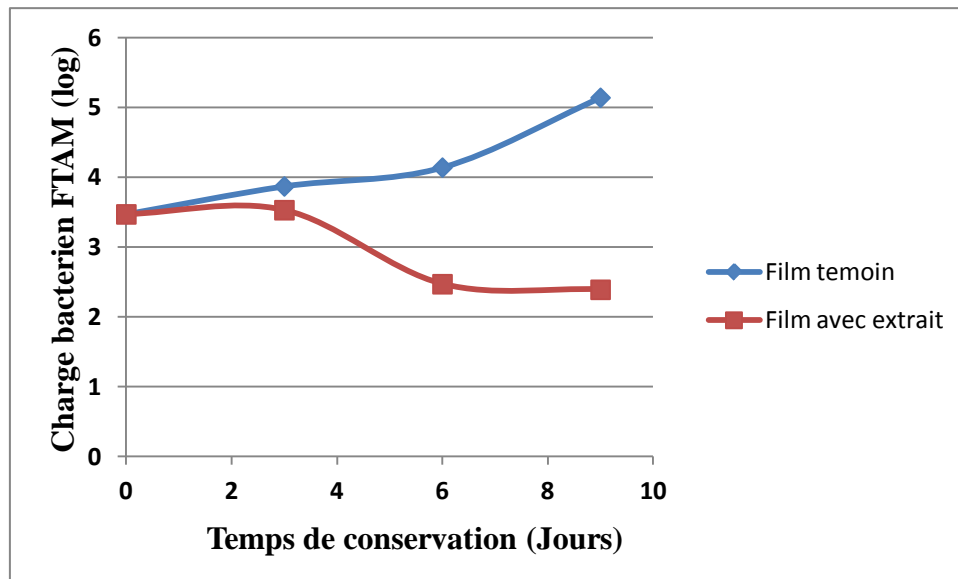


Figure 13 : Graphe représenté le comptage de la charge de FTAM lors de conservation.

Le graphe représente la charge bactérienne de FTAM de la viande hachée conservée pendant 9 jours on observe que :

Par apport le FT (Film témoin) : la charge bactérienne de viande hachée emballé par le film témoin « sans Extrait » augmenté avec le temps (les jours), où elle était nulle dans les troisièmes jours de la conservation après 6 jours on trouve que la charge bactérienne élevée jus 'qua 9 jours la charge bactérienne de la FTAM à été (83,33 UFC/g).

Par apport PW : la charge bactérienne de viande hachée emballé par le film ajouté l'extrait de plante de *P. odora* avec l'eau distillée dans les troisièmes jours la charge à était élevée (147 UFC/g) après 6 jours on observe la charge bactérienne démunie progressivement, jus' qua ce qui il atteigne (25 UFC/g) et reste démunie jus 'qua 9 jours (14,33 UFC/g).

Selon les résultats obtenus, on peut conclure que le film de gélatine a effets positifs sur la durée de conservation de la viande hachée, Cette extrait permet d'améliorer les caractéristiques des films.

Cette étude a démontré que l'application d'un film à base de gélatine contenant l'Extrait de la plante *Pulicaria odora* pourrait le potentiel de contrôle de la croissance des bactéries pathogènes.

Conclusion

L'utilisation des emballages bioactif dans la conservation des aliments a fait l'objet de plusieurs études récentes. Les films bioactif à base des polymères tels que la gélatine et le chitosane additionné des substances bioactives (acide gallique, BHT et α -tocophérol) ou des extraits de plantes sont considéré une nouvelle approche pour la bioconservation.

Dans ce travail nous avons préparé des films à base de la gélatine et du glycérol comme plastifiant. L'ajout de l'extrait de *Pulicaria odora* L. nous a permis de tester l'aptitude du film dans le processus de conservation.

L'étude des caractéristiques physicochimiques des films nous a donné des résultats proches à ceux motionnés dans des travaux précédents.

Le film ajouté d'extrait de *Pulicaria odora* L. a été utilisé comme emballage pour la conservation de la viande hachée. Comparant au film non additionné de l'extrait, le film bioactif a montré une capacité à la putréfaction au cours du stockage, traduite par la diminution de nombre de FTAM a partir du 3^{eme} jour.

Sur la lumière des résultats trouvés, on peut conclure que les feuil de *Pulicaria odora* L. constituent un potentiel important peut être exploité dans le domaine de la bioconservation et les emballages bioactifs.

Nos résultats restent préliminaires et méritent d'être approfondis par :

- l'étude de spectre d'absorption du film par Infrarouge à transformé de fourrier.
- l'étude de l'architecture du film en utilisant le microscope électronique à balayage.
- identification des composés phénolique par HPLC-MS.

A

Avik, K. (2014). Development of cellulose nanocrystal reinforced Antimicrobial nanocomposite films for food packaging application. Université du Québec. Thèse de Doctorat.

B

Beauchesne, Z. (2008). Emballage alimentaire : enjeux et opportunités. Fonds de développement de la transformation alimentaire (FDTA). Hydro-Québec.

Bertan, L., Tanada-Palmu, P., Siani, A., Grosso, C. (2005). Effect of Fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. *Food Hydrocolloids* 19 (2005) 73-82.

Birck, C. (2014). Conception et caractérisation de films antimicrobiens à base de poly (alcool vinylique) pour l'emballage à contact alimentaire. Université Lile 1. Thèse de Doctorat.

Boudieb, K., Ait, S., Ait, S. (2017). Impact des boues d'épuration sur les composants microbiologiques du sol ainsi que sur la culture de la luzerne (*Medicago Sativa L.*). 1^{ère} journée nationale de l'agro alimentaire, Engineering et Environnement.

Bouhanna, I. et al. (2021). Characterization and antibacterial activity of gelatin-based film incorporated with *Arbutus unedo L.* fruit extract on sardina pilchardus. *Jornal Food Process Preserv.* ; 00 :e15424.

Boulechfar, S. (2014). Valorisation des Substances Bioactives à Activités Pharmacologiques à partir de deux Asteraceae: *Aster squamatus* (Spreng) Hieron. *Cheirifolia* (L.) O.K. Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi. Thèse de magister.

Boussaa, A. (2013). Séparation des composés phénoliques de *Pulicaria odora* par chromatographie et étude de leurs activités antimicrobiennes. Université A.MIRA-BEJAIA. Thèse de magister.

Bouzabata, A. (2015). Contribution a l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus Communis L.* Université Badji Mokhtar Annaba. Thèse de Doctorat.

Bouzig W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane MC et Ayachi A. (2011). Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits de l'*Aubepine Monogyne*. *Lebanese Science Journal.* 12, 59-69.

Bozec, A. (2010). Veille sur les différents matériaux d'emballages. Institut de Porc. Rapport d'étude.

Brody, A.L. et Budny, J.A. (1995). Enzymes as active packaging agents. *Active Food Packaging*.

C

Coutinho, A., Carlos, F., Aguiar., Bandeira, D., Augusto, M., Dinis. (2011). Comparative pollen morphology of the Iberian species of *Pulicaria* (Asteraceae, Inuleae, Inulinae) and its taxonomic significance. *Plant Syst Evol* (2011) 297:171–183.

Coma, V. (2008). Bioactive Packaging technologies For extended shelf life of meat-based products. *Meat Science* 78(2008) 98-103.

D

Djilali, A. Benseddik, A. Bouacema, K. Allafd, K. Nabieve, M. (2020). Functional Properties of *Pulicaria odora L.* Leaves Pre-coated in gel based Ziziphus jujuba Mill. Peel Powder. Mouloud Mammeri University of Tizi-Ouzou.

Djeridane, A. et al. 2006. Antioxadant activity of some algerian medicinal plants extracts Containing phenolic compound. *Food Chemistry* 97(2006) 654-660.

Djermane, N. (2014). Extraction des métabolites secondaires de plantes médicinales: *Pulicaria arabica* (L.) Cass. Et *Rhanterium adpressum* Coss. & Durieu. Et evaluation de leurs propriétés bioactives. Université labri ben mhidi -Oum el Bouaghi. Thèse de magister.

Dupont, F., Guignard, J.-L. Botanique les familles de plantes. 15^e édition. P 266.

E

E.L. Hanbali, F. et al. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora L.* *Journal of Ethnopharmacology* 99 (2005) 399–401.

Ezoubeiri, A. et al. (2005). Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora L.* *Journal of Ethnopharmacology* 99 (2005) 287–292.

F

Fellah, H. et al. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs and their biological activities. *C.R. Biologies* 331 (2008) 372-379.

Floros, D. (2010). Active Food Packaging Technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44:185–193.

Fortunati, E., Peltzer, M., Armentano, I., Jiménez, A., Kenny, J.M. (2013). Combined effects of cellulose nanocrystals and silver nanoparticles the barrier and migration properties of PLA nano-biocomposites. *Jornal of Food Engineering*. 1-8.

G

Galvez, A., Abriouel, H., Lucas Lopez, R., Ben Omar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for Food biopreservation. *International journal of Food Microbiology* 120(2007) 51-70.

Ghali, S. (2017). Nanotechnologie et emballages alimentaires: enjeux, acteurs et impacts. Université du Québec à Montréal. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en science de l'environnement.

Gherib, M., Bekhechi, CH., EL-haci, I., Chaouche, T., Atik-Bekkara, F. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of aerial part essential oil and some organic extracts from Algerian medicinal plant *Pulicaria Mauritanica Coss.* *IJPSR* (2016); vol. 7(1) : 76-84.

Girardi, C. (2005) .recherche d'accepteurs de Michael à visées antiparasitaires à partir d'une Asteraceae : *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) cronquist. Université de Toulouse. Thèse de doctorat.

Gomez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., Gomez-Guillén, M. (2009). Incorporation of antioxidant borag extract into edible films based on soleskin gelatin or commercial fish gelatin. *Jornal of Food Engineering* 92 (2009) 78-85.

Guide de l'emballage alimentaire. Conseil de la transformation agroalimentaire et des produits de consommation. P14.

H

Hamama, A. (1989). Qualité bactériologique des fromages frais marocains *Options Méditen-anéennes* - Série Séminaires - n." 6 - 1989: 223-227.

Hamel, T. Sadou, S. Seridi, R. Boukhdir, S. Boulemtafes, A. (2018). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord-est algerien). *Ethanopharmacologia*, n°59, mars 2018.

Hammiche, H. et Ouazene, N. (2013). Activité antibactérienne des extraits de *Pulicaria odora L.* Université Abderahmane Mira de Bejaia. Thèse d'Ingénieur d'état.

J

Jakopic, J. Veberic, R. Stampar, F. (2009). Extraction OF phenolic compound from green walnut fruits in different solvents. 10.2478/v10014-009-0002-4.

Journal officiel de la république algérienne n°35. 27 mais 1998.

K

Kenoufi, M. (2018). Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et activités biologiques de *Senecio giganteus* Des f et *S. jacobaea* L. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Thèse de Doctorat 3ème cycle.

Kothapalli, A. (2007). Novel surface activation technique using energy curable material for the production of bioactive packaging. ProQuest Number: 10161403.

L

Labioui, H. et al. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull.soc. pharm. bordeaux*, 2009, 148, 7-16.

Lopez, R. (2011). Bioactive food packaging strategies. Novel Materials and Nanotechnology Group, IATA-CSIC, Spain. P460-461.

Lopez-Rubio, A., Gavara, R., Lagaron, J, M. (2006). Bioactive packaging : turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science and Technology* 17 (2006) 567-575.

M

Mariam KA épouse SY. (2006). Evolution de la flore Bacterienne des viandes de Bœuf Hachees au cours d'un stockage refrigerere. Universite cheikh ANTA DIOP de DAKAR. Mémoire d'étude approfondie.

Mouas, Y., Benrebiha, F., Chauia, CH. (2017). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de *Romarin Rosmarinus Officinalis L.* *Revue Agrobiologia* (2017) 7(1) : 363-370.

O

Ozdemir, M., Floros, J.D. (2004). Active Food Packaging Technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44 :3, 185-193.

P

Parejo, I. et al. (2003). Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging Activity and antioxidant activity. *Life Sciences* 73 (2003) 1667–1681.

Portes, E. (2008). Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes: Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. L'université Bordeaux I. Thèse de Doctorat.

R

Rubilar, Javiera F. Crus, Rui M.S. Silva, Hélder D. Vicente, Antonio A. Khmelinskii, Igor. Vieira, Margarida C. (2013). Physico- mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering* 115 (2013) 466-474.

S

Salgado, P., Di Gioglio, L., Musso, Y., Mauri, A. (2019). Bioactive packaging : Combining Nanotechnologies With Packaging For Improved Food Fonctionality. *Nanomaterials For Food Application*. P 235-236.

T

Thomazine, M., Rosemary, A., Carvalho., Paulo, J.A. Sobral. (2005). Physical properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol. *Journal of FOOD SCIENCE*-Vol. 70, Nr. 3, 2005.

Touati, N., Saidani, K., Boudries, H., Hammiche, H., Ouazene, N. Bedjou, F. (2018). Antibacterial activity of phenolic compound of *Pulicaria odora*, wild plant in northern Algeria. *International Food Research Journal* 25(5): 2121-2130.

Y

Yahyaoui, M. (2020). Application des huiles essentielle dans le domaine des emballages alimentaires. Convention entre Université de Tunis el Manar (UTM) et Université de Pays Basque. Thèse de Doctorat en chimie organique.

Z

Zefzoufi, M. et al. (2020). *Pulicaria odora* essential oil: a potential source of eco- friendly antioxidants and allelochemicals .*Mediterranean Journal of Chemistry* 10(6), 608-618.

Site internet

ANONYME. (2017). Flora nel salento e Anche altrove. <http://floranelsalento.blogspot.com/2012/05/pulicaria-odora-l-rchb-asteraceae.html>. (Page consultée le 19.06.2021).

Botanica. (2011). *Pulicaria odora L* (eFlore, la flore électronique de Tela Botanica). <https://www.tela-botanica.org>. (Page consultée le 19.06.2021).