

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaïa.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
Département des Sciences Alimentaires.
Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire.



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Utilisation des huiles essentielles de
l'écorce du pamplemousse dans la
crème fraîche**

Présenté par :

AOULI Lydia & CHALAL Imane.

Soutenu le : **24 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme. HAMITRI - GUERFI F.

MCB

Président

Mme. OUKIL N.

MCA

Encadreur

Melle. TOUATI N.

MAA

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous voudrions présenter nos remerciements à notre encadreur « Mme OUKIL ».

Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier Meriem, Mme MERZOUK, Mme SAIDANI, les techniciennes de laboratoire : Mme OUAER et Mme KHERBACHI, ainsi que toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

À la mémoire de mes grands-pères.

À mon père

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras.

À ma mère

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien.

À ma sœur : Tinhinane, pour son encouragement permanent, et son soutien moral.

À ma meilleure amie : Narimane, mon allier, mon bras droit, ma confidente et ma sœur de cœur.

À ma binôme " Imane " pour ce travail d'équipe, ces aventures et fous-rires.

À Yanis, à mes fidèles amis, à Meriem, à mes collègues, à ma famille et à ceux qui me sont chers.

Aouli Lydia

Dédicace

A la mémoire de mon père, parti trop tôt. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A ma très chère mère qui m'a toujours soutenue et épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, avec tout mon amour et ma reconnaissance pour être devenue ce que je suis.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes grands-parents que dieu les protègent et les gardent.

A mon frère, mes oncles et mes cousins.

A toute ma famille paternelle et maternelle petits et grands, et à tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqués.

A mes meilleures amies : Melissa, Mira et Nouna.

A ma binôme « Agnès » pour son entente, sa sympathie et le partage de ce travail.

A Meriem et à tous les étudiants de ma promo QPSA 2017/2018, plus particulièrement Sylia.

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

CHALAL Imane

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures et liste des tableaux en annexes

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

I. Généralités..... 2

II. Description botanique 3

II.1. Classification botanique..... 3

II.2. Composition du pamplemousse 4

II.3. Production du pamplemousse 4

III. Les huiles essentielles..... 5

III.1. Définition 5

III.2. Localisation et biosynthèse des huiles essentielles 5

III.3. Composition chimique de l'huile essentielle de pamplemousse 6

III.4. Rôles physiologiques des huiles essentielles..... 7

III.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles 7

III.6. Domaines d'application des huiles essentielles 8

IV. Crèmes de lait..... 9

IV.1. Définitions..... 9

IV.2. Catégories des crèmes lactières 9

IV.3. Processus de fabrication de la crème lactière 11

Matériel et méthodes

I. Matériel	12
I.1. Matériel végétal	12
I.2. Souches bactériennes	12
I.3. Crème fraîche	14
II. Méthodes	14
II.1. Extraction de l'huile essentielle de pamplemousse	14
II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de pamplemousse	15
II.3. Effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse	16
III. Incorporation de l'huile essentielle dans la crème fraîche	19
III.1. Analyses physico-chimiques de la crème fraîche	19
III.2. Recherche et dénombrement de la FTAM	21

Résultats et discussion

I. Rendement en huile essentielle de pamplemousse	23
II. Evaluation de l'activité antibactérienne et l'effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse	24
II.1. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de pamplemousse	24
II.2. Effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse	26
III. Analyses physico-chimiques de la crème fraîche	28
IV. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile	31
Conclusion et perspectives	33

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau I.	Classification de <i>Citrus paradisi</i>	3
Tableau II.	Composition biochimique moyenne du pamplemousse.....	4
Tableau III.	Composition de l'huile essentielle de pamplemousse obtenue par hydrodistillation.....	6
Tableau IV.	Valeurs nutritionnelles moyennes de la crème fraîche épaisse.....	10
Tableau V.	Souches pathogènes utilisées.....	13
Tableau VI.	Souches probiotiques utilisées.....	13
Tableau VII.	Degré de sensibilité des bactéries aux huiles essentielles selon le diamètre des zones d'inhibition.....	16
Tableau VIII.	Expression de l'effet probiotique.....	17
Tableau IX.	Rendements d'extraction de l'huile essentielle des écorces du pamplemousse.....	23
Tableau X.	Concentrations de l'huile essentielle de pamplemousse utilisées.....	24
Tableau XI.	Activité antibactériennes de l'huile essentielle de pamplemousse sur les souches pathogènes testées.....	25
Tableau XII.	Effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse sur les bactéries lactiques et les différentes associations	26
Tableau XIII.	Evolution de la FTAM après incorporation de l'huile essentielle de pamplemousse.....	31

Liste des figures

Figure 1.	Diagramme du processus de fabrication de la crème fraîche.....	11
Figure 2.	Schéma général d'un hydrodistillateur.....	14
Figure 3.	Schéma explicatif de la méthode de l'aromatogramme.....	18
Figure 4.	Evolution de l'acidité titrable des crèmes fraîches au fil des jours.....	28
Figure 5.	Evolution de la matière grasse des crèmes fraîche au fil des jours.....	29
Figure 6.	Evolution de l'humidité des crèmes fraîches au fil des jours.....	30
Figure 7.	Evolution de l'EST des crèmes fraîches au fil des jours.....	30

Liste des tableaux en annexes

Annexe 1 : Milieux de cultures utilisés

Annexe 2 : Résultats des analyses physico-chimiques de la crème fraîche

Liste des abréviations

°D.	Degré Dornic.
ATCC.	American Type Culture Collection.
CA- SFM.	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
DLC.	Date limite de conservation.
EST.	Extrait sec total.
FAO.	Food and Agriculture Organization.
FTAM.	Flore totale aérobie mésophile.
GE RCN.	Groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition.
GN.	Gélose nutritive.
HE.	Huile essentielle.
MG.	Matière grasse.
MH.	Mueller Hinton.
MRS.	Man-Rogosa-Sharpe.
nm.	Nanomètre.
PCA.	Plant Count Agar.

Introduction

Introduction

La conservation des produits laitiers constitue une précaution majeure depuis leurs productions jusqu'à leurs consommations. Leurs altérations peuvent entraîner un risque sanitaire et commercial, suite à leur contamination par les micro-organismes qui se développent dans le produit (**FAO 1995**).

La crème fraîche est un produit laitier relativement riche en matières grasses (MG), ce qui la rend susceptible aux altérations par les micro-organismes capables d'hydrolyser la matière grasse causant l'amertume et le rancissement du produit (**Jamotte, 1967**) et (**Fredot, 2005**).

Les huiles essentielles sont connues pour leurs effets antibactériens, elles sont depuis longtemps utilisées dans le domaine médical, cosmétique et en phytothérapie. Au cours de ces dernières années, les huiles essentielles sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour rehausser le goût des aliments et sont actuellement étudiées pour mieux cerner leur efficacité comme conservateurs naturels. Ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques qui présentent des effets néfastes sur la santé (**Bessah et Benyoussef, 2015**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude dont l'objectif principal vise la possibilité d'utilisation de l'huile essentielle de pamplemousse comme agent conservateur dans la crème fraîche et ce, en évaluant son activité antibactérienne sur deux souches pathogène ainsi que son effet probiotique sur des ferments lactiques.

Hormis l'introduction et la conclusion, le manuscrit s'articule sur trois grandes parties. La première partie traite la synthèse bibliographique relative au pamplemousse, huiles essentielles et crèmes de lait. Dans la seconde partie, nous avons d'abord décrit le matériel végétal utilisé et la méthode d'extraction et d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus paradisi*. Ainsi que son effet probiotique sur les bactéries lactiques présentes dans la crème fraîche et sur certaines associations entre des souches pathogènes et probiotiques. Nous avons incorporé l'HE de pamplemousse à différentes concentrations ($450 \cdot 10^3$, $225 \cdot 10^3$ et $112,5 \cdot 10^3$ $\mu\text{g/ml}$) dans des pots de crème fraîche sur lesquels différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été effectués.

Dans la dernière partie, les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été présentés et discutés, suivie d'une conclusion générale et des perspectives.

Synthèse

Bibliographique

I. Généralités

Le pamplemousse a été décrit pour la première fois en 1750 par Griffith Hughes qui l'a appelé le « fruit défendu » de la Barbade (**Morton, 1987**). Il est le seul agrume à ne pas être originaire du Sud-Est asiatique. Découvert au XVIII^e siècle aux Bahamas, il est apparu aux Antilles au début du XIX^e siècle, issu d'un croisement entre le vrai pamplemousse *Citrus grandis* et l'oranger doux (**Coubroulex, 2010**).

Au début, l'arbre était cultivé seulement comme une nouveauté en Floride et le fruit était peu utilisé. Même au Jamaïque, les arbres étaient souvent coupés. En 1910, le pamplemousse est devenu une culture commerciale importante dans le Rio Grande et, dans une moindre mesure, en Arizona et dans les vallées désertiques de la Californie. Il prospère dans un climat subtropical chaud. (**Morton, 1987**).

Le mot "pamplemousse", provient du néerlandais "pompelmoes", lui-même dérivé de "pompel" signifiant "gros citron" (**Sharamon et Baginski, 1998**). Selon **Brichet (1946)**, le mot "pomelo" semblerait tout simplement être une altération du mot "pampelmo" ou "pompelmoes". Le pomelo porte ses fruits en bouquets, ce qui lui a valu le nom de grapefruit que lui donnent généralement les Américains et les autres peuples de langue anglaise.

Pamplemousse ou pomelo ?

Deux noms indifféremment donnés par les consommateurs, à deux fruits différents, confondus sous le même vocabulaire de "pamplemousse".

- **Pamplemousse**

Le véritable pamplemousse est un fruit à peine comestible sans valeurs alimentaire ni culturelle. Connu sous le nom scientifique *Citrus maxima*, *Citrus grandis* ou encore *Citrus decumana*, de forme légèrement aplatie aux deux pôles, il atteint la grosseur d'un melon, à peau lisse et de couleur vert-jaune à maturité (**Brichet, 1946**).

- **Pomelo**

C'est un fruit de grande consommation mondiale, au même titre que l'orange, et d'une grande valeur alimentaire et industrielle. Il est de dimension réduite comparé au véritable pamplemousse. Connu sous le nom scientifique *Citrus paradisi*, il peut atteindre les 300 à 600 grammes selon les variétés (**Brichet, 1946**).

II. Description botanique

L'arbre du *Citrus paradisi* est à feuillage dense et de fécondité prodigieuse, ses feuilles sont larges, ovales et brillantes, à pétioles ailés plus faiblement que chez *Citrus maxima*. Aux petites fleurs blanches et parfumées donnant des fruits en grappe comme du raisin, d'où le nom américain de 'grapefruit' (**Bachès, 2011**). Son écorce est de la même épaisseur que les oranges, lisse et d'une belle couleur jaune citron. Sa chair est composée de 9 à 14 tranches séparées par des membranes minces et fragiles, pleines d'un jus abondant, doux, acidulé et sa légère pointe d'amertume le rend particulièrement agréable à la dégustation. Le pomelo ne contient généralement que peu ou pas de pépins (**Brichet, 1946**).

II.1. Classification botanique

Selon **Kharjul et al. (2012)**, la classification *Citrus paradisi* est résumée dans le Tableau I

Tableau I : Classification de *Citrus paradisi* (Kharjul et al, 2012).

Règne	Végétal
Embranchement	Magnoliophytes
Classe	Magnoliposida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutacées
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus paradisi</i>

Il existe plusieurs variétés de *Citrus paradisi*, à savoir : Duncan, Marsh, Shambar, Gold, Orblanco et Star Ruby (**Bachès, 2011**).

II.2. Composition du pamplemousse

Selon **Morton (1987)**, des analyses réalisées en Californie, au Texas, en Floride, à Cuba et en Amérique centrale ont révélé la composition biochimique moyenne du pamplemousse. Les résultats sont exprimés dans le Tableau II.

Tableau II : Composition biochimique moyenne du pamplemousse (**Morton, 1987**).

Composition pour 100g	Pulpe	Jus	Ecorce
Calorie (Kcal)	34.4 - 46.4	37 – 42	316
Humidité (g)	87.5 - 91.3	89.2 - 90.4	17.4
Protéine (g)	0.5 - 1.0	0.4 - 0.5	0.4
Lipide (g)	0.06 - 0.20	0.1	0.3
Glucide (g)	8.07 - 11.5	8.8 - 10.2	80.6
Fibre (g)	0.14 - 0.77	Traces	2.3
Cendre (g)	0.29 - 0.52	0.2 - 0.3	1.3

II.3. Production du pamplemousse

- **A l'échelle mondiale**

Le premier producteur mondial de pamplemousse est les États-Unis, qui sont également le plus grand exportateur de pamplemousses frais, représentant près de 40% des exportations totales. Viennent ensuite l'Afrique du Sud et Israël. Un nouvel acteur sur le marché des pamplemousses frais est la Turquie. Ayant perdu son accès préférentiel aux marchés des pays du bloc socialiste, Cuba exporte beaucoup moins de pamplemousses frais. Cependant, la majeure partie de la production est consommée sur les marchés intérieurs, le total des exportations de pamplemousses frais représentant moins de 40% de la production mondiale (**FAO, 2004**).

Les États-Unis, Israël et Cuba sont les principaux fournisseurs de jus de pamplemousses, et leurs exportations représentent approximativement la moitié de la production mondiale de pamplemousses traités (**FAO, 2004**).

- **En Algérie**

En Algérie, la production agrumicole est constituée à 72% d'oranges, 16% de clémentines, 4% de mandarines, 7% de citrons et 1% de pomelos (**Anonyme 1, 2012**).

L'agrumiculture algérienne compte une quarantaine de variétés, dont 20 d'oranges, 15 de clémentine et mandarines, 5 de citrons et divers fruits dont le pomelo, avec une production estimée à 14 500 quintaux par an (**Anonyme 1, 2012**).

III. Huiles essentielles

III.1. Définition

Les huiles essentielles sont des composés volatils, naturels et complexes. Elles sont caractérisées par une forte odeur et sont synthétisées par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Les huiles essentielles sont généralement obtenues par la vapeur ou l'hydrodistillation. Elles sont liquides, volatiles, limpides et rarement colorées, solubles dans les lipides et dans les solvants organiques, avec une densité généralement plus faible que celle de l'eau (**Bakkali et al, 2008**).

Selon **Bekhchi et Abdelouahid (2010)**, il est important de distinguer entre les huiles essentielles, les huiles fixes (huile d'olive ...) et les graisses contenues dans les végétaux. En effet :

- Seules les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes et des graisses.
- Elles se distinguent des huiles fixes par leurs compositions chimiques et leurs caractéristiques physiques.

III.2. Localisation et biosynthèse des huiles essentielles

Selon **Bardeau (2009)**, la plupart des plantes renferment des essences, cependant, elles sont particulièrement abondantes dans les végétaux aromatiques des familles suivantes : labiées, ombellifères, myrtacées, rutacées, lauracées, conifères, térébinthacées. Selon les cas, les huiles essentielles sont extraites des sommités fleuries ou des fleurs (camomille), des feuilles (menthe), des semences ou des fruits, des racines, des écorces (cannelle), zeste (pamplemousse) ou du bois (cèdre).

Les huiles essentielles se retrouvent dans des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées qui servent à leurs synthèses et à leurs stockages. Ces cellules sont rarement à l'état isolée, mais le plus souvent regroupées dans des poches, dans des canaux sécréteurs ou dans des poils sécréteurs. Elles sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013**).

III.3. Composition chimique de l'huile essentielle de pamplemousse

Les huiles essentielles d'agrumes sont des mélanges comportant plus de 200 composés qui peuvent être regroupés en fractions non volatiles (1-15 %) et volatiles (85-99 %). Cette dernière fraction contient principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes ainsi qu'une petite quantité de monoterpènes oxygénés (**Mondello et al, 2005**). Le d-limonène est le constituant principal des fruits et des huiles essentielles obtenues par expression ou par distillation de zeste de fruit appartenant au genre *Citrus* (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013**). A titre d'exemple : L'huile extraite de l'écorce du pamplemousse peut contenir 90% de limonène. (**Morton, 1987**).

Bousbia (2011) et **Sayah et al. (2013)** ont mené une étude sur la composition chimique de l'huile essentielle de l'écorce de pamplemousse. Quelques composés sont résumés dans le Tableau III.

Tableau III : Composition de l'huile essentielle de pamplemousse obtenue par hydrodistillation (**Bousbia, 2011**), (**Sayah et al, 2013**).

	(Bousbia, 2011)	(Sayah et al, 2013)
Limonène %	95,05	56,2
β-Mycènes %	1,73	-
Linalol %	0,17	0,57
α-Pinène %	0,41	0,61

Selon **Goetz et Ghedira (2012)**, les huiles essentielles sont des mélanges qui exercent des activités antimicrobiennes plus importantes que celle de leurs constituants respectifs. L'activité de l'huile essentielle serait due principalement aux effets combinés de plusieurs composants minoritaires.

La qualité et la composition chimique des huiles essentielles est différente d'une huile à une autre. Cette variabilité est d'ordre génétique, mais dépend aussi de la période de récolte, des conditions climatiques, de la localisation géographique, de la nature du sol et des méthodes d'extractions (**Bruneton, 2009**), (**Bekhchi et Abdelouahid, 2010**) et (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013**).

III.4. Rôles physiologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont des propriétés communes, mais chacune a son domaine de prédilection ainsi, certaines sont utilisées pour leurs vertus antivirales, ou antifongiques, d'autres pour leurs bienfaits anti-inflammatoires ou encore leurs actions apaisantes (**Goetz et Ghedira, 2012**).

III.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

- **Hydrodistillation**

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 2009**).

Une hydrodistillation peut être prolongée sur plusieurs heures, sa durée varie en fonction du matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition chimique de l'extrait (**Lucchesi, 2005**).

- **Entraînement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle (**Lucchesi, 2005**).

- **Enfleurage à froid**

Cette technique a été, au départ, utilisée par les égyptiens puis a été développée à Grasse au XIX^e. Il semblerait que l'application majeure soit en parfumerie, et ne concerne que les fleurs fragiles, qui gardent l'odeur après la cueillette, mais dont l'hydrodistillation risque de dégrader les molécules odorantes présentes. Cette technique consiste à mettre les fleurs en contact avec un corps gras inodore. Le mélange est ensuite épuisé par un solvant organique, puis ce dernier est évaporé (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013**)

III.6. Domaines d'application des huiles essentielles

- **Pharmaceutique**

Dans la grande majorité, les plantes sont utilisées pour la préparation d'infusions. Elles sont également exploitées pour l'obtention des huiles essentielles dont certaines peuvent avoir un intérêt médicamenteux. Les huiles essentielles en pharmaceutique sont surtout utilisées pour l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale (**Bruneton, 2009**).

Selon **Kaloustian et Hadji-Minaglou (2013)**, les huiles essentielles sont utilisées en thérapeutiques et c'est principalement les propriétés antiseptiques, et antifongiques qui sont reconnues par les autorités sanitaires dans ce domaine.

- **Agroalimentaire**

Les huiles essentielles sont utilisées comme rehausseurs de goût et pour améliorer la saveur des produits alimentaires élaborés. Depuis peu les industriels ont souhaité l'utilisation des huiles essentielles comme conservateurs remplacent les molécules de synthèses classiques couramment utilisées (**Kaloustian, Hadji-Minaglou, 2013**). Tous les segments alimentaires sont consommateurs : alcools, boissons non alcoolisées, confiseries, sauces, produits laitiers ... etc (**Bruneton, 2009**).

Les huiles essentielles peuvent être utilisées dans d'autres domaines à titre d'exemple : le cosmétique pour l'élaboration des parfums et les eaux de toilettes (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013**).

IV. Crèmes de lait

IV.1. Définitions

La crème est le produit laitier fluide plus ou moins riche en matière grasse qui se présente sous la forme d'une émulsion du type graisse-dans-lait écrémé et qui a été obtenue en la séparant physiquement du lait (**Codex Alimentarius, 2003**).

Selon le groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition (**GEM RCN, 2009**), la dénomination crème est réservée au lait contenant au moins 30 g de matière grasse provenant exclusivement du lait pour 100 g de poids total.

IV.2. Catégories des crèmes lactières

Selon la **FAO (2010)**, l'opération d'écémage du lait, donne deux produits : le lait écrémé et la crème. La crème est constituée du lait concentré en matière grasse à environ 10 fois. On distingue généralement deux catégories de crème.

IV.2.1. Crème de consommation

Utilisée directement, notamment en cuisine, en pâtisserie, dans la préparation des crèmes glacées...etc. Il en existe plusieurs formes, variant selon leur teneur en matière grasse, le traitement subi, le mode de conservation et la réglementation propre à chaque pays.

Les crèmes de consommation peuvent être classés selon deux critères :

➤ **Selon le taux de matière grasse**

- **La crème légère** : ou crème allégée contenant entre 10 et 20 % de MG. Elle est notamment utilisée avec le café, le thé, les fruits en compotes.
- **La crème épaisse** : ou maturée contenant au moins 30 % de MG : elle est surtout utilisée dans les préparations culinaires et les pâtisseries.

➤ **Selon le traitement thermique**

- **Crème cru** : La crème peut ne pas faire l'objet d'un traitement thermique d'assainissement pour la vente au détail, à la condition d'être mise en vente sous la dénomination de « crème crue ».

- **Crème pasteurisée** : La crème fraîche désigne une crème n'ayant subi que le traitement de pasteurisation et conditionnée sur le lieu de production dans un délai de 24 heures après celle-ci. La crème fraîche pasteurisée peut être épaisse ou liquide (**GEM RCN, 2009**).
- **Crème UHT** : la crème crue est stérilisée à 150°C pendant 2 secondes, puis refroidie rapidement. Les qualités organoleptiques et nutritionnelles sont ainsi conservées. Comme la stérilisation ne permet pas l'ensemencement, elle reste donc liquide (**Fredot, 2005**).

IV.2.2. Crème de transformation destinée à la fabrication du beurre et autres produits

Les crèmes destinées à la transformation, notamment à la fabrication du beurre, subissent divers traitements de préparation. Certains sont facultatifs, mais tous sont destinés à améliorer les conditions technologiques et économiques et la qualité des produits fabriqués (**GEM RCN, 2009**).

IV.2.3 Valeurs nutritionnelles de la crème fraîche

La crème fraîche est le corps gras le plus riche en eau : sa teneur hydrique moyenne s'élève à 65%. Sa teneur énergétique (239 kcal/100g) est par conséquent, inférieure à celle des autres corps gras (**Anonyme 2, 2013**).

Le Tableau IV ci-dessous résume la valeur nutritionnelle de la crème de lait épaisse à 30% de matière grasse

Tableau IV : Valeurs nutritionnelles moyennes de la crème fraîche épaisse et allégée (**Fredot, 2005**), (**Anonyme 3**).

Composition (g)	Valeurs moyenne pour 100g à 30% de MG minimum	Valeurs moyenne pour 100g à 15% de MG minimum
Eau	62	76
Lipides	33.5	15
Glucides	3	4.5
Protéines	2	3

IV.3. Processus de fabrication de la crème laitière

La figure 1, montre le diagramme de la fabrication de la crème fraîche.

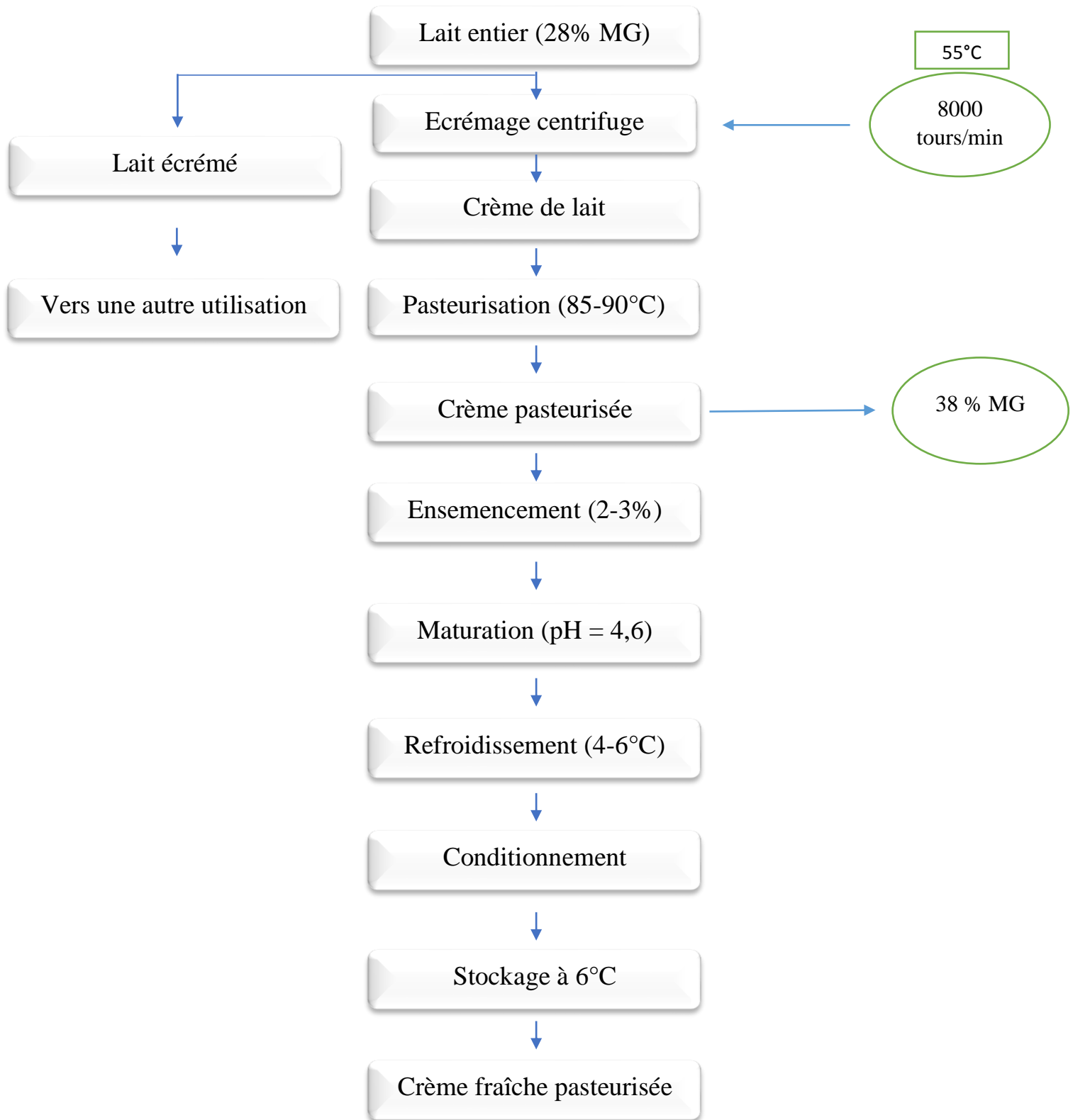


Figure 1 : Diagramme du processus de fabrication de la crème fraîche (Fredot, 2005).

Matériel et méthodes

Dans cette étude on s'est intéressé à la détermination de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de pamplemousse sur des bactéries pathogènes, et de l'effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse en présence des bactéries lactiques fermentant la crème fraîche.

L'objectif visé dans notre étude est d'améliorer la conservation de la crème fraîche. Des analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été réalisées pour confirmer l'objectif qu'on s'est fixé lors de cette étude.

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Dans le cadre de notre étude, le pamplemousse utilisé a été acheté dans la région de Bejaïa, au mois de février 2018. La variété utilisée est : *Marsh seedles* (**Anonyme 4**), qui se caractérise par son écorce lisse de couleur jaune. Sa chair est juteuse et contient peu ou pas de pépins. Le pamplemousse a une saveur acidulée, plus ou moins sucrée avec une pointe d'amertume.

La matière végétale a été lavée à l'eau dans le but d'éliminer les souillures, et toutes traces de produits chimiques et de pesticides, puis essuyer à l'aide d'un chiffon propre et sec.

Afin d'extraire le maximum d'huile essentielle, l'écorce de *Citrus paradisi* a été récupérée d'une façon à éliminer la partie blanche (albédo) et d'en garder que la partie colorée (flavédo) qu'on a découpée en petits morceaux.

I.2. Souches bactériennes

Pour évaluer l'action de l'huile essentielle du pamplemousse sur la durée de conservation de la crème fraîche, des souches bactériennes ont été choisies.

- **Souches pathogènes**

Deux souches pathogènes (voir Tableau V), nous ont été fournies par le laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Bejaïa. Les souches utilisées sont responsables de pathologies infectieuses et proviennent d'une collection américaine ATCC (American Type Culture Collection).

Tableau V : Souches pathogènes utilisées.

Souches	Gram	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 8577
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC A404

- **Souche probiotique**

Les probiotiques sont des bactéries bénéfiques qui peuvent se trouver dans divers aliments. Elles peuvent être utilisées comme additif alimentaire grâce à leur action bénéfique sur l'hôte (Fuller, 1989). L'objectif de notre travail était d'étudier dans un premier temps l'effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse sur les bactéries lactiques. En second lieu, l'effet probiotique de l'huile essentielle sur l'association : (bactéries lactiques + souches pathogènes). Une culture mixte lyophilisée fermentant la crème fraîche nous a été fournie par la laiterie d'Amizour (Tableau VI).

Tableau VI : Souches probiotiques utilisées.

Souches	Référence
Culture mixte lyophilisée composée de : <i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i>	
<i>Lactococcus lactis subsp. Cremoris</i>	Flora Danica
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis</i>	N°3360223
<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris</i>	

I.3. Crème fraîche

La crème fraîche pasteurisée (Dialy) utilisée lors de notre étude nous a été fournie par la laiterie d'Amizour. Des analyses ont été effectuées au niveau de la laiterie et du laboratoire de microbiologie alimentaire de l'université de Bejaïa, sur des pots de 150 ml.

II. Méthodes

II.1. Extraction de l'huile essentielle du pamplemousse

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie alimentaire de l'université de Bejaïa à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928).

- **Mode opératoire**

Une quantité de 100 g de l'écorce du pamplemousse a été introduite dans un ballon à monocolle de 2 litres rempli d'eau jusqu'à un volume de 1 litre (Mohammedi et Atik, 2012). Le mélange (écorce du pamplemousse + eau) a été macérer une nuit, puis mis à chauffer pendant deux heures. Le mélange (eau + matière végétale) chauffé, produit de la vapeur chargée de produits volatils qui se condensent au contact d'un réfrigérant. Le condensat a été recueilli dans une ampoule à décanter où s'effectue la séparation des deux phases non miscibles : phase aqueuse et phase organique, cette dernière constitue l'huile essentielle (Chanthaphon et al, 2008), (Figure 2).

L'huile essentielle obtenue a été conservée au réfrigérateur, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement, à 4 °C et à l'ombre (Fadil et al, 2016), (Figure 2).

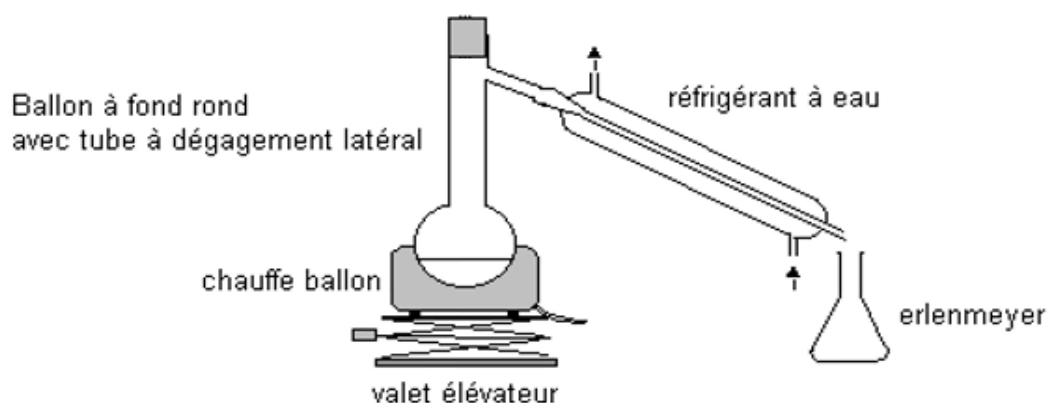


Figure 2 : Schéma général d'un hydrodistillateur (Clevenger, 1928).

II.1.2. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids du matériel végétal utilisé. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante (Mrabkt et al, 1999).

$$\text{Rd \%} = \frac{M_i \times 100}{M_o}$$

Rd : Rendement en huile essentielle (%).

M_i : Masse de l'huile essentielle extraite (g).

M_o : Masse du matériel végétal utilisé (g).

II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du pamplemousse

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du pamplemousse vis-à-vis des germes pathogènes résistants (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques réalisée sur milieu gélosé Mueller Hinton.

- **Standardisation des inocula bactériens**

A partir d'une culture jeune de 18 h, nous avons prélevé un volume qu'on a introduit dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile (0,9% de Na Cl) pour obtenir l'inoculum bactérien (Hazzit, 2008).

L'inoculum a été ajusté à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,13 à l'aide d'un spectrophotomètre, à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/ml. Avant usage, la suspension est mélangée vigoureusement à l'aide d'un Vortex. L'inoculum bactérien doit être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation (Oukil, 2013), (CA-SFM, 2018).

- **Mode opératoire**

La méthode de diffusion sur disques, appelée aussi méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore aromagramme. C'est une méthode inspirée de l'antibiogramme, qui se réalise in vitro (Baser et Buchbauer, 2009). Elle est utilisée pour la détermination des activités antimicrobiennes des huiles essentielles. A l'aide d'un écouvillon, 0,1 ml de la suspension bactérienne standardisée a été étalé sur la gélose Mueller Hinton. Les boîtes ainsiensemencées ont été mise à sécher 15 min à 37 °C.

Des disques stériles en papier filtre (6 mm de diamètre) ont été imprégnés de 15 µl d'huile essentielle, puis déposés sur les boîtes, qui ont été ensuite mises au réfrigérateur à 4 °C pendant 2 heures, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres, et tous les tests ont été réalisés en triple (Garrabé et al, 1998) et (Gachkar et al, 2007).

- **Expression des résultats**

Après 24h d'incubation, les zones d'inhibitions ont été examinées d'une manière où la boîte, étant à 30 cm de l'œil, ne doit pas être placée face à une lampe (lumière transmise).

Les zones d'inhibition sont mesurées au millimètre le plus proche avec une règle ou un pied à coulisse (CA-SFM, 2018).

Selon Ponce et al. (2003), la sensibilité des bactéries à l'huile essentielle a été classée selon le diamètre des halos d'inhibition, comme le résume le Tableau VII.

Tableau VII : Degré de sensibilité des bactéries aux huiles essentielle selon le diamètre des zones d'inhibition (Ponce et al, 2003)

Diamètres (mm)	Degré de sensibilité
$D < 8$	Non sensible (-)
$8 < D < 14$	Sensible (+)
$15 < D < 19$	Très sensible (++)
$D > 20$	Extrêmement sensible (+++)

NB : Le diamètre du disque est inclus.

II.3. Effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse

Afin d'évaluer l'effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse sur la culture mixte fermentant la crème fraîche composé de : *Lactococcus lactis subsp. Lactis*, *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar diacetylactis* et *Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris*.

Nous avons eu recours à la méthode des disques, encore appelée aromatoigramme, qui est réalisée sur gélose Mueller Hinton avec le même mode opératoire que celui des souches pathogènes.

- **Expression des résultats**

L'aromatoigramme a été utilisé sur la culture mixte seule et associée aux souches pathogènes en présence de l'huile essentielle. L'effet probiotique est exprimé selon le tableau VIII.

Tableau VIII : Expression de l'effet probiotique.

Zone	Effet probiotique
Présence de zone	Absence d'effet probiotique
Absence de zone	Présence d'effet probiotique

La figure 3, montre un schéma général explicatif de la méthode d'aromatogramme.

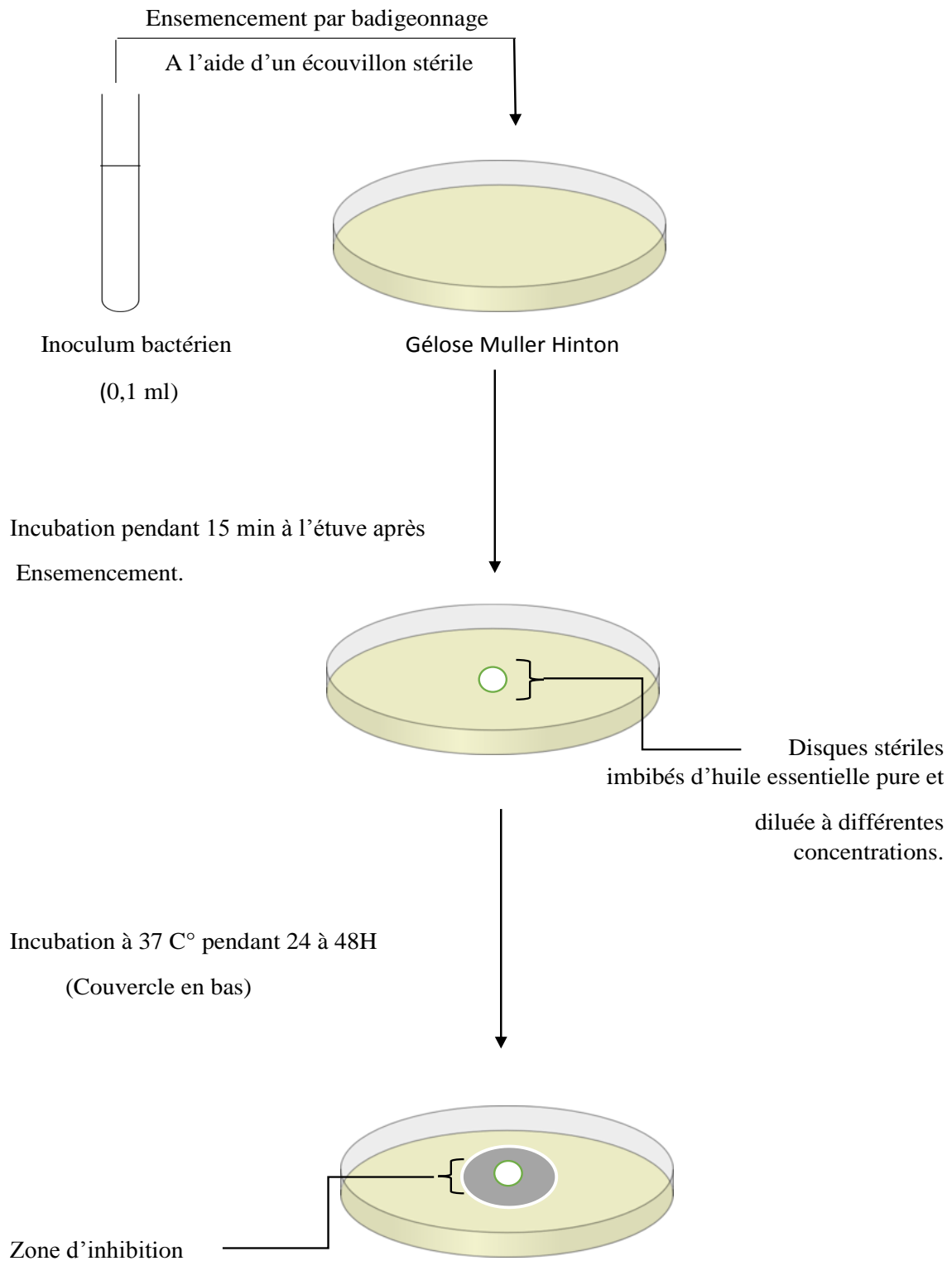


Figure 3 : Schémas explicatif de la méthode de l'aromatogramme

III. Incorporation de l'huile essentielle dans la crème fraîche

Afin de tester l'efficacité de l'huile essentielle dans la crème fraîche, des dilutions ont été préparées dans de l'agar à 0,2%, du fait de la non-miscibilité des huiles essentielles dans l'eau. Il permet d'obtenir une répartition homogène de l'huile essentielle (**Amarti et al, 2010**). Trois concentrations ont donc été obtenues : $C_0 = 450 \cdot 10^3 \mu\text{g/ml}$, $C_1 = 225 \cdot 10^3 \mu\text{g/ml}$, $C_3 = 112,5 \cdot 10^3 \mu\text{g/ml}$, et introduite dans des pots de crème fraîche de 150 ml. Des analyses physico-chimiques sont ainsi effectuées sur le témoin et les différentes concentrations durant le 1^{er}, 2^{eme}, 3^{eme}, et 15^{eme} jour après incorporation de l'huile essentielle, ainsi qu'un dénombrement de la flore totale aérobie mésophile.

III.1. Analyses physico-chimiques de la crème fraîche

III.1.1. Acidité titrable

L'acidité titrable mesure l'acidité potentielle du produit laitier. Il devient acide par la conversion du lactose en acide lactique par les micro-organismes. Moins le produit est frais, plus il contient d'acide lactique (**Farah et Abburrahman, 2004**).

- **Mode opératoire**

Dans un bécher 10 ml de crème fraîche ont été pipetés. Quelques gouttes de phénophtaléines (1%) sont ajoutées. L'ensemble est ensuite titré à l'aide d'une solution d'NaOH à (1N) jusqu'à apparition d'un virage de couleur vers le rose pâle.

- **Expression des résultats**

L'acidité titrable de la crème fraîche est exprimée selon la formule suivante

$$\text{Acidité Dornic (°D)} = \text{chute de burette} \times 10$$

III.1.2. Matière grasse

La teneur en matière grasse de la crème fraîche est effectuée à l'aide de la méthode Gerber dans laquelle la MG est libérée par un traitement acide approprié puis séparée et rassemblée dans une colonne graduée par centrifugation (**Pien, 1974**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 5 ml de crème fraîche a été introduit dans un butyromètre dans lequel 10 ml d'acide sulfurique et 1,5 ml d'alcool isoamylique ont été ajoutés puis complétés à l'eau distillée. Le mélange est ensuite agité lentement jusqu'à homogénéisation puis introduit dans une centrifugeuse pendant 5 min. Le taux de MG est directement lu sur le butyromètre (**Kehal, 2013**).

- **Expression des résultats**

La teneur en matière grasse est exprimée en pourcentage et la lecture se fait directement sur l'échelle du butyromètre.

III.1.3. Test d'humidité

Le taux d'humidité correspond à la teneur en eau. À l'aide d'un dessiccateur de type Kern MLS-N dont le principe se repose sur l'élimination de la teneur en eau de l'échantillon à 120°C pendant 15 à 20 minutes.

- **Mode opératoire**

Une prise d'essais de 2,1 g a été étalée uniformément sur la coupelle en acier inoxydable, tarée au préalable afin d'éviter une dessiccation incomplète, puis placée dans le dessiccateur à 120°C.

- **Expression des résultats**

Le taux d'humidité en pourcentage est directement lu sur l'appareil.

III.1.4. Extrait sec total

L'extrait sec total appelé encore résidu sec total ou matière sèche totale, est constitué de l'ensemble des substances de l'échantillon autres que l'eau (**Fall, 1997**).

- **Mode opératoire**

La mesure de l'EST de l'échantillon de crème fraîche se fait directement à l'aide du dessiccateur de type Kern MLS-N.

- **Expression des résultats**

Après mesure du taux d'humidité la valeur de l'extrait sec total en pourcentage a été automatiquement affichée sur l'appareil. L'EST peut être aussi calculé selon la formule suivante

$$\text{EST (\%)} = 100 - \text{taux d'humidité (\%)}$$

Avec : 100 = 100 % du poids total de l'échantillon.

III.2. Recherche et dénombrement de la FTAM

Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) est un indicateur pertinent pour évaluer le degré de contamination d'un aliment, ainsi que la qualité hygiénique, la fraîcheur et la stabilité du produit (**Institut de l'élevage, 2009**). Une analyse sur la crème fraîche témoin et les crèmes à différentes concentrations d'huile essentielle de pamplemousse a été réalisé le premier jour et le quinzième jour après incorporation de l'huile essentielle.

- **Préparation des dilutions décimales**

Des dilutions décimales sont préparées en vue de réduire le nombre de microorganismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement (cas des tubes) ou d'effectuer le dénombrement des colonies (cas des boîtes). La solution mère ou la dilution 10^{-1} a été obtenue en transvasant, à l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de l'échantillon dans un tube contenant 9 ml de diluant. La préparation des dilutions décimales consiste à suivre la procédure citée précédemment en transférant 1ml de la solution mère dans un tube de 9ml d'eau physiologique pour obtenir la dilution 10^{-2} , la même procédure a été à partir de la dilution 10^{-2} pour obtenir la dilution 10^{-3} , et ainsi de suite en prenant soin de mélanger soigneusement la prise d'essai et le diluant pendant 5 à 10 s pour obtenir des dilutions homogènes.

- **Mode opératoire**

La flore totale se développe dans un milieu nutritif gélosé non sélectif. 1 ml de la suspension est ensemencée en masse sur milieu PCA (Plate Count Agar) ou GN (Gélose Nutritive) et incubé à 30°C pendant 48 à 72h. La FTAM apparaît sous forme de colonies de tailles et de formes différentes (**Petransxiene et Lapied, 1981**).

- **Expression des résultats**

Selon le journal officiel algérien n°68/2014. Le nombre N de la flore totale présente par millilitre ou par gramme de produit est calculé selon l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V (n_1 + 0.1 n_2) d}$$

Avec :

N = nombre de germes par gramme.

$\sum c$ = somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont l'une contient au moins 15 colonies.

n_1 = nombre de boîtes retenues à la première dilution.

n_2 = nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

V = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte.

d = facteur de la première dilution retenue.

Résultats et discussion

I. Rendement en huile essentielle de pamplemousse

L'extraction de l'huile essentielle de pamplemousse a été faite par hydrodistillation, le rendement de l'extraction est résumé dans le tableau IX.

Tableau IX : Rendement d'extraction de l'huile essentielle des écorces du pamplemousse.

Matière végétale utilisée	Quantité de la matière végétale (kg)	Quantité d'huile essentielle obtenue (ml)	Rendement en huile essentielle (%)
Pamplemousse (<i>Citrus paradisi</i>)	3kg300	5 ml	0,14 %

Le rendement obtenu lors de notre étude ne coïncide pas avec ceux obtenus par d'autres auteurs qui ont procédé par la même technique d'hydrodistillation. Il est nettement moins important que ceux d'**Ahmad et al. (2006)**, **Sayah et al. (2013)** et **Adrar et Assiou. (2017)**, qui sont respectivement : 0.73%, 0.66% et 0.18%.

Cette différence de rendement est probablement due à une perte d'huile dans la phase aqueuse du distillat et la simplicité du dispositif d'hydrodistillation. (**Boubrit et Boussad, 2007**). Il peut aussi être différent d'une année à l'autre en fonction des conditions climatiques. Le rendement en huile essentielle dépend de la zone géographique de culture, de la variété botanique, de l'état des plantes au moment de l'extraction (entières, divisées, fraîches, en fleurs, en boutons, sèches...), de la présence de parasites et de virus sur le matériel végétal (**Bajpai et al, 2008**),

Selon **Bourgou et al. (2012)** Le degré de maturation du fruit influe sur le rendement de l'huile essentielle. Le rapport des divers constituants de l'huile essentielle varie tout au long du cycle végétatif, dans des proportions souvent importantes.

II. Evaluation de l'activité antibactérienne et l'effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse

La méthode de l'aromatogramme est généralement employée comme une analyse préliminaire. Elle est utile que pour étudier et comparer qualitativement les activités antimicrobiennes des huiles essentielles. Dans cette méthode, les paramètres tels que le volume de l'huile essentielle placé sur les disques de papier, la quantité du milieu de culture utilisé peuvent varier d'une étude à l'autre (**Bagamboula et al, 2004**), (**Burt, 2004**). Lors de notre étude nous avons utilisé l'huile essentielle pure et diluée dans de l'agar à (0,2%) à différentes concentrations résumées dans le Tableau X. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de pamplemousse a été testée sur deux souches pathogènes et son effet probiotique sur une culture mixte fermentant la crème fraîche, ainsi que diverses associations entre les souches.

Tableau X : Concentrations de l'huile essentielle de pamplemousse utilisée

Dilutions	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)
Huile essentielle pure	$C_0 = 900. 10^3$
Dilution 1/2	$C_1 = 450.10^3$
Dilution 1/4	$C_2 = 225. 10^3$
Dilution 1/8	$C_3 = 112,5.10^3$

II.1. Activité antibactériennes de l'huile essentielle de pamplemousse

L'effet de l'huile essentielle de pamplemousse sur les deux souches pathogènes testées dans notre étude est résumé dans le Tableau XI.

Tableau XI : Activité antibactériennes de l’huile essentielle du pamplemousse sur les différentes souches testées.

Souches testées	Gram	Degré de sensibilité	Diamètre de la zone d’inhibition en fonctions des différentes concentrations d’HE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	Sensible	<ul style="list-style-type: none"> - D = 11mm à C₀ - D = 10mm à C₁ - D = 10mm à C₂ - D = 7mm à C₃
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	Résistante	Absence de zone d’inhibition aux différentes concentrations.

D’après les résultats obtenus, on constate que sur les différentes souches testées, seul *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité à l’huile essentielle de pamplemousse à différentes concentrations. C’est un résultat cohérent avec ceux trouvés par **Burt (2004)** et **Djenane (2011)**, qui montre que cette bactérie est généralement sensible à l’action des huiles essentielles.

Escherichia coli présente une résistance à l’huile essentielle de *Citrus paradisi*. Les travaux de **Sandri et al. (2006)**, **Oussalah et al. (2007)**, **Zarai et al. (2011)** et **Sadou (2015)**, ont rapporté que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram positif. Cette résistance est attribuée à la présence d’une membrane externe, imperméable aux composés hydrophobes grâce à son revêtement lipopolysaccharide.

L’absence de cette barrière, chez les bactéries à Gram positif permet le contact direct des constituants hydrophobes de l’huile essentielle avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une déficience au niveau du système enzymatique (**Sandri et al, 2006**) et (**Oussalah et al, 2007**).

D’après **Manou et al. (1998)** et **Bagamboula et al. (2004)**, l’efficacité des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs tels que leurs capacités à diffuser uniformément sur l’agar.

L'efficacité d'une huile essentielle pourrait être aussi due au fait qu'au cours de la période d'incubation quelques composants volatils de l'huile peuvent s'évaporer du milieu de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne (**Burt, 2004**), (**Bouguerra, 2012**).

II.2. Effet probiotique de l'huile essentielle du pamplemousse

Dans cette partie notre objectif était d'évaluer l'effet probiotique de l'huile essentielle du pamplemousse sur la culture mixte fermentant la crème fraîche, composée de : *Lactococcus lactis subsp. Lactis*, *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* et *Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris*, ainsi que sur les différentes associations : (culture mixte + *Staphylococcus aureus*), (culture mixte + *Escherichia coli*) et (culture mixte + *Staphylococcus aureus* + *Escherichia coli*). Le Tableau XII résume les résultats obtenus.

Tableau XII : Effet probiotique de l'huile essentielle de pamplemousse sur les bactéries lactiques et les différentes associations.

Souches testées en présence de l'huile essentielle de pamplemousse	Diamètre de la zone d'inhibition en fonctions des différentes concentrations d'HE
Culture mixte lyophilisée fermentant la crème fraîche.	Absence de zones d'inhibition aux différentes concentrations.
Culture mixte + <i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - D = 11 mm à C₀ - D = 07 mm à C₁ - Absence de zone d'inhibition à C₂ - Absence de zone d'inhibition à C₃
Culture mixte + <i>Escherichia coli</i>	Absence de zones d'inhibition aux différentes concentrations.
Culture mixte + <i>Escherichia coli</i> + <i>staphylococcus aureus</i>	Absence de zone d'inhibition aux différentes concentrations.

D'après les résultats obtenus, on constate que :

- Les ferments lactiques de la culture mixte lyophilisée composé de : *Lactococcus lactis subsp. Lactis*, *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris*, ne présentent pas une sensibilité à l'huile essentielle de pamplemousse. Celle-ci n'a pas inhibé leurs croissances, dans ce cas l'effet probiotique de l'HE de pamplemousse sur la culture mixte fermentant la crème fraîche a été prouvé.
- L'association des ferments lactiques et *Staphylococcus aureus* présente une légère sensibilité à l'huile essentielle. Les zones d'inhibitions sont moins importantes que lorsque l'huile essentielle est associée uniquement à *Staphylococcus aureus*, ceci peut s'expliquer par la probabilité que les probiotique diminue la charge bactérienne produite par la production de substances antibactériennes (**Fuller, 1989**). Les études de **Makras et al. (2006)**, ont déjà confirmé l'activité antagoniste des probiotiques.
- L'association des ferments lactiques et *Escherichia coli* ne présente pas de sensibilité à l'huile essentielle. Le résultat peut s'expliquer soit par le fait que ni la culture mixte, ni *Escherichia coli* ne présente une sensibilité à l'huile essentielle de pamplemousse. Ou par le fait que la culture mixte exerce un effet probiotique inhibant la croissance d'*Escherichia coli*, mais notre analyse ne nous a pas permis de prouver cet effet probiotique.
- L'association des ferments lactiques, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* présente une résistance à l'action de l'huile essentielle de pamplemousse. Il est probable que *Staphylococcus aureus* est inhiber, grâce à l'effet probiotique des ferments lactiques et/ou à la compétition pour les nutriments entre les souches, ce qui expliquerait l'absence totale de zones d'inhibitions dans les différentes concentrations (**Fuller, 1989**).

Dans cette partie, on constate que l'huile essentielle de pamplemousse a un effet probiotique sur la culture mixte fermentant la crème fraîche, seule et en association aux différentes souches pathogènes.

III. Analyses physico-chimiques de la crème fraîche

III.1. Acidité titrable

Dans les industries laitières, la mesure de l'acidité est un paramètre physico-chimique important. Il nous renseigne sur la stabilité et la fraîcheur du produit laitier. Plus l'acidité est élevée, moins le produit est frais. Les résultats obtenus sur le témoin et les différentes concentrations sont résumés dans la figure (4).

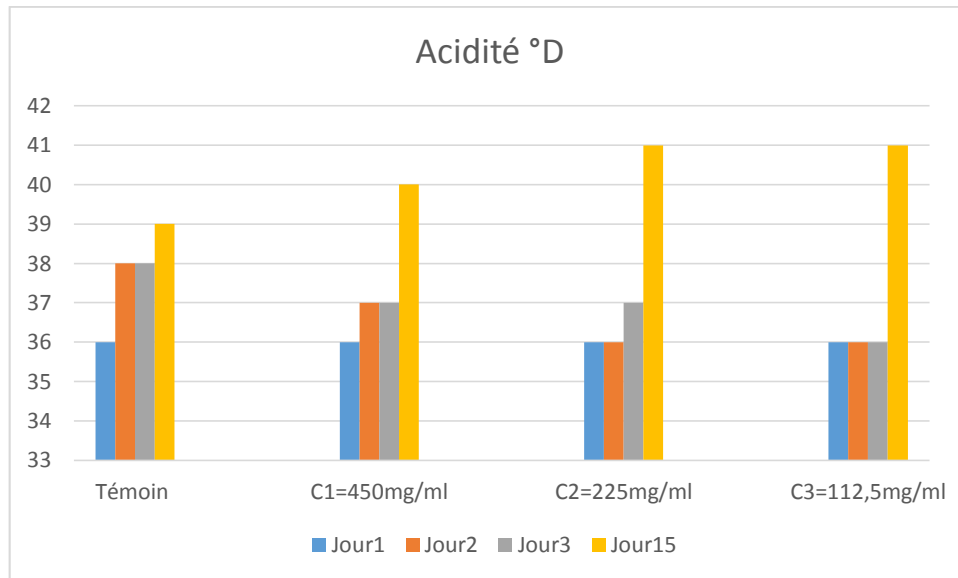


Figure 4 : Evolution de l'acidité titrable des crèmes fraîches au fil des jours.

D'après nos résultats, on constate que l'acidité de la crème fraîche témoin et des crèmes à différentes concentrations en huile essentielle, est conforme aux normes de l'entreprise qui sont comprises entre 30 et 45 °D.

L'acidité des différents échantillons est élevée au 15^{ème} jour comparé à celle du premier jour avec un taux moins important dans le témoin comparé aux différentes dilutions. Cette augmentation peut s'expliquer par la prolifération des bactéries lactiques présentes dans la crème fraîche qui fermentent le lactose en acide lactique (**Farah et Abburrahman, 2004**). On peut donc déduire que l'huile essentielle de pamplemousse par son effet probiotique n'a pas empêché la prolifération des ferments lactiques dans les crèmes fraîches élaborées. On constate également une augmentation de l'acidité au 15^{ème} jour et sa stabilité, ce qui est un résultat important permettant de prévoir l'utilisation de l'huile essentielle de pamplemousse comme agent de conservation afin de prolonger la durée de vie de la crème fraîche sachant que l'acidité exerce une pression sélective contre toutes les bactéries pathogènes.

III.2. Matière grasse

La figure (5), résume les résultats obtenus lors de notre étude. On constate que le taux de matière grasse reste stable pour tous les échantillons, au cours des trois premiers jours. La teneur en MG des échantillons reste conforme aux normes de l'entreprise avec et sans ajout de l'huile essentielle.

Au 15^{ème} jour d'analyse le taux de matière grasse a légèrement diminué dans tous les échantillons de crème fraîche. Cette diminution est probablement due à une lipolyse naturelle qui relève l'activité des lipases présentes naturellement dans le lait.

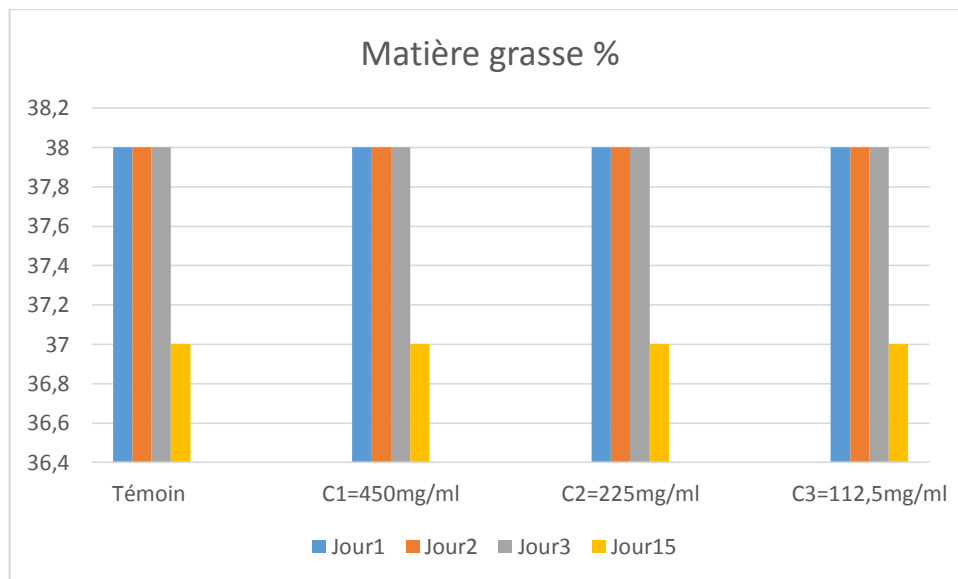


Figure 5 : Evolution de la teneur en matière grasse des crèmes fraîches au fil des jours.

III.3. Taux d'humidité

Le taux d'humidité des échantillons de la crème fraîche est résumé dans la figure (6). D'après nos résultats on constate que le taux d'humidité le 1^{er} jour d'analyse reste stable dans l'échantillon témoin et les différentes crèmes élaborées.

Au 15^{ème} jour, on remarque que le taux d'humidité a considérablement augmenté dans le témoin ainsi que dans les différentes dilutions.

Cette augmentation a une influence sur la stabilité microbiologique du produit, en favorisant la croissance de microorganismes indésirables comme bactéries ou champignons.

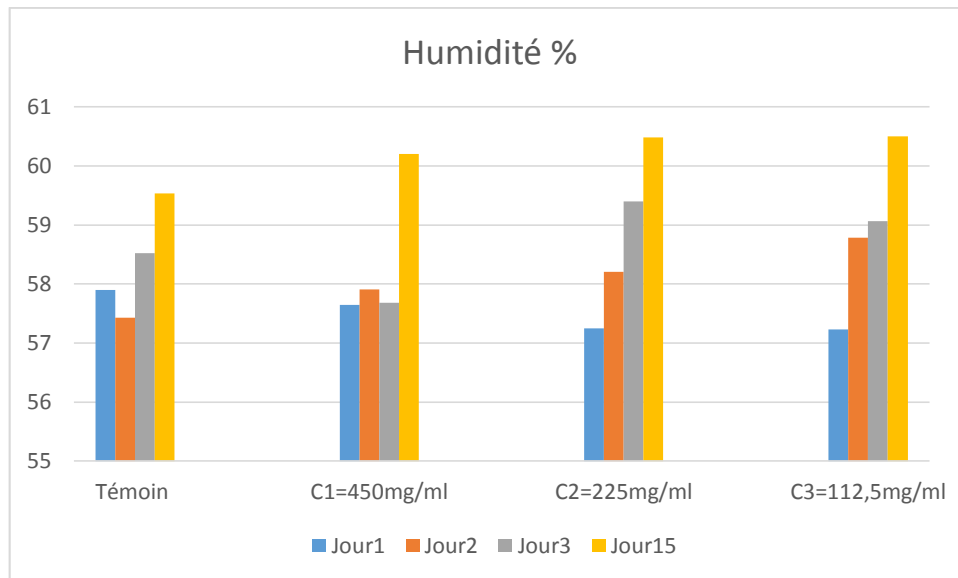


Figure 6 : Evolution de l'humidité dans les crèmes fraîches au fil des jours.

III.4. Extrait sec total

D'après nos résultats résumés dans la figure (7), on constate que le taux d'extrait sec total diminue en fonction des jours, dans les quatre échantillons de crème fraîche. L'ajout de l'huile essentielle de pamplemousse à différentes concentrations n'a pas eu d'effet sur le taux d'EST. On remarque que la teneur en extrait sec total est inversement proportionnelle à l'acidité titrable du produit, plus l'acidité augmente, moins la teneur en EST est importante. Ceci est probablement dû à la prolifération des bactéries dans le produit qui consomment les éléments nécessaires à leurs croissances présents dans le produit, provoquant ainsi la baisse de l'extrait sec total et l'augmentation de l'acidité.

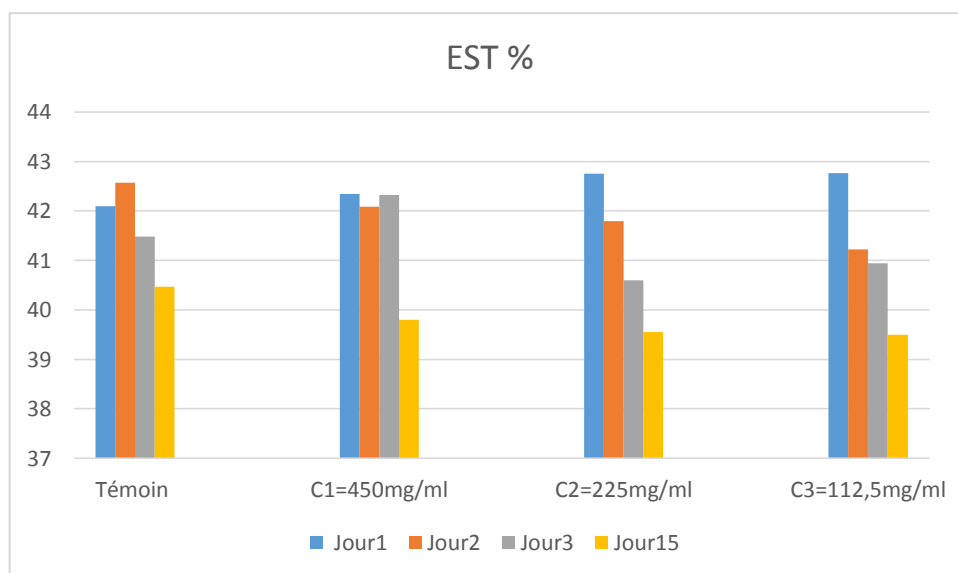


Figure 7 : Evolution de l'EST des crèmes fraîches au fil des jours.

IV. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobique mésophile

Les analyses bactériologiques permettent de déterminer la qualité hygiénique et commerciale qui caractérise le produit alimentaire.

La flore totale mésophile est un bon indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC présent dans un produit. Leur présence en nombre élevé peut être l'indication d'une éventuelle contamination, d'un traitement insuffisant ou de mauvaises conditions de conservation. Pour tester la stabilité de la crème fraîche en présence de l'huile essentielle de pamplemousse, nous avons effectué une analyse sur deux périodes différentes : le 1^{er} jour et le 15^{eme} jour après l'incorporation des différentes dilutions de l'huile essentielle. Le Tableau (XIII) regroupe les résultats trouvés.

Tableau XIII : Evolution de la FTAM après incorporation de l'huile essentielle de pamplemousse

	Témoin	C ₁	C ₂	C ₃	Norme JORA n°35
Jour 1 (UFC/ml)	0,62. 10 ⁴	1,19. 10 ⁴	0,69. 10 ⁴	1,33. 10 ⁴	3. 10 ⁴
Jour 15 (UFC/ml)	ID	9. 10 ⁴	20,3. 10 ⁴	83,6. 10 ⁴	3. 10 ⁴

ID : indénombrables.

D'après les résultats obtenus on constate que

- Les analyses du 1^{er} jour ont décelé la conformité des crèmes fraîche élaborées aux normes décrites dans le journal officiel algérien n°35/1998.
- Les résultats du 15^{eme} jour montrent d'une part un développement de la FTAM dans toutes les crèmes fraîches élaborées, d'autres part une diminution du nombre des germes aérobies dans les trois dilutions (450.10³, 225. 10³, 112,5. 10³ µg/ml) comparées au témoin, avec un effet plus marqué dans la dilution 1/2 qui correspond à C₁ = 450. 10³ µg/ml.

En comparaison aux normes, les résultats obtenus sont nettement plus élevés, ce qui rend les crèmes fraîches élaborées après 15 jours, impropres à la consommation. Cette non-conformité peut être due à plusieurs facteurs :

- La DLC de la crème fraîche, il faut noter que notre échantillon a été utilisé plusieurs jours après sa fabrication.
- Une éventuelle contamination lors de sa conservation après le premier jour d'analyse.
- Des éventuelles erreurs lors des manipulations.

On conclut donc que l'ajout de l'huile essentielle de *Citrus paradisi* à la crème fraîche présente un léger effet sur la FTAM. Ce constat peut être dû aux faibles concentrations en huile essentielle ou à l'effet de la matrice alimentaire qui se compose, dans ce cas, de deux phases ; lipidique et aqueuse. Les huiles essentielles diluées dans la phase lipidique des aliments seront moins efficaces sur les micro-organismes de la phase aqueuse (**Mejlholm et Dalgaard, 2002**).

Selon **Tassou et al. (1995)**, les propriétés antibactériennes des huiles essentielles diffèrent en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les bactéries de l'action des huiles essentielles.

Les résultats obtenus dans cette partie ne peuvent pas être pris en considération étant donné qu'ils ne sont pas cohérents avec nos précédents résultats (activité antibactérienne de l'huile essentielle, et les analyses physico-chimiques). Ceci peut être expliqué par une éventuelle contamination de notre échantillon de crème fraîche. Il est donc souhaitable de refaire l'analyse dans de meilleures conditions.

Conclusion

L'objectif de notre étude était de valoriser l'écorce du pamplemousse, par l'extraction de l'huile essentielle et son utilisation dans la crème fraîche pasteurisée comme agent conservateur.

Le rendement en huile essentielle de *Citrus paradisi* extraite par hydrodistillation était de 0,14%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du pamplemousse par la méthode de l'aromatogramme a montré une sensibilité de *Staphylococcus aureus*, mais une résistance d'*Escherichia coli* à l'action de l'huile essentielle.

La culture mixte fermentant la crème fraîche associée à l'huile essentielle du pamplemousse et aux souches pathogènes a montré un effet probiotique marqué, qui peut être expliqué par leur effet antagoniste inhibant ainsi le développement des souches pathogènes.

L'élaboration des crèmes fraîches additionnées à l'huile essentielle du pamplemousse ont été réalisées à des concentrations de ($C_1 = 450 \cdot 10^3$, $C_2 = 225 \cdot 10^3$, $C_3 = 112,5 \cdot 10^3$) $\mu\text{g/ml}$. Les résultats des analyses physico-chimiques et le dénombrement de la flore totale mésophile (FTAM) des crèmes fraîches élaborées, après ouverture de l'emballage, montrent que la présence de l'huile essentielle n'altère pas la qualité initiale du produit. Ces résultats permettent de prévoir l'utilisation de l'HE de pamplemousse comme un agent de conservation.

Même si notre travail nous a permis de réaliser une étude préliminaire sur l'effet de l'huile essentielle de pamplemousse comme agent conservateur dans les crèmes fraîches élaborées. Il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur l'huile essentielle du *Citrus paradisi*. Il est donc souhaitable :

- De tester l'huile essentielle du pamplemousse pure dans la crème fraîche.
- D'identifier la composition chimique de l'huile essentielle de pamplemousse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).
- D'isoler les composants actifs de l'huile essentielle du pamplemousse et les appliquer dans la crème fraîche.
- D'étudier l'activité antioxydante et antifongique de l'huile essentielle du *Citrus paradisi* dans la crème fraîche.
- De tester l'huile essentielle du pamplemousse comme arôme naturel dans la crème fraîche.

Références bibliographiques

A

Adrar L. et Aissiou T. (2017). Effet d'association des huiles essentielles de l'écorce de pamplemousse et de composés phénoliques. Mémoire de Master en Sciences Alimentaire, option : Industrie des Corps Gras. Université Abderrahmane Mira, faculté des Sciences de la nature et de la vie, Bejaia, 33p.

Ahmad, A.M., Khokhar, I., Ahmad, I., Kashmiri, M.A., Adnan, A., et Ahmad, M. Study of antimicrobial activity and composition by GC/MS spectroscopic analysis of the essential oil of *Thymus serpyllum*. Internet Journal of Food Safety, (2006), vol. 5, p. 56-60.

Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., El Ajjouri, M. et Chaouche, A. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Thymus algeriensis* Boiss et Reut et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth du Maroc. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, (2010), vol. 14, n°1, p. 141-148

Anonyme 1 : Des chiffres positifs à consolider : Légère baisse de la production agrumicole en 2011/12, 2012 [En ligne] <http://www.made-in-algeria.com/news/production-agricole-6608.html>, (Consulter le 01 Avril 2018).

Anonyme 2 : Syndifrais. Produits laitiers frais ,2013 [En ligne] www.syndifrais.com , (Consulter le 01 Avril 2018).

Anonyme 3 : Composition-nutritionnelle de la crème fraiche allégée 2012, en ligne www.idietetique.com. (Consulter le : 30/06/2018).

Anonyme 4 : LA CARTE D'IDENTITÉ. DU PAMPLEMOUSSE 2008, en ligne www.hotellerie-restauration.ac-versailles.fr. (Consulter le 30/06/2018).

B

Bachès M. et Bachès B. (2011). Agrumes comment les choisir et les cultiver facilement. Edition : Eugen Ulmer. Paris : 105p.

Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., et Debevere, J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology. (2004), vol. 21, n°1, p. 33-42.

Bajpai, V.K., Shukla, S. et Kang, S.C. Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of *Silene armeria* L. *Bioresource Technology*, (2008), vol. 99, n°18, p. 8903- 8908.

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

Bardeau F. (2009). Les huiles essentielles : Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Edition : Lanore. Paris : 315p.

Baser K.H.C., et Buchbauer G. (2009). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. Edition : CRC Press. Boca Raton : 991p.

Bekhechi C. et Abdelouahid D. (2010). *Les huiles essentielles*. Edition : Office des publications universitaires. Alger : 55p.

Bessah, R., et Benyoussef, E.H. La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des Energies Renouvelables*, (2015), vol. 18, n°3, p. 513 – 528.

Boubrit, S. et Boussad, N. (2007). Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. Mémoire d'ingénieur d'état en biologie, option : Control de qualité et analyses. Université Mouloud Mammeri, faculté des Sciences de la nature et de la vie, Tizi-Ouzou.

Bouguerra A. (2012). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires Option : biotechnologies alimentaire. Université Mentouri, Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Constantine. 75p.

Bourgou S., Rahali F. Z., Ourghemmi I., Saidani Tounsi M. Changes of Peel Essential Oil Composition of Four Tunisian Citrus during Fruit Maturation. *The Scientific World Journal*, (2012), vol. 2012, 10 p.

Bousbia N. (2011). Extraction des antioxydants à partir de produits naturels et co-produits agroalimentaires. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger. 124p.

Brichet, J. Pamplémousse ou pomelo, une équivoque à supprimer. Fruits d'Outre-Mer, (1946), vol. 1, n° 10, p. 297-300.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Edition : Lavoisier, Tec & Doc. Paris : 1292p.

Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods : a review. International Journal of Food Microbiology. (2004), vol. 94, n°3, p. 223-253.

C

Chanthaphon, S., Chanthachum, S., et Hongpattarakere, T. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. Songklanakarin Journal of Science and Technology. (2008), vol. 30, p.125-131.

Clevenger, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil. Journal of the American pharmaceutical Association, (1928), vol. 17, n°4, p. 345-349.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations, 2018 (Edition de Février 2018).

Courboulex, M. (2010). Les agrumes. Edition : Rustica. Paris : 113p.

D

Djenane, D., Yangüela, Y., Gomez, D., et Roncales, P. Perspectives on the use of essential oils as antibactériels against *Campylobacter jejuni* CECT7572 in retail chicken meats packaged in microaerobic atmosphere. Journal of Food, (2011), vol. 32, n°1, p. 37-47.

F

Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., Lebrazi, S., Zghari, B., et Rachiq, S. Chemometric investigation of light-shade effects on essential oil yield and morphology of Moroccan *Myrtus communis* L. Springer Plus, (2016), vol. 5, n° 1062, p. 1-14.

Fall C.L. (1997). Etude des fraudes du lait cru : mouillage et écrémage ; école inter états des sciences de médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat de Médecine Vétérinaire. Université de Cheikh Anta Diop – Dakar, Ecole Inter Etats des Sciences et Médecine Vétérinaire, Thièse. 80p.

Farah, Z. et Abburrahman, O. (2004). Milk and meat from the camel : handbook on products and processing. Edition : vdf Hochschulverlag AG. 230p.

Fredot É. (2005). Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Edition : TEC et DOC Lavoisier. Paris : 295-336p.

Fuller, R. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, (1989), vol. 66, n° 5, p. 365-378.

G

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., et Rasooli, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem, (2007), vol. 102, n°3, p. 898-904.

Garrabé, L., Cavallo, J.D., Fabre, R., et Hernandez, E. AntibioGramme par diffusion en gélose: essai de standardisation de l'inoculum par la méthode Presto ABG. Revue française des laboratoires, (1998), n° 307, p. 65-69.

Goetz P. et Ghedira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer Science & Business Media. Paris : 394p.

Groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition (GEM RCN). 2009. Spécification technique de l'achat public laits et produits laitiers. N° 2009-03 du 30 juillet 2009 du comité exécutif de l'OEAP, Ministère de l'économie de l'industrie et de l'emploi de la république française. 47p.

H

Hazzit M. (2008). Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Faculté de Chimie, Algérie, 204p.

I

Institut de l'élevage. (2009). Traite des vaches laitières : matériel, installation, entretien, Edition : France Agricole. 404p.

J

Jamotte, P. Dégradation de la matière grasse par lipolyse. Le Lait, INRA Editions, 1967, vol. 47, n° (461_462), p. 25-42.

K

Kaloustian J. et Hadji-Minaglou F. (2013). La connaissance des huiles essentielles : qualité et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Edition : Springer, Paris : 226p.

Kehal F. (2013). Utilisation de l'huile essentielle de *Citrus limon* comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires, option : Biochimie et Technologie Alimentaire. Université de Constantine 1, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Constantine.

Kharjul, A., Kharjul, M., Vilegave, K., Chandankar, P et Gadiya, M. Pharmacognostic investigation on leaves of *Citrus maxima* (Burm). Merr. (Rutaceae). International Journal Pharmaceutical Sciences And Research, (2012), vol. 3, n°12, p. 4913-4918.

L

Lucchesi M.E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat de Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, France, p142.

M

Makras, L., Vuyst, L.D. The in vitro inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acids. International Dairy Journal, (2006), vol. 16, n°9, p. 1049–1057.

Manou, I., Bouillard L., Devleeschouwer, M.J., et Barel, A.O. Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. J. Appl. Microbiol, (1998), vol. 84, n°3, p. 368-376.

Mejlholm, O. et Dalgaard, P. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. Letters in Applied Microbiology, (2002), vol. 34, n°1, p. 27-31

Milpied-Homs B. (2009). Progrès en dermato-allergologie : Bordeaux 2009. Edition John Libbey Eurotext. Paris : 124p.

Mohammedi, Z., et Atik, F. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. Nature & Technologie, (2012), n°06, p34-39.

Mrabkt, N., Lahlou, H. et Benjilali, B. Effect of marocan *Cistus ladaniferus* L. (rochrose) extracts on the growth of four fungi- J. Cryptogamie mycologie. Maroc, (1999), vol. 20, n° 1, p. 23-33p

Mondello, L., Casilli, A., Tranchida, P.Q., Dugo, P., et Dugo, G. Comprehensive two-dimensional GC for the analysis of citrus essential oils. Flavour and Fragrance Journal, (2005), vol. 20, n°2, p. 136-140

Morton, J. 1987. Grapefruit. In: Fruits of warm climates. (Eds), Julia F. Morton, Miami, pp, 152–158

O

Oukil, N. (2013). Activités biologiques des huiles essentielles, des polyphenols extraits de quelques espèces de Labiaceae et étude du mécanisme de l'action bactéricide de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*. Thèse de doctorat en sciences alimentaires. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Bejaia, p120.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., et Lacroix, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control, (2007), vol. 18, n°5, p. 414-420.

P

Petranxiene D. et Lapiéd L. (1981). La qualité bactériologique du lait et de produits laitiers. Edition : Tec et Doc Lavoisier. Paris : 288p.

Pien, J. La détermination de la teneur en matière grasse des laits homogénéisés par la méthode Gerber. Le Lait, INRA Editions, (1974), vol. 54, n° (533_534), p. 153-164.

Ponce, A.G., Fritz, R., Valle, C. Del., et Roura, S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, (2003), vol. 36, n°7, p. 679-684.

S

Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., et Hafed, Y. Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis Mill.* du Nord est Algérien. Rev. Sci. Technol, (2015), vol. 30, p. 33-39.

Sandri, I.G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A.P.L. et Echeverrigaray, S. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against food borne pathogens and spoiling bacteria. Food Chemistry, (2007), vol. 103, p. 823-828.

Sayah, M.Y., Taouda, H., Yousfi, L.K., Derwich, E., Kaidi Rodi, Y., Ouazzani Chahid, F., et Errachidi, F. Valorisation des déchets industriels d'agrumes par l'extraction des huiles essentielles. Gestion et protection de l'environnement. Proceeding G-ENVIRON-5, (2013), vol. 3, p. 124-129.

Sharamon, S et Baginski, B.J. (1998). Le virtù terapeutiche dei semi di pompelmo. Dal citrus paradisi i più validi rimedi contro infezioni, micosi, allergi. Edition : Tecniche nuove, 05p.

T

Tassou, C., Drosinos, E. H., Nychas, G.J. E. 1995. Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 jC and 10 jC. Journal of Applied Bacteriology, (1995), vol. 78, n°6 p. 593– 600.

Z

Zarai, Z., Kadri, A., Ben Chobba, I., Ben Mansour, R., Bekir, A., Mejdoub, A. et Gharsallah, N., 2011. The *in-vitro* evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare L.* essential oil grown in Tunisia. Lipids in Health and Disease, (2011), vol. 10, p. 161.

Textes réglementaires

Codex Alimentarius Commission., 2003. Codex standard for creams and prepared creams, CODEX STAN. A-9-1976, Rev. 1-2003, FAO/WHO, Rome. 7 p.

FAO., 1995. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome. Disponible sur : https://books.google.dz/books?id=4zNuqZpwNw4C&printsec=frontcover&hl=fr&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Références bibliographiques

FAO., 2004. Perspectives à moyen terme pour les produits agricoles. Rome. Disponible sur : <http://www.fao.org/docrep/007/y5143f/y5143f00.htm#Contents>

FAO., 2010 .Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Laites de consommation. Disponible sur : <http://www.horizon.documentation.ird.fr>

J.O.R.A. n°35, (1998). Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

J.O.R.A. n°68, (2014). Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (staphylococcus aureus et autres espèces).

Annexes

I. Les milieux de cultures utilisés

- **Gélose MRS**

Poudre déshydratée	70.3 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	5.4 ± 2

70.3 g de poudre sont ajoutés dans un litre d'eau distillée, puis porter à ébullition sous agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Gélose Hektoen**

Poudre déshydratée	76 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.6 ± 2

Verser 76 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Gélose Chapman**

Poudre déshydratée	111 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.4 ± 2

Verser 111 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Gélose nutritive**

Poudre déshydratée	23 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.3 ± 2

Verser 23 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Gélose Mueller Hinton**

Poudre déshydratée	38 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.4 ± 2

Verser 38 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Gélose M17**

Poudre déshydratée	33.25 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.8 ± 0.2

Verser 33.25 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Bouillon nutritif**

Poudre déshydratée	13 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	6.8 ± 2

Verser 13 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Eau physiologique**

NaCl	9 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7.0 ± 2

Verser 9 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

- **Solution d'agar 0.2%**

Poudre d'agar	2 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	6.0 – 7.0

Verser 2 g de poudre d'agar dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition avec agitation jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

II. Résultats des analyses physico-chimiques de la crème fraîche

Les résultats des analyses physico-chimiques de la crème fraîche avec et sans addition de l'huile essentielle du pamplemousse a différentes concentrations sont résumés dans les tableaux suivant

Tableau I : Résultats des analyses physicochimiques du témoin et les différentes dilutions au premier jour.

	Acidité (°D)	Matière grasse (%)	Humidité (%)	EST (%)
Témoin	36	38	57,90	42,1
Dilution 1/2	36	38	57,65	42,35
Dilution 1/4	36	38	57,25	42,75
Dilution 1/8	36	38	57,23	42,77

Tableau II : Résultats des analyses physicochimiques du témoin et les différentes dilutions au deuxième jour.

	Acidité (°D)	Matière grasse (%)	Humidité (%)	EST (%)
Témoin	38	38	57,43	42,57
Dilution 1/2	37	38	57,91	42,09
Dilution 1/4	36	38	58,21	41,79
Dilution 1/8	36	38	58,78	41,22

Tableau III : Résultats des analyses physicochimiques du témoin et les différentes dilutions au troisième jour.

	Acidité (°D)	Matière grasse (%)	Humidité (%)	EST (%)
Témoin	38	38	58,52	41,48
Dilution 1/2	37	38	57,68	42,32
Dilution 1/4	37	38	59,40	40,6
Dilution 1/8	36	38	59,06	40,94

Tableau IV : Résultats des analyses physicochimiques du témoin et les différentes dilutions au quinzième jour.

	Acidité (°D)	Matière grasse (%)	Humidité (%)	EST (%)
Témoin	39	37	59,53	40,47
Dilution 1/2	40	37	60,20	39,8
Dilution 1/4	41	37	60,48	39,55
Dilution 1/8	41	37	60,5	39,5

Résumé

La crème fraîche est un produit laitier composé de protéines, glucides, vitamines et une teneur élevée en eau et en matière grasse, cette composition la rend facilement altérable par les micro-organismes. Il est donc intéressant de minimiser cette altération et prolonger la durée de conservation du produit.

Lors de notre étude, l'écorce du pamplemousse (*Citrus paradisi*) a été valorisée par l'extraction de son huile essentielle par hydrodistillation. Le rendement était de 0,14%.

Dans le but d'améliorer sa durée de conservation, nous avons incorporé l'huile essentielle de pamplemousse à différentes concentrations ($C_1= 450. 10^3\mu\text{g/ml}$, $C_2= 225. 10^3\mu\text{g/ml}$ et $C_3= 112, 5. 10^3\mu\text{g/ml}$) dans la crème fraîche pasteurisée.

L'étude réalisée concerne la détermination *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de pamplemousse par la méthode de l'aromatogramme, sur deux souches pathogènes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*), ainsi que son effet probiotique sur les bactéries lactiques fermentant la crème fraîche. Des analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été réalisées afin de confirmer les objectifs fixés lors de cette étude.

L'évaluation de l'activité antibactérienne et de l'effet probiotique de l'huile essentielle de *Citrus paradisi* ont révélées une certaine sensibilité de *Staphylococcus aureus*, une résistance d'*Escherichia coli*, et un effet probiotique marquée sur les bactéries lactiques fermentant la crème fraîche.

Mots clé : Huile essentielle, *Citrus paradisi*, pamplemousse, conservateur, crème fraîche, bactéries lactiques, effet probiotique.

Abstract

Fresh cream is a dairy product composed of protein, carbohydrates, vitamins and a high content of water and fat. This composition makes it easily alterable by microorganisms. It is therefore important to decrease this alteration and prolong the shelf life of the product.

In our study, the grapefruit peel (*Citrus paradisi*) was valued by the extraction of its essential oil using hydrodistillation. The yield was 0.14%.

For the purpose of enhancing its shelf life, we have incorporated grapefruit essential oil at different concentrations ($C_1= 450. 103\mu\text{g/ml}$, $C_2= 225. 103\mu\text{g/ml}$ and $C_3= 112, 5. 103\mu\text{g/ml}$) in the pasteurized fresh cream.

The conducted study concerns the *in vitro* determination of the antibacterial activity of the grapefruit essential oil by the aromatogramme method, using two pathogenic strains of bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). As well as its probiotic effect on lactic bacteria fermenting the fresh cream. Physicochemical and bacteriological analysis have been conducted in order to confirm the fixed purposes of this research.

The evaluation of the antibacterial activity and the probiotic effect of the grapefruit essential oil has revealed a certain sensibility of *Staphylococcus aureus*, a resistance of *Escherichia coli* and a probiotic effect being marked on the lactic bacteria fermenting the fresh cream.

Key words : Essential oils, *Citrus paradisi*, grapefruit, food conservators, fresh cream, lactic bacteria, probiotic effect.