

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tebessi -Tebessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département: Biologie Appliquée



## **MEMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Science de la nature et de la vie

Filière: sciences alimentaire

Option: assurance de qualité et sécurité alimentaire

**Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles  
de *Citrus lemon* sur les caractéristiques physico-  
chimiques et microbiologiques et sensorielles d'un  
fromage (DJBEN) fabriqué a partir de lait de chamelle**

Présenté par:

**Abdelhamid Ibrahim**

**Saouane Rodhouane**

Devant le jury:

<b>Président:</b>	<b>Dr. Farhi Salma</b>	<b>MMA</b>	<b>Université de Tébessa</b>
<b>Promotrice:</b>	<b>Dr. Taleb Salima</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>
<b>Examinatrice:</b>	<b>Dr. Ziani Sawsen</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Tébessa</b>

**Date de soutenance: le 28/06/2020**

## **Remerciements**

*Je tiens, tout d'abord, à remercier Dieu, **ALLAH**, le tout puissant et miséricordieux, pour m'avoir donné le courage, la force ainsi que la capacité de pouvoir mener jusqu'au bout de ce modeste travail.*

*J'adresse mes profondes reconnaissances et mes chaleureux remerciements à ma promotrice **Mme TALEB**, pour les connaissances qu'elle n'a cessé de me prodiguer, de la confiance qu'elle m'a témoignée, pour m'avoir guidé et orienté tout au long de mon projet et surtout pour son aimable disponibilité.*

*Je voudrais également remercier les membres de mon jury : **Mme. FARHI** et **Mme. ZIANI**, pour l'honneur qu'elles m'ont fait en portant leur attention sur ce travail.*

*Enfin, je remercie vivement toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin afin que je puisse accomplir mon travail en toute quiétude .*

## Résumé

Le principal objectif de ce travail était d'évaluer l'effet de l'huile essentielle de l'écorce d'une espèce aromatique *Citrus lemon*, sur les caractéristiques physicochimiques, microbiologiques et sensorielles d'un fromage (Djben) fabriqué à partir de lait de chamelle.

Les huiles essentielle sont été extraites par hydrodistillation à partir de l'écorce de *Citrus lemon*. L'extraction a donné un rendement de  $1,92 \pm 0,31\%$ . L'activité antioxydante des huiles extraites a été évaluée par deux tests à savoir le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène et le test de DPPH. Les résultats ont montré que ces huiles avaient une activité antioxydante plus élevée que celle de la vitamine E et le témoin (éthanol), particulièrement dans le piégeage des radicaux libres du DPPH.  $CE_{50}$  de l'HE ( $CE_{50} = 8,5\mu\text{g/ml}$ ) et celle de la vitamine E ( $CE_{50} = 14,5 \mu\text{g/ml}$ ).

La pandémie du Covid-19 a empêché l'achèvement de ce travail dont le but était d'identifier les constituants de l'huile essentielle par CPG/MS, effectuer des analyses physicochimiques, microbiologiques et sensorielles sur le fromage (Djben) fabriqué traditionnellement à partir de lait de chamelle et additionné de l'huile essentielle de *C. limon* à différentes concentrations, afin d'évaluer son impact sur les différentes caractéristiques du Djben obtenu.

**Motsclés :** Djben ,Huile essentielle, *Citrus lemon*, activité antioxydante, impact physicochimique, microbiologique et sensorielles

## ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقييم تأثير الزيت الأساسي لقرشرة الليمون *citrus limon*، على الخصائص الفيزيائية والميكروبيولوجية والحسية للجبن المصنوع من حليب الناقة.

تم استخراج الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي من قرشرة الليمون. أعطى الاستخراج عائد  $1.92 \pm 0.31\%$ . تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت المستخلصة من خلال اختبارين، وهما اختبار التبييض  $\beta$ -carotène واختبار DPPH. أوضحت النتائج أن هذه الزيوت لها نشاط مضاد للأكسدة أعلى من تلك الموجودة في فيتامين E و الشاهد (الإيثانول)، وخاصة في محاصرة الجذور الحرة لـ DPPH.

الزيت الأساسي : (CE50 = 8,5µg/ml)

فيتامين E : (CE50 = 14,5 µg/ml)

وباء Covid-19 حال دون اكمال هذا العمل، والذي كان الهدف منه تحديد مكونات الزيت العطري بواسطة / CPG MS ، لإجراء التحليلات الفيزيائية الكيميائية والميكروبيولوجية والحسية على الجبن (Djben) المنتج تقليديا من حليب الناقة بعد إضافة الزيت الأساسي للليمون بتركيزات مختلفة ، من أجل تقييم أثره على الخصائص المختلفة للجبن التي تم الحصول عليه.

**كلمات المفتاح:** جبن، زيت عطري، *citrus lemon*، نشاط مضاد للأكسدة، تأثير فيزيائي كيميائي، ميكروبيولوجي وحسي.

## **Abstract**

The main objective of this work was to assess the effect of the essential oil of zest of an aromatic species *Citrus lemon*, on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of a cheese (Djben) made from camel milk.

The essential oils were extracted by hydrodistillation from the zest of *Citrus lemon*. The extraction gave a yield of  $1.92 \pm 0.31\%$ . The antioxidant activity of the oils extracted was evaluated by two tests, namely the  $\beta$ -carotene bleaching test and the DPPH test. The results showed that these oils had a higher antioxidant activity than that of vitamin E and the witness (ethanol), particularly in the trapping of free radicals of DPPH. EC50 of HE (EC50 =  $8.5\mu\text{g} / \text{ml}$ ) and that of vitamin E (EC50 =  $14.5\mu\text{g} / \text{ml}$ ).

The Covid-19 pandemic prevented the completion of this work, which was to identify the constituents of essential oil by CPG / MS, to carry out physico-chemical, microbiological and sensory analyzes on traditionally produced cheese (Djben) from camel milk after added essential oil of *C. lemon* in different concentrations, in order to assess its impact on the different characteristics of the Djben obtained.

**Keywords:** Djben, Essential oil, Citrus lemon, antioxidant activity, physicochemical, microbiological and sensory impact

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01:</b> Production laitière moyenne de quelques races camelines Algériennes .....	<b>03</b>
<b>Tableau02 :</b> Constantes physiques du lait de chamelle et de vache .....	<b>04</b>
<b>Tableau 03:</b> Composition chimique globale du lait de chamelle .....	<b>05</b>
<b>Tableau 04 :</b> Composition en sels minéraux (mg/l) du lait de chamelle ,comparaison avec le lait de vache .....	<b>06</b>
<b>Tableau 05 :</b> Composition en vitamines ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) du lait de chamelle .....	<b>07</b>
<b>Tableau 06 :</b> Bactéries lactiques isolées à partir du lait cru et du lait fermenté de chamelle.....	<b>11-12</b>
<b>Tableau 07 :</b> Principaux constituants chimique de citron.....	<b>24</b>
<b>Tableau 08 :</b> Huiles essentielles les plus demandées sur le marché mondial .....	<b>32</b>
<b>Tableau 09 :</b> Paramètres mise en œuvre dans les opérations d'extraction .....	<b>33</b>
<b>Tableau 10 :</b> Norme générale Codex pour les conservateurs utilisés dans la production de fromage frais .....	<b>47</b>
<b>Tableau 11 :</b> Norme générale Codex pour les antioxydants utilisés dans la production de fromage frais .....	<b>47</b>
<b>Tableau 12:</b> Bulletin de réponse pour le test hédonique .....	<b>70-71</b>
<b>Tableau 13 :</b> Caractéristiques physico chimiques ( $M\pm ET$ ) .....	<b>73</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Représentation de la micelle de caséine selon le modèle de .....	<b>09</b>
<b>Figure 02 :</b> Étapes de formation d'un gel par action de la présure sur les caséines du lait ....	<b>16</b>
<b>Figure 03 :</b> Citronnier .....	<b>21</b>
<b>Figure 04 :</b> Bourgeons et fleurs.....	<b>22</b>
<b>Figure 05 :</b> Différentes parties de citron .....	<b>23</b>
<b>Figure 06 :</b> Frise chronologique de l'histoire de l'aromathérapie .....	<b>25</b>
<b>Figure 07 :</b> Analyse macroscopique des poches à l'huile essentielle du citron .....	<b>27</b>
<b>Figure 08 :</b> Parties de plantes permettant la biosynthèse et la sécrétion des huiles essentielles, Poches à essences des Citrus .....	<b>28</b>
<b>Figure 09 :</b> Dispositifs d'hydrodistillation .....	<b>35</b>
<b>Figure 10 :</b> Dispositifs d'entraînement à la vapeur d'eau .....	<b>36</b>
<b>Figure 11 :</b> Composition des arômes selon .....	<b>48</b>
<b>Figure 12 :</b> définition des catégories d'arômes .....	<b>50</b>
<b>Figure 13 :</b> Organigramme de la méthodologie d'étude .....	<b>53</b>
<b>Figure 14 :</b> le classement par rang de l'acceptation.....	<b>69</b>
<b>Figure 15 :</b> Cinétique de blanchiment du $\beta$ -carotène pour l'huile essentielle de citron, la vitamine E et le contrôle négatif .....	<b>74</b>
<b>Figure 16 :</b> Activité antioxydante de l'huile essentielle de citron et de la vitamine E.....	<b>75</b>
<b>Figure 17 :</b> Boite à moustache pour la variable activité antioxydante (AA%) .....	<b>75</b>
<b>Figure 18 :</b> Concentration efficace 50 (CE50) de l'huile essentielle de vitamine E Concentration de 4000 $\mu$ g/ml.....	<b>76</b>

## **Liste des abréviations**

**AA** Activité antioxydante

**AFNOR** Association française de normalisation

**ANOVA** Analyse de la variance

**CE50** Concentration efficace

**CMB** Concentration minimale bactéricide

**CMI** Concentration minimale inhibitrice

**CPG** Chromatographique en phase gazeuse

**DPPH°** 2,2-Diphényl-1-Picryl Hydrazyl

**FAO** Food and agriculture organization

**FTAM** Flore totale aérobie mésophile

**HE** Huile essentielle

**HPLC** Chromatographie en phase liquide à haute performance

**ISO** International Organization for Standardization

**SM** Spectroscopie de masse

**OMS** Organisation Mondiale de la Santé

## **Liste des annexes**

**Annexe 01 :** Différences des sommes de classement par rang absolu critiques pour les Comparaisons de «tous les traitements» à un seuil de signification de 5 %

**Annexe 02 :** Tableau 1 de test hédonique

**Annexe 03 :** Tableau 2 test hédonique

**Annexe 04:** Tableau 2 (suite)

**Annexe 05 :** Tableau 3 test hédonique

**Annexe 06 :** citron utilisé

**Annexe 07 :** Extraction des huiles essentielles par Hydrodistillation

**Annexe 08 :** Huile essentielle de citron obtenu

**Annexe 09 :** Test de blanchiment beta carotène

**Annexe 10 :** Test de DPPH

## Table des Matières

ملخص

Abstract

Resumé

Remerciement

Table des matieres

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abreviation

Listes des annexes

Introduction

Revue bibliographie

Chapitre I:I.Lait de chamelle

03

I.1 Aperçu sur le cheptel camelin algérien

03

I.1.1 Production laitière

03

I.2 Caractéristiques de lait de chamelle

04

I.2.1 Caractéristiques organoleptiques

04

I.2.2 Caractéristiques physico-chimiques

04

I.2.3 Composition chimique et biochimique

04

I.2.3.1 Teneur en eau

05

I.2.3.2 Minéraux

06

I.2.3.3 Vitamines

07

I.2.3.4 Matière grasse

08

I.2.3.5 Les protéines

08

I.2.3.5.1 Les caséines

08

I.2.3.5.2 Les protéines du lactosérum

09

I.2.3.6 Le lactose

10

I.2.4 Caractéristiques microbiologiques

10

I.2.4.1 Bactéries saprophytes

10

I.2.4.2 Bactéries pathogènes

11

I.2.5 Aptitude du lait de chamelle à la transformation technologique

12

I.2.6 Les produits dérivés

13

I.3 Aptitude de la coagulation de lait de chamelle

14

I.3.1 Coagulation du lait

14

I.3.1.1 Coagulation par voie acide

14

I.3.1.2 Coagulation par voie enzymatique

15

I.3.2 Propriétés du lait de chamelle à la coagulation

16

I.3.3 Fromage

17

I.3.3.1 Définition

17

I.3.3.2 Principales étapes de la fabrication des fromages

17

I.3.3.3 Protéolyse du lait et de fromage

18

I.3.4 Fabrication de DJBEN

18

I.3.4.1 Définition

18

I.3.4 Fabrication du DJBEN

19

<b>Chapitre II. Huile essentielle de citrus limon</b>	<b>20</b>
<b>II.1 Généralité sur le citron</b>	<b>20</b>
<b>II.1.1 Le citronnier</b>	<b>20</b>
<b>II.1.1.1 Taxonomie</b>	<b>20</b>
<b>II.1.1.2 Caractéristiques botaniques</b>	<b>20</b>
<b>II.1.2 Le citron</b>	<b>22</b>
<b>II.1.2.1 Botanique du citron</b>	<b>22</b>
<b>II.1.2.2 Composition biochimique et utilisation du citron</b>	<b>23</b>
<b>II.2 Généralité sur les huiles essentielles</b>	<b>24</b>
<b>II.2.1 Historique</b>	<b>24</b>
<b>II.2.2 Définition</b>	<b>25</b>
<b>II.2.3 Localisation et lieu de biosynthèse de l'huile essentielle de citrus lemon</b>	<b>26</b>
<b>II.2.4 Rôle physiologique</b>	<b>28</b>
<b>II.2.5 Composition chimique</b>	<b>29</b>
<b>II.2.6 Caractères physiques des huiles essentielles</b>	<b>29</b>
<b>II.2.7 Critères de qualité d'une huile essentielle</b>	<b>30</b>
<b>II.2.8 Production mondiale des huiles essentielles</b>	<b>31</b>
<b>II.3 Extraction des huiles essentielles</b>	<b>32</b>
<b>II.3.1 Choix de la méthode d'extraction</b>	<b>32</b>
<b>II.3.2 Méthodes d'extraction</b>	<b>34</b>
<b>II.3.2.1 Expression à froid</b>	<b>34</b>
<b>II.3.2.2 Hydrodistillation</b>	<b>34</b>
<b>II.3.2.3 Entraînement à la vapeur d'eau</b>	<b>35</b>
<b>II.3.2.4 Autres techniques</b>	<b>36</b>
<b>II.3.3 Méthodes de caractérisation des huiles essentielles</b>	<b>38</b>
<b>II.3.3.1 La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)</b>	<b>38</b>
<b>II.3.3.2 Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse CPG/SM</b>	<b>38</b>
<b>II.3.4 Evaluation de l'activité antioxydante</b>	<b>39</b>
<b>II.3.4.1 Méthodes d'évaluation de l'activité anti oxydante des huiles essentielles</b>	<b>40</b>
<b>II.3.4.1.1 Le test de DPPH</b>	<b>40</b>
<b>II.3.4.1.2 Test de blanchiment de <math>\beta</math>-carotène</b>	<b>40</b>
<b>II.3.5 Essais de l'activité antimicrobienne</b>	<b>40</b>
<b>Chapitre III Additifs alimentaires</b>	<b>42</b>
<b>III.1 Définition des additifs alimentaires</b>	<b>42</b>
<b>III.2 Origine des additifs alimentaires</b>	<b>43</b>
<b>III.3 Classification des additifs alimentaire</b>	<b>43</b>
<b>III.4 Rôle des additifs alimentaires</b>	<b>45</b>
<b>III.5 Conservateurs</b>	<b>46</b>
<b>Les antimicrobiens</b>	<b>46</b>
<b>Les antioxydants</b>	<b>46</b>
<b>Les agents anti-brunissement</b>	<b>46</b>

<b>III6 Norme des conservateurs et des antioxydants utilisés dans la production de fromage</b>	<b>46</b>
<b>III7 Aromes</b>	<b>47</b>
<b>III7.1 Définition de l'arôme</b>	<b>47</b>
<b>III7.2 Définition des agents d'aromatisation</b>	<b>48</b>
<b>III7.2.1 Préparations aromatisantes</b>	<b>49</b>
<b>III7.2.2 Les substances aromatisantes</b>	<b>49</b>
<b>III7.2.2.1 Arôme naturel</b>	<b>49</b>
<b>III7.2.2.2 Arôme identique naturel</b>	<b>49</b>
<b>III7.2.2.3 Arôme artificiel</b>	<b>50</b>
<b>III7.2.2.4 Arôme de transformation</b>	<b>50</b>
<b>III7.2.2.5 Arôme de fumée</b>	<b>50</b>
<b>III7.3 Norme des arômes utilisés dans les produits laitiers</b>	<b>51</b>
<b>Partie expérimentale</b>	<b>54</b>
<b>Matériels et méthodes</b>	<b>54</b>
<b>1. Extraction des huiles essentielles</b>	<b>54</b>
<b>1.1 Matériel végétal</b>	<b>54</b>
<b>1.2 Extraction de l'huile essentielle du <i>Citrus limon</i></b>	<b>54</b>
<b>1.3 Rendement d'extraction</b>	<b>54</b>
<b>1.4 Détermination de la teneur en eau</b>	<b>55</b>
<b>1.5 Détermination du taux de cendres</b>	<b>56</b>
<b>2. Evaluation de l'activité antioxydante</b>	<b>56</b>
<b>2.1 Test de blanchissement du <math>\beta</math>-carotène</b>	<b>56</b>
<b>2.2 Test au DPPH</b>	<b>57</b>
<b>3. Analyse minérale végétale</b>	<b>58</b>
<b>3.1 Minéralisation du végétal</b>	<b>58</b>
<b>3.2 Dosage de Na et K</b>	<b>59</b>
<b>4. Incorporation de l'huile essentielle au Djben</b>	<b>59</b>
<b>4.1 Fabrication du Djben (Fromage)</b>	<b>59</b>
<b>4.2 Analyses physicochimiques</b>	<b>60</b>
<b>4.2.1 Mesure de pH et de la conductivité du lait</b>	<b>60</b>
<b>4.2.3 pH et acidité titrable du fromage</b>	<b>61</b>
<b>4.2.4 Détermination de l'extrait sec</b>	<b>61</b>
<b>4.3 Analyses biochimiques</b>	<b>62</b>
<b>4.3.1 Détermination de la teneur en matière grasse dans le lait</b>	<b>62</b>
<b>4.3.2 Détermination de la teneur en matière grasse dans le fromage</b>	<b>62</b>
<b>4.3.3 Détermination la teneur en azote</b>	<b>63</b>
<b>4.3.4 Détermination de la teneur en protéines</b>	<b>65</b>
<b>4.4 Analyses microbiologiques</b>	<b>66</b>
<b>4.4.1 Les FTAM</b>	<b>66</b>
<b>4.4.2 Les coliformes</b>	<b>66</b>
<b>4.4.3 Les Staphylocoques</b>	<b>67</b>
<b>4.4.4 Les Salmonelles</b>	<b>67</b>
<b>4.4.5 Levures et Moisissures<sup>6</sup></b>	<b>67</b>

<b>4.5 Analyses sensorielles</b>	<b>68</b>
<b>4.5.1 Test Panel</b>	<b>68</b>
<b>4.5.2 Test de classement par rang</b>	<b>68</b>
<b>4.5.3 Test hédonique</b>	<b>68</b>
<b>Résultats et discussion</b>	<b>72</b>
<b>1. Extraction des huiles essentielles</b>	<b>72</b>
<b>1.1. Caractéristiques du fruit du citron utilisé</b>	<b>72</b>
<b>1.2. Rendement d'extraction</b>	<b>72</b>
<b>1.3. Taux de cendres</b>	<b>73</b>
<b>2. Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles du Citrus lemon.</b>	<b>73</b>
<b>2.1. Evaluation de l'activité antioxydante</b>	<b>73</b>
<b>2.1.1. Test de blanchissement du <math>\beta</math>-carotène</b>	<b>73</b>
<b>2.1.2. Test au DPPH°</b>	<b>76</b>
<b>Conclusion</b>	<b>77</b>
<b>Références bibliographique</b>	
<b>Annexes</b>	

# ***Introduction***

## INTRODUCTION

---

Parmi les métabolites secondaires des végétaux, les huiles essentielles sont les plus étudiées et ont suscité, ces dernières années, un intérêt croissant dans de nombreux domaines pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique, notamment par leurs propriétés anti-oxydante et antimicrobienne (**Bakkali et al., 2008**).

L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût et aromatiser les aliments (**Aprotosoi et al., 2010**).

D'autre part, les huiles essentielles possèdent des profils de composition chimique différents permettant de les utiliser comme agents naturels de conservation des aliments (**Holley et al., 2005**).

Le lait camelin possède un certain nombre de particularités de composition chimique et physique qui peuvent influencer son aptitude à la conservation (**SBOUI et al., 2009**).

De nombreuses études ont montré que l'incidence du froid sur les constituants du lait est loin d'être négligeable en effet, refroidissement et maintien prolongé au froid sont à l'origine des modifications d'ordre physico-chimiques, biochimiques et bactériologiques. Ces modifications se traduisent par l'apparition d'une nouvelle flore adaptée au froid "flore psychrotrophe" (**Alloui Lombarkia et al., 2002**). Dans ces conditions, la fabrication d'un fromage reste une solution pour prolonger sa durée de vie. Toutefois, les fromages fabriqués à partir d'un lait cru bien qu'ils restent une filière qui valorise le territoire peuvent poser problème pour le consommateur.

Le fromage est un produit alimentaire qui renferme, en plus de sa teneur en eau, plusieurs autres nutriments tels que les protéines, les glucides, les vitamines liposolubles et surtout la matière grasse, ce qui le rend sujet à différents types d'altérations microbiennes et physicochimiques. (**Jeanet et al., 2006 ; St-Gelait et al., 2002**).

L'oxydation de la matière grasse est probablement la transformation chimique causant le problème majeur en technologie laitière surtout dans le fromage en raison de sa teneur élevée en matière grasse (**Collomb et Spahni., 1996**).

La conséquence la plus perceptible de celle-ci est l'apparition d'odeurs désagréables qui conduisent souvent au rejet du produit par le consommateur (**Prior., 2003**).

Plusieurs études ont été menées sur les activités biologiques des huiles essentielles de *Citrus lemon*, telles que l'activité antioxydante (**Himed., 2011 et Hellal., 2011**) et l'activité

## INTRODUCTION

---

antimicrobienne (**Hammer et al., 1999; Caccioniet al., 1998; Moreira et al., 2005**). Ces dernières se sont avérées un moyen très prometteur pour pallier les risques d'altérations causés par les microorganismes ou par l'oxydation des lipides. C'est dans cette optique que s'articule la présente étude, dont les principaux objectifs visent la possibilité d'utilisation de ces huiles essentielles comme agent naturel, antioxydant, antimicrobien et aromatique dans le fromage(**DJBEN**).

Pour atteindre cet objectif, il nous a semblé nécessaire de procéder expérimentalement à :

- ✓ L'extraction des huiles essentielle du (*citrus lemon*) par hydrodistillation;
- ✓ l'analyse de la composition chimique et l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles de (*citrus lemon*);
- ✓ l'application des huiles essentielles obtenues dans le fromage (DJBEN);
- ✓ le suivi de la stabilité oxydative et microbienne dans le fromage(DJBEN);
- ✓ l'analyse des propriétés sensorielles de fromage (DJBEN) élaborée.

# *Revue bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Lait de chamelle*

## I. Lait de chamelle

### I.1 Aperçu sur le cheptel camelin algérien

Sur le plan taxonomique, les chameaux trouvés en Algérie appartiennent à la famille des camélidés, au genre *Camelus* et à l'espèce *Camelusdromedarius* (une seule bosse). **Ben Aissa (1989)** révèle que plusieurs races sont élevées en Algérie dont le Chaambi, l'Ouled Sidi Cheikh, le Sahraoui (issu du croisement de Chaambi et d'Ouled Sidi Cheikh), l'Ait Khebbach, le Chameau de la Steppe, le Targui ou race des Touaregs du Nord, l'Aier, le Reguibi et le Chameau de l'Aftouh . Cependant, la race Sahraoui est la plus dominante (**Siboukeur, 2007**).

Le cheptel camelin algérien est réparti sur 17 wilayats, huit wilayats sahariennes dont: Ouargla, Ghardaï , El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf et Béchar et neuf wilayats steppiques dont: Biskra, Tebessa, Khenchela, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naâma, Laghouat et M'sila(**Ben Aissa, 1989**).

#### I.1.1 Production laitière

Selon plusieurs études effectuées sur les capacités de production de lait, les chameaux algériennes peuvent être considérées comme bonnes laitières comparativement aux potentialités d'autres races dans plusieurs régions du monde (3-10 kg/j) (**Farah, 2011**). En effet, les estimations faites par quelques auteurs, nous donnent des valeurs allant de 0,5 à 10 kg/jour, avec des durées de lactation de 12 à 18 mois, comme le montre le tableau:

**Tableau 01:** Production laitière moyenne de quelques races camelines Algériennes.

Races	Production moyenne (kg)	Durée moyenne de lactation (mois)	Auteurs
Dromadaire de la steppe	0,5-5	12-18	<b>Chehma, 2003</b>
Sahraoui	2-8	12	<b>Chehma, 2003</b>
Sahraoui	1,5-10	12-18	<b>Siboukeur, 2007</b>

## I.2 Caractéristiques de lait de chamelle

### I.2.1 Caractéristiques organoleptiques

Le lait de chamelle est de couleur blanche mate, goût un peu salé et d'un aspect plus visqueux que le lait de vache, qui est de couleur jaunâtre. Ces caractéristiques et surtout le goût du lait de chamelle diffère selon l'alimentation des animaux et la disponibilité en eau.

L'ingestion de fourrages comme la luzerne, donne un goût sucré, certaines plantes halophytes le rendent salé (Sbouï et al, 2009).

### I.2.2 Caractéristiques physico-chimiques

Le pH du lait camelin se situe autour de 6,6 et l'acidité est de l'ordre de 15 °Dornic. Sa densité oscille entre 0,99 et 1,034 avec une viscosité moyenne de 2,2 centipoises (Siboukeur, 2007). Selon Kamoun (1995), le lait de dromadaire est plus acide et moins dense et sa viscosité est plus faible que le lait de vache.

**Tableau 02:** Constantes physiques du lait de chamelle et de vache (Kamoun, 1995)

	Lait de chamelle		Lait de vache	
	Moyennes	ET	Moyennes	ET
<b>pH</b>	6,51	0,12	6,65	0,02
<b>Acidité titrable</b>	15,6	1,4	16	1
<b>Densité</b>	1,028	0,002	1,032	0,001

ET= Ecart Type

La variabilité des rendements laitiers est liée à divers facteurs notamment l'alimentation, le stade de lactation, la pratique et la fréquence de la traite, la race et le nombre de mises bas. (Kamoun1994)

### I.2.3 Composition chimique et biochimique

La composition chimique globale du lait de chamelle contient des teneurs importantes et équilibrées en nutriments de base (protéines, matière grasse et lactose) avec des proportions similaires à celles présentes dans le lait de vache. Toutefois, elle présente une grande originalité dans la composition fine et qualitative des matières protéiques, des matières grasses et des vitamines. (Siboukeur, 2007, Attia et al., 2001)

**Tableau 03:** Composition chimique globale du lait de chamelle (**Hanou, 2018**)

<b>Extrait sec (%)</b>	<b>Matières grasses(%)</b>	<b>Protéines (%)</b>	<b>Lactose (%)</b>	<b>Cendres (%)</b>	<b>Références</b>
9,60	1,20	3,07	5,40	0,99	<b>Attia et al., 2001</b>
11,31	2,8	3,56	4,38	0,72	<b>Siboukeur, 2007</b>
12,18	5,74	2,90	-	0,69	<b>Eshraga et al., 2011</b>
10,92	3	3,39	3,52	0,93	<b>Boudjenah, 2012</b>
10,13	4,4	2,8	4,3	0,82	<b>Mortada et al., 2013</b>

### **I.2.3.1 Teneur en eau**

La teneur en eau de lait de chamelle varie selon le degré de sécheresse de l'environnement extérieur (91% d'eau en saison sèche contre 86% en saison d'abondance alimentaire). Ces variations d'humidité du lait affectent de façon directe les teneurs de ses autres composés.

L'eau est le constituant le plus important du lait. La présence d'un dipôle et de double d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substitutions polaires telle que les glucides, les minéraux et une solution colloïde avec les protéines (**Vignola, 2002**).

La teneur en eau du lait camelin, qui varie selon son apport dans l'alimentation, atteint son maximum pendant la période de sécheresse. En effet, il a été montré que la restriction en eau alimentaire des chameles se traduit par une dilution du lait : un régime riche en eau donne un lait ayant un taux de 86%, alors que dans un régime déficient, celui-ci s'élève à 91% (**Yagil, 1980, Faye, 1991**). Cette dilution pourrait être l'effet d'un mécanisme d'adaptation naturelle pourvoyant en eau les chameles durant la période de sécheresse.

### I.2.3.2 Minéraux

La teneur totale en minéraux est généralement exprimée en cendres totales (Konuspayeva et al., 2009). Elle varie de 0,60 à 1,05 % dans le lait de chamelle. Bien que les sels représentent dans la plupart du temps moins de 1% du lait, ils influent sur l'état physique et la stabilité des protéines du lait, en particulier le complexe phosphocaséinates (Farah, 2004). Les variations de la teneur en minéraux ont été attribuées à la race, l'alimentation, les procédures analytiques (Al kanhal, 2010), l'apport en eau (Haddadin et al., 2008 ; Al kanhal, 2010), l'état sanitaire de l'animal et le stade de la lactation (Farah, 2004). Le lait de chamelle est une source riche en chlorure (Medjour, 2014) en raison des fourrages consommés par les dromadaires, comme Atriplex et Acacia, qui contiennent généralement une forte teneur en sel (Yagil, 1982). La réduction des principaux composants du lait et l'augmentation de la teneur en chlorure du lait des chameilles déshydratées pourrait être une autre cause pour le goût salé dans le lait de chamelle (Al kanhal, 2010). Les minéraux : Na, K, Fe, Cu et Mn dans le lait de chamelle sont sensiblement plus élevé que ceux rapportés pour le lait de vache (Al kanhal, 2010).

**Tableau 04** : Composition en sels minéraux (mg/l) du lait de chamelle (selon différents auteurs cité par Siboukeur, 2007) ; comparaison avec le lait de vache

Origine du lait	Ca	Mg	P	Na	K	Fe	Zn	Cu	Ma	I	Pb	
Lait de chamelle	1060	120	630	690	1560	2.6	4.4	1.6	0.2	--	--	YAGIL et ETZION, (1980)
	1078	122	641	702	1586	2,64	4,47	1,63	0,20	--	--	SAWAYA et al, (1984)
	1310	140	510	270	450	0.4	0.1	0.02	--	--	--	GNAN et SHREHA(1986)
	1160	80	710	360	620	--	--	--	--	--	--	HASSAN et al, (1987)
	300	45	--	431	725	2.8	--	--	--	--	1.8	ELAMIN et WILCOX ; (1992)
	1462	108	784	902	2110	3.4	2.9	0.1	2.0	0.1	--	BANGOUMI et al ;(1994)
	1180	125	889	688	1464	2.34	6.00	1.42	0.80	--	--	MEHAIA et al ; (1995)
	1182	74	769	581	1704	1.3	5	--	0.1	--	--	GORBAN et al ; (1997)
	1230	90	1020	660	1720	--	--	--	--	--	--	ATTIA et al, (2000)
Lait de vache	°1000	°100	°75	°35	°120	*0.20	*2.00	*0.02	*0.03	*0.01	*0.04	(°) et(*)
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1500	150	120	100	1800	0.50	5.00	0.15	0.05	0.05	0.08	

N.B : (--) : non déterminé ; (°) : selon Mietton et al ; 1994 ; (\*) : selon Luquet ; 1985. Sont soulignées les valeurs extrêmes.

### I.2.3.3 Vitamines

Le lait de chamelle se singularise par sa richesse relative en vitamines B3 (niacine) et en vitamine C. Même si des variations importantes (de 25 à 60 mg/l) de la teneur de cette dernière dans le lait camelin sont rapportés (**Farah, 1993**), il n'en demeure pas moins que la teneur signalées (autour de 36 mg/l selon **Farah et al., 1992**) sont en moyenne 3 fois plus élevées que celles présentes dans le lait bovin, qui ne dépassent pas 22 mg/l selon **Mathieu(1998)**.

Cette caractéristique est particulièrement intéressante, car elle permet au lait de cette espèce, par son apport important en cette vitamine, de répondre aux besoins nutritionnels, aussi bien du jeune chamelon que des populations locales, qui vivent dans un environnement où l'apport en ce type de vitamine est particulièrement limité (**SIBOUKEUR, 2007**).

**Tableau 05:** Composition en vitamines ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) du lait de chamelle, (selon différents auteurs cité par **Siboukeur, 2007**) ; comparaison avec le lait de vache.

Nature de vitamin	Lait de chamelle				Lait de vache
	SAWAYA et al (1984)	FARAH et al (1992)	MEHAIA (1994)	KAPPELER (1998)	FARAH(1993)
A (Rétinol)	150	100	-	150	170-180
B1(Thiamine)	330	-	-	600	280-900
B2 (Riboflavine)	416	570	-	800	1200-2000
B3(Niacine)	4610	-	-	4600	500-800
B5(Acide pantothénique)	880	-	-	880	2600-4900
B6(Pyridoxine)	523	-	-	520	400-630
B12(cobalamine)	1,5	-	-	2	2-7
B9(Acide folique)	4,1	-	4	100-200	
E(Tocophérol)	-	560	-	530	100-200
C(Acide ascorbique)	24	37	25	24-36	3-2

#### **I.2.3.4 Matière grasse**

La matière grasse laitière qui représente une source importante d'énergie, est constituée essentiellement des lipides et des substances lipoïdiques. Le lait de chamelle est en moyenne plus faible en matière grasse que le lait de vache. Cependant, les globules gras du lait de chamelle sont de très petites tailles (1,2 à 4,2  $\mu$  de diamètre) et restent donc en suspension même après 24 heures de repos, contrairement au lait de vache dans lequel ces globules constituent une couche grasse en surface au bout de quelques heures. Par ailleurs, la matière grasse du lait de chamelle apparaît liée aux protéines, tout ceci explique la difficulté à baratter le lait de chamelle pour en extraire le beurre. Comparée au lait de vache, la matière grasse du lait de chamelle contient moins d'acides gras à courtes chaînes. Cependant sa teneur en acide gras volatils et en acides gras non saturés est importante (**Siboukeur, 2007**).

#### **I.2.3.5 Les protéines**

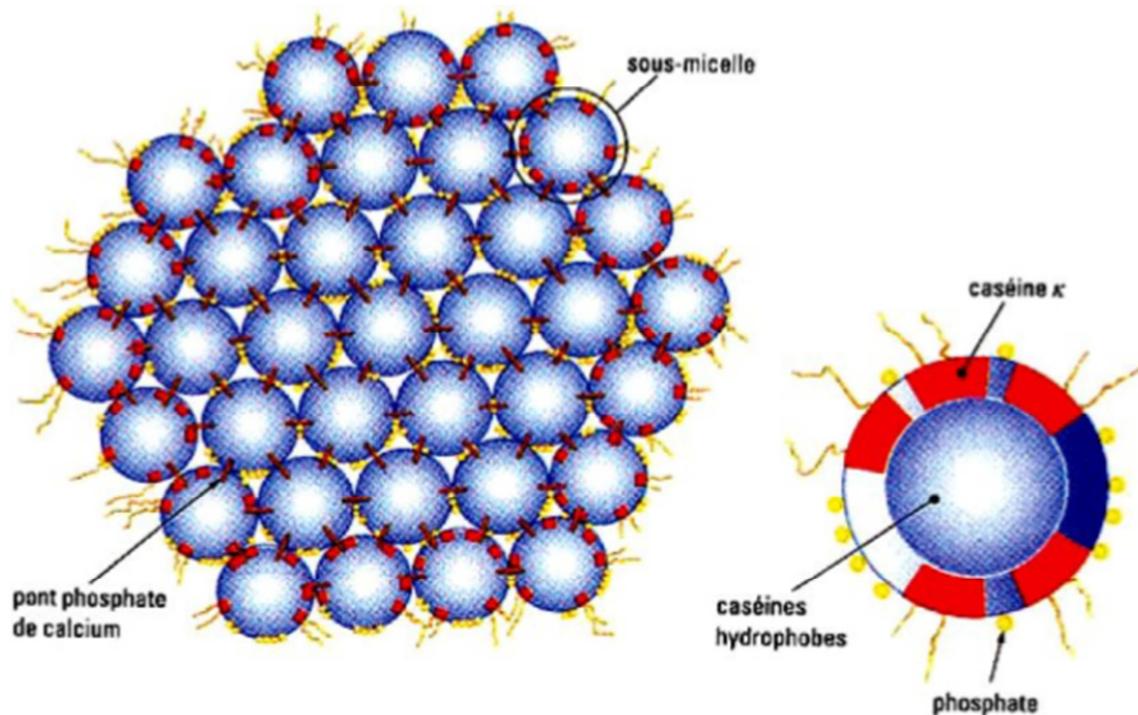
Le lait de chamelle joue un rôle important en tant que source de protéines pour les personnes vivant dans les régions arides du monde (**Shuiep et al., 2013**).

Ces protéines, selon leur solubilité en milieu acide se répartissent comme pour les laits des autres espèces, en deux fractions : les caséines et les protéines du lactosérum. (**Wangoh et al., 1998**)

##### **I.2.3.5.1 Les caséines**

Les caséines camelines sont des phosphoprotéines représentant la fraction protéique la plus abondante, à savoir 52 à 87% des protéines totales (**Farag et Kabary, 1992 et Khaskheli et al., 2005**). Plusieurs travaux ont caractérisé ces caséines et ont mis en évidence l'existence de protéines homologues aux caséines  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  et  $\kappa$  bovines, ces travaux ont montré que globalement les proportions sont similaires à celles rencontrées dans le lait bovin à l'exception de la caséine  $\kappa$  qui semble se retrouver à des teneurs plus faibles (3,47% contre 13% dans le lait de vache) (**Ochirkhuyag et al., 1997**).

Une autre particularité de la caséine du lait de dromadaire est qu'elle est distribuée sous forme de micelles ayant un diamètre double et une charge en minéraux et citrate relativement plus importante par comparaison à celle du lait de vache (**Attia et al., 2000**).



**Figure 01:** Représentation de la micelle de caséine selon le modèle de **Schmidt (1980)**

#### **I.2.3.5.2 Les protéines du lactosérum**

Les protéines du lactosérum sont les deuxièmes principales composantes des protéines du lait de chamelle et constituent 20 à 25% des protéines totales (**Khaskheli et al., 2005**). Selon plusieurs études, leur composition et leur concentration sont différentes de celles du lait de vache. En effet, à l'exception de l' $\alpha$ -lactalbumine, l'albumine sérique, les immunoglobulines, les protéose-peptones, la lactoferrine, la lactopéroxydase et le lysozyme qui sont homologues à celles trouvées dans ce lait (**Girardet et al., 2000**), d'autres protéines n'ayant aucun homologue ont été isolées et caractérisées dont :

- ❖ Une protéine à caractère acide dénommée WheyAcidicProtein(**Kappeler, 1998**).
- ❖ Une protéine dénommée NovelWheyProtein (**Beg et al., 1987**).
- ❖ Une protéine de reconnaissance du peptidoglycane homologue à celle du lait humain (**Kappeler, 1998**).
- ❖ Une protéine basique dénommée Camel Whey Basic Protein(**El-hatmi et al., 2007**).
- ❖ Une protéine de 14000 Da riche en résidus cystéine et dont l'extrémité N-terminal présente une similitude de structure avec celle des caséines  $\alpha$  et  $\beta$  camelines (**Beg et al., 1984**).

En outre, ces protéines sériques sont thermorésistantes (**Farah et al., 1996**). **El-Agamy et al., (2000)** démontrent que le chauffage du lait camelin à 85°C pendant 10 min inhibe seulement 56% du lysozyme et 65,5% de la lactoferrine alors que l'application du même traitement thermique au lait bovin inhibe 73 % du lysozyme et 98,8% de la lactoferrine.

#### **I.2.3.6 Le lactose**

Comme dans le lait bovin, le lactose est le glucide majoritaire présent dans le lait camelin (**Farah, 1993**). Sa teneur varie de 2,40 à 5,80 % (**Konuspayeve, 2009**). La variation observée en cet élément peut être dû au type de plantes consommées dans les déserts (**Khaskheli et al., 2005**).

#### **I.2.4 Caractéristiques microbiologiques**

Le lait de chamelle peut êtreensemencé par de nombreuses espèces microbiennes. Pour certaines, il constitue un bon milieu de culture, ce qui leur permet de s'y développer. Pour d'autres germes banals ou pathogènes, il n'est qu'un véhicule occasionnel. En raison de la grande diversité des bactéries présentes dans le lait, et en se basant sur un certain nombre de propriétés importantes qu'elles ont en commun, on les divise en deux catégories: les bactéries saprophytes et les bactéries pathogènes.

##### **I.2.4.1 Bactéries saprophytes**

Elles peuvent avoir un intérêt hygiénique, technologique ou être indifférentes.

##### **a). Flore lactique**

Les bactéries lactiques forment un groupe très hétérogène. Elles fermentent les sucres dans des conditions diverses. Parmi les genres appartenant à cette flore, on cite les *Streptococcus* (ou *lactococcus*), les *Lactobacillus* les *Leuconostoc* et le *bifidobacterium*.

##### **b). Flore d'altération**

Ce sont des bactéries et champignons indésirables apportés par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (**Dieng, 2001**).

### I.2.4.2 Bactéries pathogènes

Le lait et les produits laitiers, de même que ceux ayant subi un traitement d'assainissement, peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme tel que les entérobactéries. L'animal, l'homme et l'environnement peuvent être à l'origine de cette contamination. Différentes espèces bactériennes sont capables de pénétrer dans la mamelle par le canal du trayon et sont excrétées dans le lait. Certains de ces germes en particulier, les streptocoques et staphylocoques, provoquent des mammites avec contamination du lait (Tarek 2018).

En termes de microbiologie, le lait de chamelle n'a jamais été étudié à large spectre, les travaux réalisés sont cités aux doigts, et ne couvre pas tous les aspects microbiologiques. Ces travaux éparpillés ne touchent que quelques groupes de microorganismes d'intérêt technologique ou sanitaire. Le tableau résume quelques travaux de recherche réalisés, sur des microorganismes isolés du lait de chamelle, en particulier des bactéries lactiques (Boussouar ,2017)

**Tableau 06 : Bactéries lactiques isolées à partir du lait cru et du lait fermenté de chamelle (Boussouar ,2017)**

Origine du lait	Espèces
Algérie Lait cru de chamelle	<i>E. durans</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactisbiovardiacetylactis</i>
Algérie Shmen beurre à base du lait de chamelle	<i>E. faecium</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. plan tarum</i> , <i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactisbiovardiacetylactis</i> , <i>Leu. gelidum</i> , <i>Leu. Pseudomesenteroides</i>
	<i>E. casseliflavus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. damnosus</i> , <i>P. halo philus</i> , <i>P. paravulus</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Strep. bovis</i> , <i>Strep. salivarius</i> , <i>Strep. salivariussubsp. thermophilus</i> , <i>Lb. amylophilus</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb.</i>

<p><b>Maroc Lait cru de chamelle</b></p>	<p><i>casei</i> subsp. <i>casei</i> ,  <i>Lb. casei</i> subsp. <i>rahamnosus</i>, <i>Lb. delbruecki</i> subsp. <i>bulgaricus</i>,  <i>Lb. delbruecki</i> subsp. <i>delbrueckii</i>, <i>Lb.</i> .  <i>delbruecki</i> subsp. <i>lactis</i>, <i>Lb. helveticus</i>, <i>Lb. paracasei</i> subsp.  <i>tolerans</i>, <i>Lb. plantarum</i> ,  <i>Lc. garviae</i>, <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>, <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>,  <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactisbiovar</i>  <i>diacetylactis</i>, <i>Lc. raffinolactis</i> ,  <i>Leu. lactis</i>, <i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Leu.</i>  <i>mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>, <i>Leu.</i> .  <i>mesenteroides</i> subsp. <i>Mesenteroides</i></p>
<p><b>Inde Fromage à base du lait de chamelle</b></p>	<p><i>Lb. casei</i>, <i>Lb. delbruecki</i> subsp. <i>bulgaricus</i>, <i>Lb. fermentum</i>, <i>Lb.</i>  <i>plantarum</i></p>
<p><b>Sudan Gariss lait fermenté à base de lait de chamelle</b></p>	<p><i>E. faecium</i> ,  <i>Strep. bovis</i>, <i>Strep. infant arius</i> subsp. <i>infantarius</i> ,  <i>Lb. animalis</i>, <i>Lb. brevis</i>, <i>Lb. divergens</i>, <i>Lb. fermentum</i>, <i>Lb.</i>  <i>gasseri</i>, <i>Lb. helveticus</i>, <i>Lb. paracasei</i> subsp. .  <i>paracasei</i>, <i>Lb. plantarum</i>, <i>Lb. rhamnosus</i>, <i>Lactobacillus</i> sp .,  <i>Lc. alimentarium</i>, <i>Lc. lactis</i>, <i>Lc. Raffinolactis</i></p>
<p><b>Kenya Suusac lait fermenté à base de lait de chamelle</b></p>	<p><i>Lb. curvatus</i>, <i>Lb. planta rum</i>, <i>Lb. salivarius</i> ,  <i>Lc. raffinolactis</i> ,  <i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>Mesenteroides</i></p>

### I.2.5 Aptitude du lait de chamelle à la transformation technologique

Le lait de chamelle ne possède pas une aptitude technologique comparable à celle des laits d'autres mammifères plus largement exploités (vache, brebis) (**Siboukeur, 2007**) .

Selon plusieurs études comparatives avec le lait bovin de nombreuses spécificités liées à cette inaptitude ont été mises en évidence dont une faible teneur en extrait sec ( **Kamoun, 1995**), une teneur plus faible en caséine  $\kappa$ , une proportion plus importante en caséine  $\beta$  (**Kappler et al., 1998** et **Ochirkhuyag et al., 1997**), des mobilités électrophorétiques différentes (**Attia et al., 2000**) et un site de clivage de la caséine  $\kappa$  par la chymosine différent

(au niveau de la liaison Phe97-Ile98 dans ce lait au lieu de la liaison Phe105-Met106 dans le cas du lait bovin ) (**Kappeler et al., 1998**). De même, sa micelle de caséine se distingue par un diamètre plus élevé, par une charge minérale et citrate plus importante et par une stabilité physique plus marquée vis-à-vis de l'acidification (**Attia et al., 2000**) .

Au vue de ses particularités, sa coagulation enzymatique aboutit à une affinité limitée pour la présure et à une structuration limitée des gels formés (**Ramet, 2003**). Par ailleurs, sa fermentation lactique, n'aboutit pas à un caillé mais à de simples flocons dispersés, dépourvus de toute fermeté (**Abu-Tarboush, 1994**) .

En outre, **Kamoun (1995)**, **El Agamy et al., (2000)** et **Attia et al., (2001)** stipulent que le lait de dromadaire a une faible aptitude à l'acidification, qui se traduit par une phase de latence prolongée et par un gradient plus faible dans le développement de la prise d'acidité. Ces auteurs suggèrent que ces différences proviennent de la présence d'un système anti – microbien efficace caractérisé par une forte teneur en lysozyme et en lactopéroxydase ainsi que par un pouvoir tampon plus marqué que pour le lait de vache.

### **I.2.6 Les produits dérivés**

Les produits dérivés à base de lait de chamelle sont fabriqués de façon artisanale et peuvent être considérés comme des «produits-terroir» fortement associés à une identité culturelle locale et issue d'un savoir-faire ancestral. Parmi ces produits on peut citer : le shubat, le koumis, le gariss et le fric (des boissons fermentés), le kourt (un fromage dur), l'agaran (une crème) et le balkaimak (des caramels ou nougat) (**Konuspayeva et al., 2004**)

Cependant, les travaux menés sur ce lait ont permis de mieux cerner les difficultés et de les contourner en usant de quelques modifications des procédés utilisés. C'est ainsi que des essais concluants de transformation du lait de chamelle en produits dérivés nouveaux ont été rapportés par plusieurs auteurs, notamment pour la fabrication du lait en poudre (**Abu-lehia, 1994**), de beurre (**Farah, 1991**), de fromage (**Ramet, 1994**)

Ces transformations étaient rendus possibles par de l' addition de laits d'autres espèces tels que le lait de brebis (**Ramet, 1990**) ou le lait de vache (**Mehaia, 1993**), par une augmentation de la teneur en matière sèche (**Mortada et Omer, 2013**) ou l'addition de certains stabilisateurs, (**Hashim et al., 2008** et **Ibrahim et Khalifa, 2015**), par un changement de la nature de l'enzyme coagulante et /ou par l'augmentation de sa concentration, ainsi l'utilisation de la pepsine bovine ou de la présure cameline ont été

proposées au lieu de l'utilisation de la présure bovine pour la fabrication des fromages (Wangoh et al., 1993, Siboukeur, 2007 et Boudjenah-Haroun, 2012). Ces extraits enzymatiques possèdent une meilleure affinité pour les caséines camelines et aboutissent à de meilleurs coagulums.

Une autre innovation technique, consistant à la mise au point d'un ferment nommé (Camifloc ND), composé de phosphate de calcium et une enzyme végétale permettant de coaguler le lait de chamelle (El Zubeir et Jabreel , 2008). Ce ferment développé et approuvé par la FAO, a offert une opportunité intéressante aux éleveurs camelins du Sahel (Mali et Niger) de valoriser les excédents laitiers sous forme de fromage .

### **I.3 Aptitude de la coagulation de lait de chamelle**

#### **I.3.1 Coagulation du lait**

La coagulation du lait est la première étape dans la production de la plupart des produits laitiers, pendant laquelle le lait est transformé, par des enzymes spécifiques et / ou des bactéries lactiques, en un coagulum semi-solide viscoélastique. La coagulation du lait correspond à une déstabilisation de l'état micellaire des caséines, et selon le mode de coagulation employé, les mécanismes de formation du coagulum et ses caractéristiques diffèrent. L'analyse des différentes étapes de formation du gel est d'une importance majeure. Par exemple, la détermination du temps de coagulation est une étape clé puisqu'elle affecte de manière significative le rendement fromager. Si le découpage est réalisé avant la fin de la coagulation, des pertes de graisse et de particules de caillé fines se produisent induisant par conséquent une diminution du rendement fromager. Par contre, si le caillé est trop ferme, la synérèse est retardée entraînant une augmentation de la teneur en eau du fromage, ce qui prolonge la durée d'affinage des fromages (Benedito et al. 2002).

##### **I.3.1.1 Coagulation par voie acide**

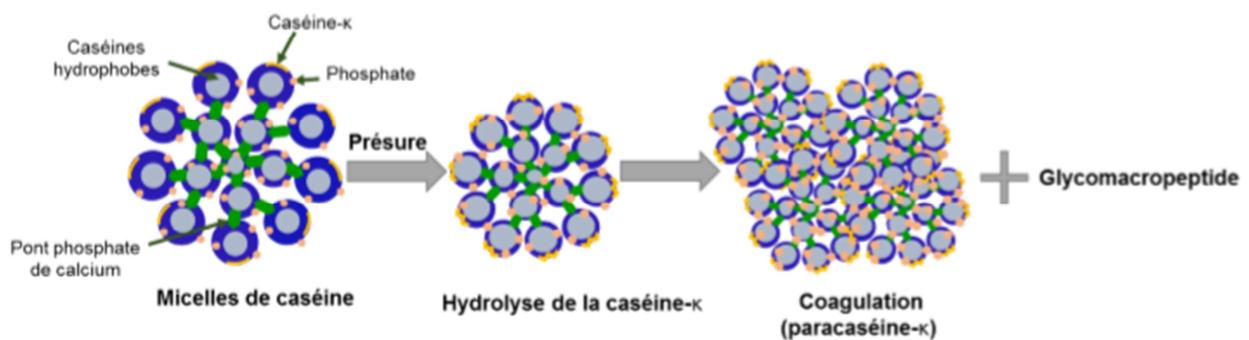
La coagulation par voie acide est de nature électrochimique. Une diminution du pH est induite soit par : l'action de bactéries lactiques naturellement présentes dans le lait et / ou ajoutées sous forme de ferments lactiques transformant le lactose en acide lactique, ou acidification chimique (injection de CO<sub>2</sub> et / ou de glucono- $\delta$ -lactone (GDL)). L'abaissement du pH de 6,7 à 4,4 conduit à la formation du gel lactique. En effet, les micelles de caséines sont présentes dans le lait sous forme d'agrégats de quatre protéines (caséines  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$  et  $\kappa$ ), et leur stabilisation est réalisée par des interactions hydrophobes et ioniques. Ces agrégats

sont renforcés par la présence de phosphate de calcium à l'intérieur des micelles, tandis que l'extérieur de ces agrégats est stabilisé par la caséine- $\kappa$  chargée négativement et qui assure des répulsions électrostatiques. **McMahon et al. (2009)** ont rapporté que la coagulation acide du lait de vache peut être divisée en trois phases en fonction de la diminution de pH. La première phase (de pH 6,7 à 5,3) est caractérisée par la dissociation des micelles des caséines. La deuxième phase de l'acidification se situe entre pH 5,3 et 4,9, et est caractérisée par une réassociation des protéines qui forment des particules colloïdales plus compactes. La dernière phase commence à un pH inférieur à 4,8 impliquant une agrégation rapide des caséines colloïdales conduisant à la formation d'un réseau protéique qui apparaît à un pH d'environ 4,8. Au cours de l'acidification, la neutralisation des charges négatives en surface des micelles de caséines conduit à une augmentation du diamètre moyen des micelles. Le gel formé par acidification est friable, de faible contractibilité et sans cohésion (**Kamal, 2016**)

### **I.3.1.2 Coagulation par voie enzymatique**

Un grand nombre d'enzymes protéolytiques ont la propriété de coaguler le lait. Les plus utilisées sont des enzymes d'origine animale. Les préparations coagulantes d'origine végétales sont rarement utilisées du fait de leur pouvoir coagulant très variable. La présure est considérée comme le coagulant d'origine animale le plus utilisé. Elle est constituée de deux enzymes protéolytiques : chymosine (80 %) et pepsine (20 %). La présure est principalement obtenue à partir de la caillette de veau. L'ajout de la présure au lait entraîne sa coagulation par hydrolyse de la caséine- $\kappa$  située à la surface de la micelle en coupant la liaison peptidique Phe97 - Ile98 et Phe105 - Met106 du lait de chamelle et de vache, respectivement. Cette hydrolyse libère le glycomacropeptide (GMP) qui est la partie hydrophile de la caséine- $\kappa$  chargée négativement et responsable des répulsions électrostatiques (fragments 106–169 et 98–162 dans le cas du lait de vache et de chamelle, respectivement). Le GMP est soluble et est expulsé hors de la micelle. Le fragment 1–105 et 1–97 respectivement pour les laits de vache et de chamelle, correspondant à la paracaséine- $\kappa$  qui est hydrophobe et reste à l'intérieur de la micelle, et interagit avec d'autres composants de la micelle par des liaisons hydrophobes entraînant la formation d'un gel (Amiot et al. 2002). La coagulation du lait par voie enzymatique correspond à trois phases: - La phase primaire qui correspond à l'hydrolyse de la caséine- $\kappa$ . Cette action entraîne la formation de deux fragments peptidiques : la paracaséine- $\kappa$  qui reste associé à la micelle et le GMP qui est exsudé dans la phase du sérum. Il en résulte une réduction des charges négatives et des répulsions stériques de telle sorte que les micelles de caséines deviennent susceptibles à l'agrégation (**Anema, 1997**). - La phase

secondaire qui correspond à la formation d'un gel par agrégation des micelles. L'agrégation démarre lorsque 85 à 90 % de la caséine- $\kappa$  est hydrolysée, ce qui correspond à environ 60 % du temps nécessaire pour observer visuellement la coagulation. - Au cours de la phase tertiaire, des modifications majeures ont lieu au niveau de l'organisation des micelles agrégées via la mise en place de liaisons phosphocalciques et des ponts disulfures. Le gel formé est structuré et possède entre autres une bonne élasticité, une faible friabilité et un fort pouvoir de contraction permettant sa bonne aptitude à l'égouttage par synérèse (**Kamal, 2016**)



**Figure 02:** Étapes de formation d'un gel par action de la présure sur les caséines du lait (d'après le modèle de Schmidt, 1980).

### I.3.2 Propriétés du lait de chamelle à la coagulation

Le lait de chamelle est une matière première agricole qui reste peu valorisée dans l'industrie agro-alimentaire. Cela s'explique par sa faible aptitude à se transformer en produits dérivés. Afin de lever les verrous technologiques au développement de nouveaux produits, quelques études ont été menées dans le but d'améliorer les propriétés de coagulation du lait de chamelle. Les faibles teneurs en matière sèche et en caséine- $\kappa$ , le diamètre élevé des micelles de caséines et l'absence de  $\beta$ -lactoglobuline sont parmi les principales difficultés pour sa transformation en produits laitiers dérivés (**Ramet, 2003 ; Kappeler et al. 2003 ; El-Agamy, 2006; Al-Kanhal, 2010**). En ajoutant du chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) à une concentration de 15 g.100 L<sup>-1</sup> ou en mélangeant du lait de chamelle avec du lait de vache et / ou de brebis (10 à 30 %), les caractéristiques des gels obtenus ont été améliorées puisqu'une diminution du temps de gélification de 20 à 30 % et une augmentation de la fermeté de gels (doublement) ont été observées par rapport au lait de chamelle témoin (**Farah et Bachmann, 1987 ;**

**Ramet, 1990, 1994, 2003**). Ces travaux ont été récemment confirmés par **Hailu et al. (2016)** qui ont indiqué que l'enrichissement du lait de chamelle avec le CaCl<sub>2</sub> à une concentration de 20 g.100 L<sup>-1</sup> contribuait à diminuer le temps de gélification de 703 à 494 secondes et à augmenter la fermeté des gels de 14 à 55 Pa, en comparaison au témoin (lait sans ajout de calcium). La majorité des études susmentionnées ont été réalisées avec la présure extraite de la caillette de veau comme agent coagulant. D'autres travaux de recherche ont porté sur l'utilisation de la pepsine de veau (**Wangoh et al., 1993 ; Ramet, 1994**) ou de la chymosine de chamelon (**Wangoh et al. 1993 ; El-Agamy, 2000b ; Kappeler et al. 2006 ; Haroun et al. 2012 ; Konuspayeva et al. 2014**).

Ces travaux ont souligné que le meilleur coagulum est obtenu en utilisant de la chymosine tirée de l'estomac de chamelon ou de la pepsine de veau. Il est à indiquer que l'utilisation de la pepsine de veau, ayant une activité protéolytique assez prononcée, peut induire l'apparition de défauts d'amertume provoquée par l'accumulation de peptides amers dans le produit fini (**Ramet, 1993**).

### **I.3.3 Fromage**

#### **I.3.3.1 Définition**

La dénomination "fromage" est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse, la teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23 grammes pour 100 grammes de fromages (**Eck, 2006 ; Décret, 2007**).

#### **I.3.3.2 Principales étapes de la fabrication des fromages**

La fabrication fromagère peut être considérée comme un phénomène d'agglomération, correspondant à une synérèse, associée à un phénomène d'écoulement. Il s'agit de l'agglomération des éléments protéiques du lait, de la caséine principalement, plus ou moins modifiées, qui emprisonnent les autres constituants et, ensuite, de l'agglomération de morceaux de caillé moulés. Ce phénomène d'agglomération est associé à celui d'un écoulement de la phase liquide, composée de l'eau du lait et des éléments solubles emprisonnée dans des pores, puis libérée .

Habituellement la fabrication du fromage comprend trois étapes : La formation d'un gel de caséines, c'est la coagulation du lait ; la déshydratation partielle du gel, c'est l'égouttage qui aboutit à un caillé et le salage. Ces étapes concernent les fromages frais. Le reste des fromages subissent en plus une étape d'affinage, ce sont les fromages affinés (Camembert, Roquefort, Gouda, Tulum,...) (**Lahsaoui, 2009**) .

### **I.3.3 Protéolyse du lait et de fromage**

Les caractères organoleptiques des fromages résultent des métabolismes des divers constituants du caillé. La protéolyse a un rôle important dans la genèse de la flaveur, par la libération de nombreux peptides et acides aminés, eux-mêmes précurseurs de composés aromatiques. Certains peptides, en particulier les peptides de faible masse moléculaire et de forte hydrophobicité, sont connus pour développer une forte saveur amère. L'amertume, lorsqu'elle est trop prononcée, est considérée comme un défaut grave (**Molimard, 1994**). La caséine va subir des réactions chimiques successives qui vont engendrer une saveur et une texture agréables au palais (**Voisin, 2010**). Les enzymes ou agents d'affinage, peuvent avoir trois origines: le lait, la présure ou les micro-organismes. Plusieurs types de dégradations s'effectuent simultanément ou successivement, en particulier la lipolyse et la protéolyse.

Dans un fromage frais, les bactéries lactiques se multiplient pendant les premières 24 h et synthétisent leurs enzymes ; durant la phase exponentielle de croissance, les enzymes situées dans la paroi cellulaire ou dans la membrane cytoplasmique, peuvent donc influencer directement sur les caséines ou les peptides situés dans le fromage. La protéolyse des fromages est influencée par les différents paramètres de fabrication (nature du lait, présure et affinage) (**Bouton, 1992**).

## **I.3.4 Fabrication de Jben**

### **I.3.4.1 Définition**

Selon la norme du Codex Alimentaires et la norme internationale **FAO/OMS (2005)**, le fromage frais ou non affiné est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication. Aux termes de la réglementation française, la dénomination «fromage» est réservée à un produit fermenté ou non, obtenu par coagulation du lait, de la crème ou de leur mélange, suivie d'égouttage. Tous les fromages frais ont une DLC de 24 jours

J'ben est un fromage traditionnel frais obtenu par coagulation enzymatique (présure extrait à partir de la caillette de veau). Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette bovine est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et égouttage, le caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques. (**Lahsaoui., 2009**).

Le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (**Salmeron et al., 2002**). Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (**Poznanski et al., 2004**).

#### **I.3.4.2 Fabrication du DJBEN**

Le fromage frais Jben est préparé de façon traditionnelle à base du lait cru .

**Les étapes de la fabrication du Jben sont les suivantes :**

- ❖ Le lait cru est chauffé sur feu doux
- ❖ L'ajoute de coagulant dans le lait, qui entraîne la coagulation du lait.
- ❖ Laisser le lait chauffé jusqu'à la séparation du caillé et de lactosérum.
- ❖ L'égouttage du caillé dans une mousseline.
- ❖ Le coagulum obtenue est appelé Jben, est mis dans un moule est conservé dans le réfrigérateur.

# ***Chapitre II***

---

## ***Huiles essentielles***

## II. Huile essentielle de citrus limon

### II.1 Généralité sur le citron

#### II.1.1 Le citronnier

##### II.1.1.1 Taxonomie

Le citronnier est une plante angiosperme dicotylédone appartenant à l'ordre Térébinthales, à la famille des *Rutaceae*, à la sous-famille des *Aurantioideae*, à la sous tribu des *Citrinae* et au genre *Citrus*. Les *Térébinthales* sont des plantes dialypétales disciflores superovariées, c'est-à dire des plantes dont les fleurs portent un disque et possèdent des pétales libres .

Les *Rutaceae* s'identifient par la présence, sur leurs organes aériens, de poches sécrétrices de type *schizolysigène*. Certaines Rutacées sont des herbacées à petites baies et au goût poivré dont la plupart sont des arbres odoriférants, à fruits juteux. Ils constituent la sous famille des *Aurantioideae* .

Le caractère distinctif de la sous-tribu des *Citrinae* ou *Hespéridées* est le fruit appelé *hespéridie* : les parois de ses loges sont garnies de poils vésiculaires, se développant dans la cavité ovarienne en sacs remplis de grosses cellules à paroi mince et contenant le jus. Ce nom est issu de la mythologie grecque où les trois nymphes du couchant aux voix claires, appelées Hespérides, veillaient sur les « pommes d'or » du verger des Dieux .(Munier, 2011)

Le citronnier est désigné sous le nom de *Citrus limonum* (L.) Burman ou plus couramment *Citrus limon*. La variété du citronnier, Eureka ou des 4 saisons, est la plus cultivée du fait de sa mise à fruit rapide et de ses floraisons très remontantes permettant la production de fruits au printemps et en été. Cette variété est originaire de Californie (Loussert, 1989).

##### II.1.1.2 Caractéristiques botaniques

La longévité naturelle du citronnier peut approcher les 200 ans, mais en culture, son existence d'arbre productif se limite à 50-60 ans. Le citronnier (Figure 1) est un petit arbre vigoureux et épineux qui peut atteindre 3 à 6 m de hauteur. Le tronc est court et le bois est dense et de couleur jaune veiné. Les racines principales sont fortement pivotantes et s'enfoncent à plus de 1,5 m alors que les secondaires sont toutes proches de la surface du sol,

entre 15 et 80 cm sous terre. La frondaison est formée d'une succession de demi-sphères superposées. Son développement s'effectue de trois manières :

- ❖ En trois flux végétatifs, le plus important au printemps, en été et au début de l'automne.
- ❖ Le citronnier émet aisément, sur ses branches âgées, des rameaux ou gourmands qui se développent verticalement du fait de la dominance apicale ; ils dépassent alors la frondaison et constituent un nouvel étage.
- ❖ Des bourgeons adventifs latents, d'origine endogène, existent sur les branches et permettent de régénérer la charpente d'un arbre endommagé.



**Figure 03: Citronnier (Munier, 2011)**

Les feuilles du citronnier, de couleur vert foncé brillant à la face supérieure et vert clair à la face inférieure, sont persistantes, alternes et peu nervurées. Elles sont grandes (6 à 11 cm de long), elliptiques et lancéolées avec un limbe légèrement dentelé à l'extrémité et un pétiole très faiblement ailé.

Comme le montre la Figure, les bourgeons sont rougeâtres et les fleurs, de grande taille, se situent à l'aisselle des feuilles et sont groupées en inflorescences sur les rameaux courts de l'année. La corolle, dite dialypétale, est constituée de 5 pétales épais et libres, blancs bordés de pourpre et très odorants par leur huile essentielle. Le calice, en cloche, est formé de 5 sépales, verts, soudés. Les étamines sont généralement en nombre supérieur à 4 fois celui des pétales. Leurs filets sont soudés à la base en un verticille contenant le disque nectarifère sur

lequel est fixé l'ovaire. Ce dernier est pluriloculaire, avec 8 à 12 carpelles entièrement indépendants qui deviendront autant de quartiers dans le fruit. L'ovaire se prolonge par un style de diamètre inférieur à celui du stigmate, comparativement gros. La floraison est dite remontante : en toute saison, des fleurs s'épanouissent alors que les fruits de l'année précédente sont encore parfois sur l'arbre (Spiegel-Roy et Goldschmidt, 1996 ; Khan, 2007)



**Figure 04:** Bourgeons et fleurs (Munier, 2011)

## II.1.2 Le citron

### II.1.2.1 Botanique du citron

Le fruit du citronnier est une baie dite limoniforme, c'est-à-dire, ovoïde et avec, à l'extrémité stylaire, un mamelon souvent cerné d'une dépression circulaire, sans persistance d'aucune pièce florale .

La peau du citron est appelée écorce ou zeste. Elle est brillante et d'une couleur variant du vert au jaune vif selon la maturité du fruit. Elle est très fortement adhérente aux quartiers et pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences .

La peau se développe à partir des parois externe et moyenne des carpelles floraux. Elle est constituée par le flavédo comprenant l'épicarpe et le mésocarpe externe, et l'albédo ou mésocarpe interne.

L'épiderme interne des carpelles floraux est à l'origine de l'endocarpe ou pulpe. La pulpe est formée d'un ensemble de poils vésiculeux, à paroi mince, et groupés en 8 à 12 quartiers séparables les uns des autres. La pulpe est jaune pâle, juteuse et riche en acide citrique ce qui lui donne sa saveur acide.

Les pépins, fusiformes, proviennent des deux rangs d'ovules. Ils sont blancs, elliptiques ou ovales, pointues, lisses et à un seul embryon et le plus souvent exalbuminés

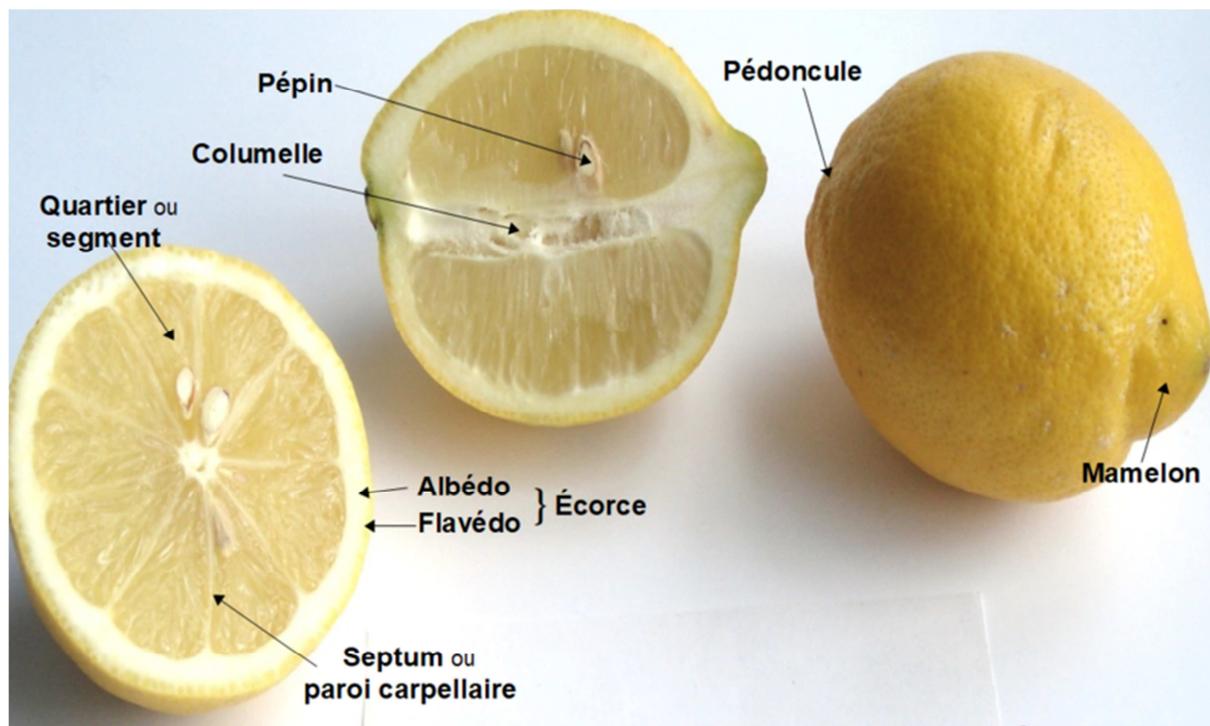


Figure 05: Différentes parties de citron (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Citron>)

### II.1.2.2 Composition biochimique et utilisation du citron

L'utilisation du citron est régie par sa composition biochimique. Il est riche en acide citrique, en calcium, en phosphore, en potassium et en vitamines E, K, B et C, ce dernier présente 53 mg/100g. Cette richesse, fait de lui un fruit très recherché pour ses propriétés thérapeutiques, antiseptiques et anti oxydantes. Il est utilisé contre de nombreuses maladies telles que le scorbut, la toux, le rhume. Il y a même des études qui évoquent le rôle du citron contre les maladies dégénératives du cerveau, comme la maladie d'Alzheimer, grâce à ces puissants flavonoïdes.

En tant qu'aliment, il peut être consommé frais, ou transformé en jus, conserves et confitures. C'est aussi un condiment très apprécié quant à ces propriétés organoleptiques.

Les sous-produits du citron sont largement valorisés, en extrayant les pectines, l'acide citrique, les produits chimiques (flavonoïdes, vitamines) ou encore les huiles de pépins.

Une autre voie de valorisation est l'incorporation des écorces séchées et des déchets des usines de transformation des citrons en aliments du bétail (Munier, 2011).

Le citron est également une source d'huile essentielle ou d'essence extrêmement appréciée. L'extraction des essences peut se faire à partir des feuilles (petit-grain), des fleurs (néroli) ou encore des écorces des fruits. Les huiles essentielles sont utilisées en parfumerie et dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (**González-Molina et al., 2010**).

**Tableau 07:** Principaux constituants chimique de citron (**Goetz, 2014**).

<b>Matière</b>	<b>Famille des constituants</b>	<b>Constituants chimiques</b>
<b>Jus</b>	Flavone	Citroflavonoïdes
	Acide organiques	Acide citrique, acide malique
	Hydrate de carbone	Saccharose , glucose
	Vitamines	Vitamine C (acide ascorbique)
	Minéraux	Sodium, calcium, phosphore, zinc
<b>Ecorce de citron</b>	Huile essentielle	90%D-limonène (monoterpène cyclique) 0,4% β-pinène, 9.6% γ-terpinène

## II.2 Généralité sur les huiles essentielles

### II.2.1 Historique

Avant de parler des différentes généralités, il est important de retracer l'histoire de l'aromathérapie, pratique existant depuis des milliers d'années.

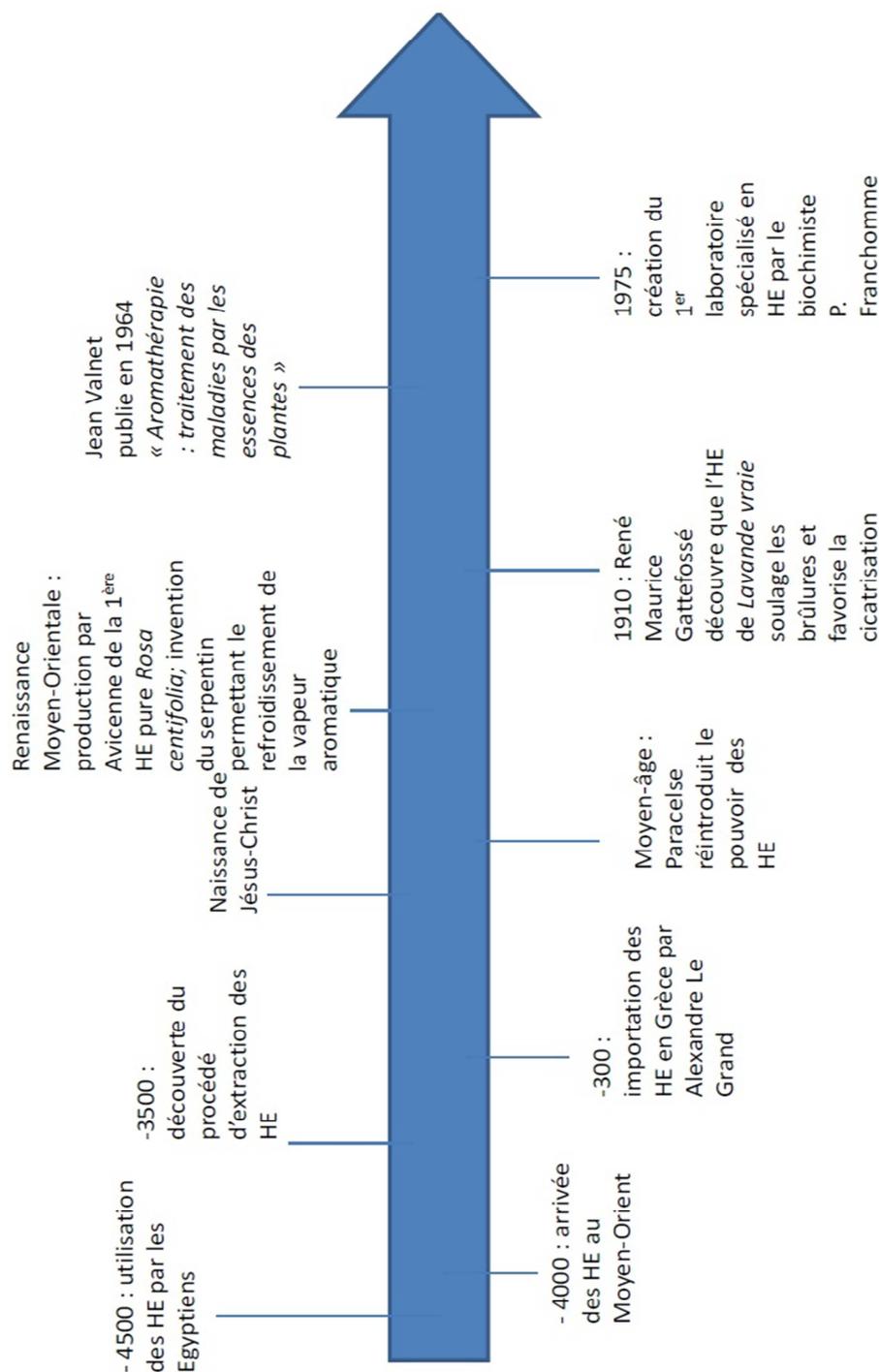


Figure 06: Frise chronologique de l’histoire de l’aromathérapie (Vangedle ,2017).

### II.2.2 Définition

Selon **Durvelle (1930, 1893)**, les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d’huiles volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l’eau, plus ou moins solubles dans l’alcool et dans l’éther,

incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques-unes sont solides ou en partie cristallisées ; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tache durable sur le papier.

D'après **Naves (1976)**, aucune des définitions des HE n'a le mérite d'être claire, ni précise. Les HE sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau

Cette définition peut être étendue aux HE obtenues par expression à froid de l'écorce ou zeste des fruits de Citrus, à cause de l'intervention de l'eau dans les procédés mécaniques pour entraîner le produit libéré des alvéoles oléifères.

La nouvelle Encyclopédie **Funk & Wagnalls (2004)** décrit les huiles essentielles comme les « liquides volatils, la plupart du temps insolubles dans l'eau, mais librement solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales et minérales. Elles sont habituellement non huileuses au contact de la peau. Leurs composants peuvent être regroupés en six classes selon leur structure chimique:

- ❖ Les hydrocarbures, tel que le limonène dans l'huile de citron;
- ❖ Les alcools, tel que le bornéol dans le camphrier de Bornéo;
- ❖ Les esters, tel que le salicylate de méthylique dans l'huile de wintergreen;
- ❖ Les aldéhydes, tel que l'aldéhyde benzoïque dans l'huile d'amandes amères;
- ❖ Les cétones, telle que la menthone dans l'huile de menthe poivrée;
- ❖ Les lactones et oxydes, telle que la coumarine des haricots de Tonka.

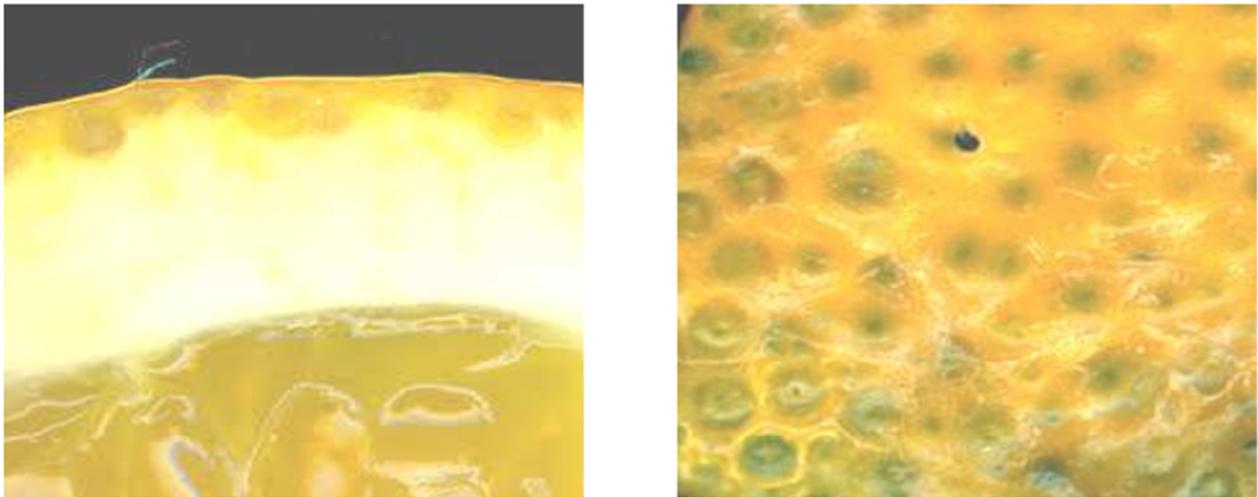
L'Association Française de Normalisation (**AFNOR, Edition 2000**), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

### **II.2.3 Localisation et lieu de biosynthèse de l'huile essentielle de *citrus limon***

Les huiles essentielles sont généralement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes : les fleurs, les feuilles, les rhizomes, les

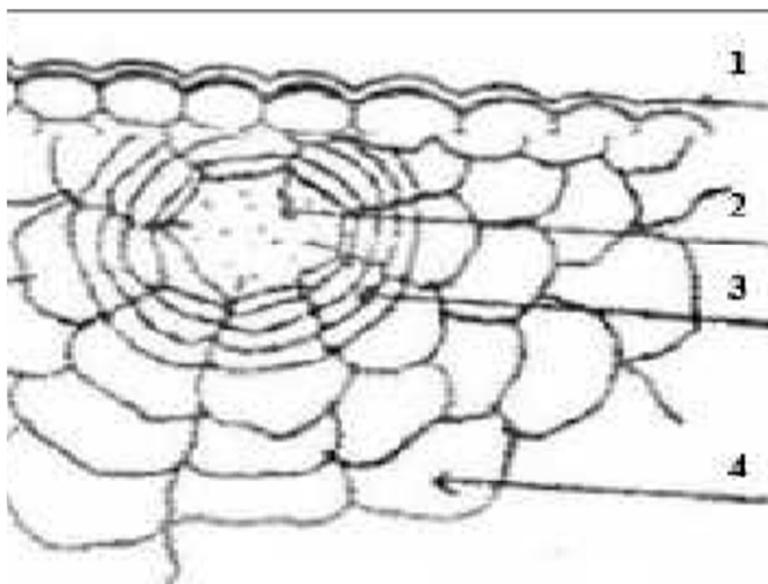
fruits, les écorces et les graines (**Guignard, 2000**). Leurs synthèse et accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (Figure 1): les cellules aux huiles essentielles des Lauracées (*Camphora officinarium*) ou des Zingibéracées (*Zingiber officinale*), les poils sécréteurs des Lamiacées (*Mentha spicata*), les poches sécrétrices des Myrtacées (*Eucalyptus leucoxylon*) ou des Rutacées (*Citrus limon*), les canaux sécréteurs des Apiacées (*Daucus carota*) ou des Astéracées (*Anthemistomentosa*) (**Garnero, 1991**).

Les Citrus élaborent et stockent les huiles essentielles dans des poches schizolysigènes localisées dans la partie externe du mésocarpe du fruit (flavedo). C'est cette localisation particulière qui permet de les récupérer directement par « expression » (**Bruneton, 1999**).



**Figure 07** : Analyse macroscopique des poches à l'huile essentielle du citron

(**Munier, 2011**)



1- épiderme 2- poches à essence 3- cellule sécrétrice 4- parenchymes

**Figure 08:** Parties de plantes permettant la biosynthèse et la sécrétion des huiles essentielles, Poches à essences des Citrus (**Ferhat et al., 2010**)

#### II.2.4 Rôle physiologique

Les huiles essentielles diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles (tous les rôles) soient encore mal connus. Il est cependant clair qu'elles interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que les prédateurs, mais aussi de la pollinisation et la dissémination (**Bruneton, 1999**). Les travaux de **Croteau (1977)** et ceux de **Croteau et Hooper (1978)** ont montré que les composants volatils ont un rôle mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Certains terpènes jouent un rôle important et varié dans la relation des plantes avec leur environnement (**Mahmoud, 1992**). Ainsi le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes responsables de la prolifération des infections ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (**Razafindrakoto, 1988**). Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, antivirale, antifongique, insecticide et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante. Elles peuvent attirer aussi les insectes en favorisant la dispersion de pollens et graines, ou au contraire repousser d'autres indésirables (**Bakkali et al., 2008**).

### II.2.5 Composition chimique

La composition chimique de nombreuses huiles essentielles a été décrite. Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte.

Au sein d'une même espèce, la composition chimique des huiles essentielles peut être différente: on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique : une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles essentielles de compositions différentes. Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (**Buchanan et al., 2000**). La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones (C<sub>5</sub>), l'isopenténylpyrophosphate. Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C<sub>5</sub>), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs isoprènes : les monoterpénoïdes (C<sub>10</sub>) et les sesquiterpénoïdes (C<sub>15</sub>). Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent des alcools, des aldéhydes, des esters, des éthers et des cétones. La classe des phénylpropanoïdes, ou composés phénoliques, est biosynthétisée à partir des acides aminés aromatiques (la phénylalanine et la tyrosine). Ces composés sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. (**Himed, 2018**).

**La norme ISO: NF T 75-335 (1995)** a donné la composition de l'huile essentielle extraite par expression de l'écorce du Citrus limon avec un rendement de 1,2 à 1,5%. Les principaux constituants sont le limonène (65 à 70%), le  $\gamma$ -terpinène (9 à 12%), le  $\beta$ -pinène (4 à 9%), le citral (1 à 5%), le linalol (1,5%), le cinéole, l'acétate de géranyle, le nonanal, le citronellal, l' $\alpha$ -terpinéol, le camphène et l' $\alpha$ -bisabolène.

### II.2.6 Caractères physiques des huiles essentielles

- ❖ Les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante. La volatilité dépend de la composition chimique. Une huile essentielle riche en monoterpènes sera plus volatile qu'une huile essentielle riche en sesquiterpènes.
- ❖ Elles sont plus ou moins colorées. Elles peuvent être incolores lors de leur obtention pour la majorité d'entre elles et foncent au cours de la conservation à l'air et à la lumière. Par

exemple, l'huile essentielle de cannelle est brun rouge tout comme l'huile essentielle de girofle. L'huile essentielle de camomille matricaire, quant à elle, est de couleur bleu vert .

- ❖ Dans les cas extrêmes, l'huile essentielle vieillie et oxydée peut présenter des risques de toxicité. Les huiles essentielles présentent généralement une densité inférieure à 1. En revanche, celles de la cannelle de Ceylan et des clous de girofle sont légèrement supérieures à 1.
- ❖ Elles possèdent un indice de réfraction élevé. Elles sont en général solubles dans les solvants organiques courants et dans les matières grasses. Leur solubilité dans l'eau est quasiment nulle.
- ❖ Elles sont sensibles à l'oxydation, à la lumière et à la chaleur (**Vangelder, 2017**)

### II.2.7 Critères de qualité d'une huile essentielle

En terme de qualité, les recommandations de l'ANSM (anciennement AFSSAPS) du **21/05/2008** exigent à la fois des critères de qualité des matières premières végétales d'où sont issues les HE, mais également des critères de qualité de l'HE proprement dite. Concernant les matières premières végétales, les recommandations de l'ANSM portent sur la dénomination botanique, les conditions de production de la plante, la partie de la plante utilisée, la famille chimique et les méthodes d'identification de la partie de plante destinée à la production de l'HE. Quant à l'HE proprement dite, l'ANSM mentionne le mode d'obtention de l'huile, ses caractéristiques physiques et chimiques, les méthodes d'analyse ainsi que les conditions de conservation et de stockage de l'huile.

En effet, une HE est soumise à deux types de facteurs de variabilité : les facteurs intrinsèques et extrinsèques. Ces facteurs de variabilité influent sur la qualité d'une HE. De nos jours, une reproductivité parfaite de la composition des HE naturelles reste impossible. Chaque HE détient des caractéristiques uniques, impossible à reproduire à l'identique.

- ✓ **Les facteurs intrinsèques:** concernent l'espèce, le genre, l'organe sécréteur, la zone géographique, la saisonnalité, l'environnement, le moment de la cueillette, le type de séchage, les conditions de conservation et de stockage... Des différences de composition sont observées selon la région dans laquelle pousse la plante, l'utilisation d'un végétal frais ou partiellement séché, le moment de la journée consacrée à la cueillette de la plante. Tout comme les fruits et légumes, les HE répondent à la loi des saisons. Le respect des saisons permet d'obtenir des HE fraîchement distillées et donc de meilleure qualité. Ainsi,

les lavandes et lavandins distillés en juillet donnent lieu à des HE disponibles en septembre. De même, les essences de citrus dévoileront tous leurs bienfaits en hiver. Chaque plante aromatique possède un stade végétatif : période pendant laquelle le végétal détient une teneur maximale en essence. Pour un rendement optimal, la récolte de l'essence doit donc s'effectuer pendant le stade végétatif propre à chaque plante aromatique.

- ✓ **Les facteurs extrinsèques:** concernent le type d'extraction ainsi que les méthodes d'analyse et d'identification des composés.

En résumé nous retiendrons que chaque élément de l'histoire d'une plante a un rôle à jouer dans la qualité de l'HE qui va en résulter : de sa naissance à sa mort, en passant par la manière dont elle a été élevée.

**Une norme AFNOR** codifie la présence d'un minimum de ces éléments sur le packaging : NF T 75-002 : l'étiquetage doit comporter : « la désignation commerciale de l'HE, le nom (latin) de la plante et de la partie de la plante dont elle est extraite, la technique de production ou le traitement qu'elle a subi ».

### II.2.8 Production mondiale des huiles essentielles

Ces dernières années, le marché mondial des huiles essentielles est en nette évolution. Les principaux leaders de ce marché sont sans cesse à l'affût de nouvelles fragrances et molécules afin de diversifier leur gamme. Quelque 3000 huiles essentielles sont connues, dont environ 300 sont d'une importance commerciale. Les quantités d'huiles essentielles produites dans le monde sont très variables. La production annuelle de certaines huiles essentielles dépasse 35.000 tonnes, alors que celle des autres peut atteindre quelques kilogrammes. En 2008, la production mondiale des huiles essentielles est dominée par le Brésil et l'Inde avec des productions respectives de 28.6 % et 25.6 %. Suivent ensuite pour un tiers du marché les Etats-Unis, la Chine et l'Argentine avec des productions atteignant respectivement 16.8 %, 9.0 % et 4.9 %. Neuf pays avec des productions internes entre 0.1 et 2 % (France: 1 %) pèsent pour 10 % dans le marché mondial. Enfin, les derniers 10 % se répartissent entre les autres pays du monde avec une production inférieure à 0.1 % .Tandis que certains pays producteurs des huiles essentielles en Afrique, incluant le Maroc, la Tunisie, l'Egypte et l'Algérie avec la Côte d'Ivoire, l'Afrique du Sud, le Ghana, le Kenya, la Tanzanie et l'Ouganda, ont des productions mineures.(Bessah et Benyoussef, 2015).

**Tableau 08:** Huiles essentielles les plus demandées sur le marché mondial (**Bessah et Benyoussef, 2015**).

Pays producteur	Volume (tonne)	Huiles essentielles
Chine, Sri Lanka	1 800	Citronnelle
Inde, Chine, Argentine	32 000	Menthe des bois
Inde, Chine, Argentine	4 000	Eucalyptus type cinéole
USA, Brésil, Argentine	51 000	Orange
Inde, USA, Chine	2 367	Menthe poivrée
Argentine, Italie, Espagne	9 200	Citron
Chine, Brésil, Inde, Vietnam	1 000	Eucalyptus (type citronellal)
Indonésie, Madagascar	1 800	Feuille de clou de girofle
Chine	1 200	Verveineexotique
USA, Chine	1 800	Menthe verte
USA, Chine	1 650	Bois de cèdre (Chine)
France	1 100	Lavandin
Indonésie, Inde	1 200	Patchouli

### II.3 Extraction des huiles essentielles

Pour extraire les huiles essentielles contenant la majeure partie des arômes d'une plante, plusieurs techniques sont utilisées. Le choix du procédé dépend de différents facteurs, tels que, la norme industrielle, la localisation histologique des composés aromatiques dans le végétal, etc. Parmi ces techniques, on peut citer: l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydro-distillation, pression a froid et autres technique (**Mekaoui, 2012**).

Une de ces méthodes sont utilisées dans notre travail : hydrodistillation

#### II.3.1 Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (**Fernandez et Cabrol-Bass, 2007**).

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- ❖ La volatilité;

- ❖ La solubilité;
- ❖ La taille et la forme des molécules constitutives;
- ❖ L'adsorption.

**Tableau 09:** Paramètres mise en oeuvre dans les opérations d'extraction.(Peyron, 1992)

Techniques	Propriétés	Produits fabriqués
Evaporation Déshydratation - Séchage Concentration de miscella (S/pres. atm. ou réduite) Concentration de jus de fruits	<b>Volatilité</b>	Résinoïdes, concrètes Oléorésines
Distillation Rectification (S/pres. atm. ou réduite) Distillation sèche		Isolats, déterpénés Huile empyreumatique
Avec eau (S/pres. atm. ou en surpression) Hydrodistillation et à vapeur humide Vapeur sèche Avec un autre fluide (S/pres. atm. ou réduite) Alcool Polyols		Huiles essentielles Eaux aromatisées Alcoolats Distillats moléculaires
Extraction liquide / solide Solvant conservé : Corps gras Alcool Solvant éliminé: Fluide liquide Fluide liquéfié (ou supercritique)	<b>Solubilité</b>	Pommade Infusion – Teinture Concrète, résinoïde
Extraction liquide / liquide DiscontinueContinue		Essences déterpénées
Cristallisation après concentration partielle et refroidissement		Menthol – Anéthol
Glaçage – Filtration	<b>Formes et taille des particules</b>	Huiles essentielles d'agrumes
Expression – Filtration		
Broyage – tamisage		
Séparation au moyen de membranes		
Séparation chromatographique Décoloration	<b>Adsorption</b>	Huiles essentielles Absolues

### II.3.2 Méthodes d'extraction

#### II.3.2.1 Expression à froid

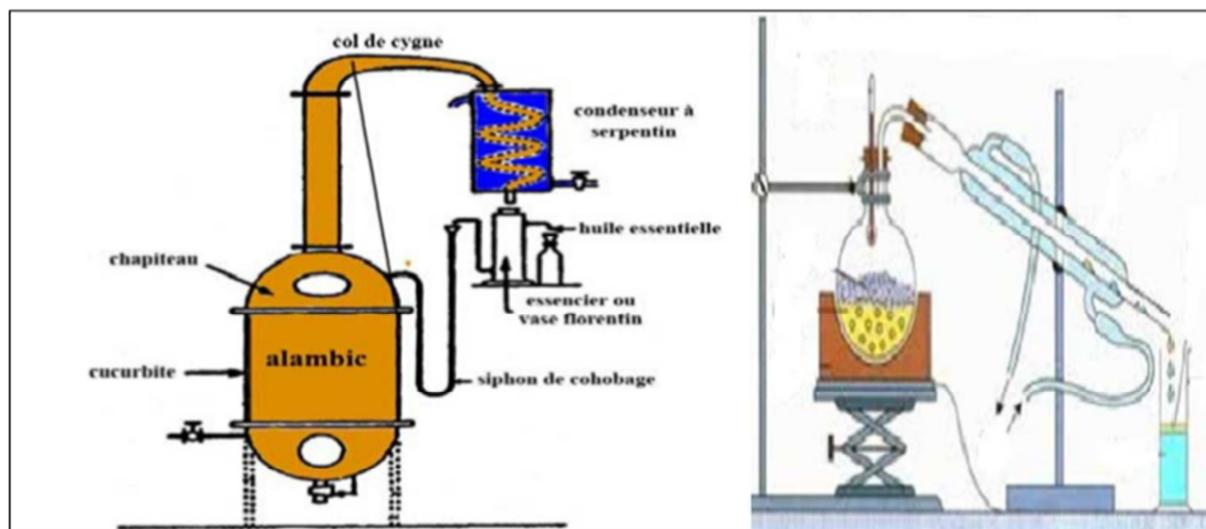
L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux agrumes. Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en huiles essentielles. L'huile essentielle ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau. Une émulsion constituée d'eau et d'essence se forme. L'essence est alors isolée par décantation [82, 83]. L'utilisation de grandes quantités d'eau dans cette technique peut altérer les qualités des huiles essentielles, par hydrolyse, par dissolution des composés oxygénés et par transport de micro-organismes. C'est pour cette raison que les constructeurs cherchent à s'affranchir de l'utilisation de l'eau lors d'une telle extraction. Ainsi, pour éviter ces altérations, de nouveaux procédés physiques usuels sont apparus. Ils sont basés sur l'ouverture des sacs oléifères par éclatement sous l'effet d'une dépression, ou l'utilisation du principe de l'abrasion de l'écorce fraîche (Mekaoui, 2012).

#### II.3.2.2 Hydrodistillation

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction des huiles essentielles à partir des épices sèches, ainsi que pour le contrôle de qualités des huiles essentielles au laboratoire. Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotrope « eau + huile essentielle » distille à une température égale à 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. Durant la distillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle des glandes sécrétrices. La solution aqueuse chargée de composés volatils, diffuserait ensuite à travers une épaisseur de tissu, plus ou moins dense, selon l'organe, vers la

surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée sous forme d'azéotrope (Mekaoui, 2012).

Cependant, **Von Rechenberg** attribue le terme d'hydrodiffusion à ce type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Elle serait responsable de la vitesse relative de la distillation des différents composés aromatiques, dépendant d'avantage de leurs solubilités dans l'eau que de leurs points d'ébullition. La présence de l'eau engendre notamment des phénomènes d'hydrolyse. Les constituants de l'huile essentielle native sont soumis aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, et peuvent subir des modifications chimiques. L'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère sensiblement de l'essence originelle, d'autant plus que la durée d'hydrodistillation est longue (Mekaoui, 2012).



A)

B)

**Figure 09:** Dispositifs d'hydrodistillation(Mekaoui,2012)

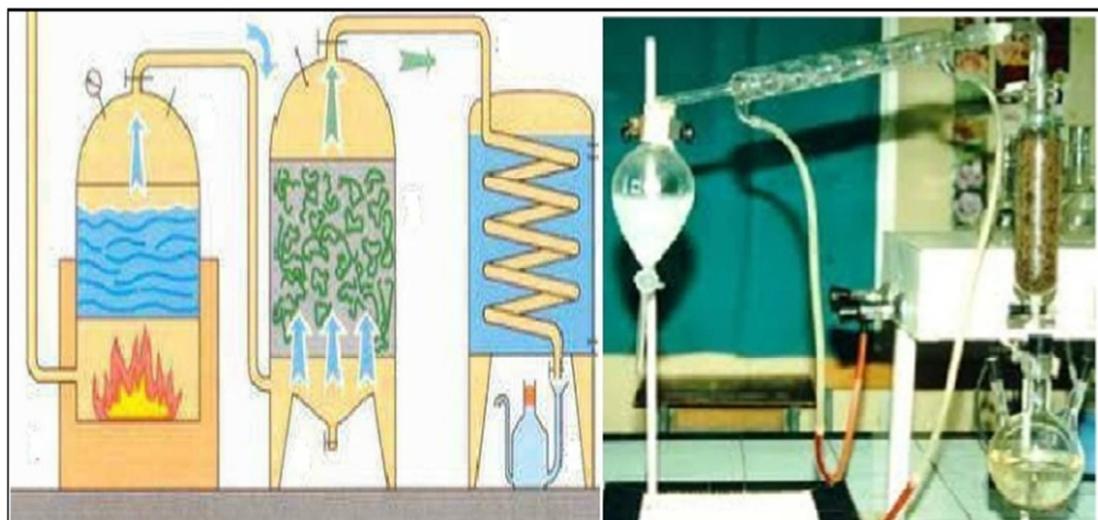
A) A l'échelle industrie

B) A l'échelle laboratoire

### II.3.2.3 Entraînement à la vapeur d'eau

Est l'un des procédés d'extraction les plus anciens et l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un flux de vapeur descendant ou ascendant sans macération préalable. Le plus souvent, la vapeur d'eau est injectée au bas d'une charge végétale. Les vapeurs chargées en composés volatils sont condensées avant d'être décantées et récupérées dans un essencier

(vase de décantation pour les huiles essentielles). Dans le cas des huiles essentielles « superficielles » contenues dans des glandes situées à la surface du matériel végétal, la vapeur provoque la rupture d'un grand nombre de ces glandes dont le contenu se répand à l'extérieur du végétal.



A)

B)

**Figure 10:** Dispositifs d'entraînement à la vapeur d'eau (Mekaoui, 2012) .

A) A l'échelle industrie

B) A l'échelle laboratoire

Dans le cas des huiles essentielles contenues à l'intérieur du matériel végétal, l'huile essentielle doit diffuser à travers le végétal pour entrer en contact avec la vapeur d'eau. Dans un premier temps, la vapeur d'eau condensée imprègne la charge. Le gradient thermique qui s'établit dans la charge est tel que la température la plus basse se situe au cœur de chaque morceau du végétal. Les molécules d'huile essentielle, qui sont légèrement solubles dans l'eau, vont diffuser lentement à l'intérieur du végétal, jusqu'à entrer en contact avec la vapeur d'eau circulant à l'extérieur. La diffusion de l'huile essentielle étant le facteur qui limite la vitesse de l'extraction, la vapeur d'eau se charge en huile essentielle mais sans atteindre la saturation. Par conséquent, l'extraction des huiles essentielles non superficielles est plus longue et exige plus de vapeur que celle des huiles essentielles superficielles.(Mekaoui, 2012).

### II.3.2.4 Autres techniques

#### ✓ Hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (**Roux, 2008**).

#### ✓ Extraction par solvants

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (**Brian, 1995**).

#### ✓ Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Vacuum Micro wave Hydro distillation consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en oeuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu desolvant résiduel (**Justin Nzeyumwami, 2004**).

### II.3.3 Méthodes de caractérisation des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG). C'est la technique la plus utilisée, car elle permet de réaliser une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile. Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle (**Salzer, 1977**). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (**Tomi et al, 1995**).

#### II.3.3.1 La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (**Arpino et al., 1995**). La CPG est aussi une méthode d'analyse. En effet, les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative. Depuis peu de temps, la quantification relative par CPG est remise en cause. En effet, l'utilisation des détecteurs les plus répandus à ionisation de flamme (DIF) et/ou de spectrométrie de masse (DSM), ne donnent pas un facteur de réponse unique. Pour certaines familles de composés chimiques, il peut y avoir une erreur relative pouvant atteindre 60%. En effet, le squelette et surtout la composition élémentaire des constituants organiques influent sur le facteur de réponse. Ainsi des méthodes de quantification réelle avec étalons interne et externe qui sont quasiment les seuls utilisés aujourd'hui et développées pour répondre aux exigences de la pharmacie, la cosmétique, l'agro-alimentaire et surtout le domaine de la recherche scientifique (**Bicchi et al., 2008**).

Pour chacun des composés, deux indices de rétention polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température programmé (indice de rétention) (**Lawrencet, 2000**).

#### II.3.3.2 Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

D'un point de vue analytique, d'importants progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec des appareils tels que le spectromètre de masse (SM). La CPG couplée à la SM est la technique de routine la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée; les différents fragments obtenus, chargés positivement, constituent le spectre de masse de cette molécule. Très souvent, le spectre de masse est caractéristique d'une molécule donnée et, en théorie, il est donc possible d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux de composés de référence, contenu dans des bibliothèques de spectres informatisées commerciales (**Adams, 2001**). Dans la pratique, l'utilisation conjointe de la spectrométrie de masse (utilisation conjointe de banques laboratoire et littérature) et des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarité différente en CPG, permet, en général l'identification d'un grand nombre de constituants dans les mélanges complexes tels que les huiles essentielles (**Senatore et al., 2004**).

Il existe d'autres méthodes d'analyse, qui ont pour objet l'identification qualitative et quantitative, des différents constituants d'une huile essentielle on cite: l'HPLC, l'RMN, l'IR.

### **II.3.4 Evaluation de l'activité antioxydante**

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**). Lorsque l'on parle d'activité anti oxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte).

Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation (**Multon, 2002**). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (**Madhavi et al., 1996**).

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (**RESALA**) de l'**INRS-IAF**, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande,

charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (Caillet et Lacroix, 2007).

#### II.3.4.1 Méthodes d'évaluation de l'activité anti oxydante des huiles essentielles

plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydant des extraits volatiles des plantes aromatiques à savoir: Selon Avlessi et al., (2003), les HE de Citrus limon ont un pouvoir antioxydant très important. A cet effet, Himed (2011) a substitué l'antioxydant synthétique (Tocoblend) par l'HE du Citrus limon à une concentration de 100 ppm dans la margarine.

Hellal (2011) a démontré que des concentrations des huiles essentielles allant de 500 à 3000 ppm de l'HE de Citrus aurantium comparativement à l'HE de C. limonum ont réduit de manière significative l'oxydation des lipides de la sardine.

##### II.3.4.1.1 Le test de DPPH

Ce test permet de mettre en évidence de façon relativement simple le pouvoir anti radicalaire d'un antioxydant ou d'un extrait antioxydant. Cette méthode mesure la capacité réductrice d'un antioxydant en présence d'un radical libre, le DPPH. Ce radical libre est très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette présentant une absorption maximale à 517 nm (Fernandez et Chemat, 2012).

##### II.3.4.1.2 Test de blanchiment de $\beta$ -carotène

Cette technique de spectrophotométrie a initialement été développée par Marco (1968), puis légèrement modifiée par Miller (1971). Elle consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induits un retard de la cinétique de décoloration du  $\beta$ -carotène (Bourkhiss et al., 2010).

#### II.3.5 Essais de l'activité antimicrobienne

Plusieurs études ont démontré que les huiles essentielles de Citrus limon ont des propriétés antimicrobiennes contre les bactéries, les levures et les moisissures (Fisher et Phillips, 2008). Piacentini (1949) était le premier qui a montré que les essences d'agrumes en solution aqueuse ont des propriétés de désinfectants plus puissants que le phénol. Subba et al. (1967) ont signalé que les HE de Citrus limon, à une concentration de 2000 ppm, inhibent le

développement de spores des *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus plantarum*. Par ailleurs, **Moreira et al. (2005)** ont révélé que les huiles essentielles de Citrus limon sont efficaces contre quatre souches de *E. coli* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 2,5 ml/100 ml et une concentration minimale bactéricide (CMB) de 2,8 ml/100 ml.

L'étude de **Fisher et Phillips (2006)** a montré que le linalol et le citral (composants des huiles essentielles de Citrus limon) ont des propriétés antimicrobiennes sous forme de vapeur contre *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. Caccioni et al. (1998) ont indiqué que l'huile essentielle de Citrus limon possède une activité antifongique à une concentration de 1056,4 ppm contre *Penicillium digitatum*. De même, **Belletti et al. (2004)** ont démontré que les huiles essentielles à des fortes concentrations de terpènes comme le citral, sont plus efficaces contre *Saccharomyces cerevisiae*. Selon Fisher et Phillips (2008), plusieurs études sont centrées sur l'application des huiles essentielles de Citrus limon comme agents antimicrobiens dans les aliments tels que les poissons (**Kim et al., 1995; Mahmoud et al., 2004**), les viandes (**Fernandez-Lopez et al., 2005**), les poulets (**Fisher et Phillips, 2006**), les produits laitiers (**Dabbah et al., 1970**), les légumes et les fruits (**Fisher et Phillips**) dans la confiserie (**Kotzekidou et al., 2007**).

**Burt (2004), Holley et Patel (2005) et Fisher et Phillips (2006)** ont démontré que pour obtenir la même efficacité antimicrobienne des huiles essentielles in vitro, la matrice alimentaire exige des concentrations plus élevées, mais ces dernières peuvent altérer les propriétés organoleptiques des produits alimentaires.

# ***Chapitre III***

---

## ***Additifs alimentaires***

### III. Additifs alimentaires

L'utilisation d'additifs alimentaires a permis aux industriels de présenter leurs produits sous leurs meilleurs formes d'où l'emploi des premiers additifs chimiques destinés notamment à prévenir les dégradations microbiologiques des aliments, mais aussi à en moduler de nombreux aspects organoleptiques, la couleur en particulier.

Au 21ème siècle avec le progrès technologique et le développement de l'industrie agroalimentaire, une modification profonde a touché notre alimentation. L'emploi d'additifs alimentaires est devenu indispensable : « conservateurs, colorants, édulcorants de synthèse, antioxydants, aromatisants, agents émulsifiants, stabilisants, épaississants, gélifiants, enzymes, exhausteurs du gout... ».

#### III.1 Définition des additifs alimentaires

D'après le comité FAO–OMS, un additif alimentaire est défini comme une substance dotée ou non d'une valeur nutritionnelle, ajoutée intentionnellement à un aliment dans un but technologique, sanitaire, organoleptique ou nutritionnel. Son emploi doit améliorer les qualités du produit fini sans présenter de danger pour la santé, aux doses utilisées.

#### Définition légale des additifs alimentaires dans la le codex alimentarius :

« Par additif alimentaire, on entend toute substance qui n'est pas normalement consommée en tant que denrée alimentaire, ni utilisée normalement comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire, qu'elle ait ou non une valeur nutritive, et dont l'addition intentionnelle à une denrée alimentaire dans un but technologique (y compris organoleptique) à une étape quelconque de la fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou de l'entreposage de ladite denrée entraîne, ou peut, selon toute vraisemblance, entraîner (directement ou indirectement) son incorporation ou celle de ses dérivés dans cette denrée ou en affecter d'une autre façon les caractéristiques. Cette expression ne s'applique ni aux contaminants, ni aux substances ajoutées aux denrées alimentaires pour en préserver ou en améliorer les propriétés nutritionnelles ».

**Définition des additifs alimentaires dans la réglementation algérienne:**

Dans le **Journal Officiel de la République Algérienne N° 30 du décret exécutif n°12 (Annexe n°2)** un additif alimentaire est défini comme toute substance : qui n'est normalement ni consommée en tant que denrée alimentaire en soi, ni utilisée comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire. qui présente ou non une valeur nutritive, dont l'adjonction intentionnelle à une denrée alimentaire dans un but technologique ou organoleptique à une étape quelconque de la fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou de l'entreposage de cette denrée affecte ses caractéristiques et devient elle-même ou ses dérivés, directement ou indirectement, un composant de cette denrée alimentaire.

Il ne faut pas confondre les additifs alimentaires avec les auxiliaires de fabrication ou auxiliaires technologiques qui sont également des substances ajoutées en quantités minimales aux denrées alimentaires au cours de leur fabrication mais par opposition aux additifs alimentaires ne sont plus présents dans le produit fini ou seulement sous forme de résidu techniquement inévitable et ne font pas partie des constituants de la denrée alimentaire

**III.2 Origine des additifs alimentaires:**

Ils peuvent être d'origine naturelle, minérale (sulfites, nitrite etc.), végétale (épaississants extraits de graines, d'algues etc.), animale (colorants comme le carmin de cochenille) ou artificielle: produits de transformation de substances naturelles (amidon transformés comme agents de texture etc.), de fermentation (enzymes, gommages xanthane ou gellane etc.), ou encore être un colorant de synthèse (érythrosine, indigotine). Un arôme donnera une odeur ou un goût particulier comme les édulcorants et les releveurs de goût, un colorant un aspect ou une couleur, les antioxydants et conservateurs antiseptiques une meilleure conservation, les épaississants, gélifiants, émulsifiants et agents de texture une meilleure présentation, les enzymes dénaturent certains micro-organismes.

**III.3 Classification des additifs alimentaires**

Les additifs alimentaires sont classés en 27 catégories fonctionnelles dans le codex alimentaires et sont aussi décrits dans la réglementation algérienne et défini comme ce qui suit:

- ❖ **Régulateur de l'acidité** : Additif alimentaire qui contrôle l'acidité ou l'alcalinité d'une denrée alimentaire;
- ❖ **Antiagglomérant**: Additif alimentaire qui réduit la tendance que peuvent avoir les composants d'une denrée alimentaire à adhérer les uns aux autres;
- ❖ **Antimoussant**: Additif alimentaire qui empêche ou réduit la formation de mousse;
- ❖ **Antioxydant**: Additif alimentaire qui prolonge la durée de conservation des aliments en les protégeant contre les altérations dues à l'oxydation;
- ❖ **Agent de blanchiment**: Additif alimentaire utilisé pour décolorer des denrées alimentaires (mais pas la farine). Les pigments ne sont pas des agents de blanchiment;
- ❖ **Agent de charge**: Additif alimentaire qui leste une denrée alimentaire sans en modifier sensiblement la valeur énergétique;
- ❖ **Agent de carbonation**: Additif alimentaire utilisé pour apporter du dioxyde de carbone à une denrée alimentaire;
- ❖ **Support**: Additif alimentaire utilisé pour dissoudre, diluer, disperser ou modifier physiquement de toute autre façon un additif alimentaire ou un nutriment sans altérer sa fonction (et sans produit lui-même d'effet technologique) afin de faciliter sa manipulation, son application ou son utilisation de l'additif alimentaire ou du nutriment;
- ❖ **Colorant**: Additif alimentaire qui ajoute de la couleur à une denrée alimentaire ou rétablit sa couleur naturelle;
- ❖ **Agent de rétention de la couleur**: Additif alimentaire qui stabilise, retient ou intensifie la couleur d'une denrée alimentaire;
- ❖ **Émulsifiant**: Additif alimentaire qui permet d'obtenir ou de maintenir un mélange uniforme à partir de deux ou plusieurs phases immiscibles contenues dans un aliment;
- ❖ **Sel émulsifiant**: Additif alimentaire qui, lors de la fabrication d'aliments transformés, arrange les protéines de manière à empêcher la séparation des graisses;
- ❖ **Agent affermissant**: Additif alimentaire qui rend ou garde les tissus des fruits ou des légumes fermes ou craquants, ou interagit avec des gélifiants de manière à produire ou à renforcer un gel;
- ❖ **Exaltateur d'arôme**: Additif alimentaire qui exalte le goût et/ou l'odeur naturel d'une denrée alimentaire;
- ❖ **Agent de traitement des farines**: Additif alimentaire qui, ajouté à la farine ou à la pâte, en améliore la qualité boulangère ou la couleur;

- ❖ **Agent moussant:** Additif alimentaire qui permet de former ou de maintenir une dispersion uniforme d'une phase gazeuse dans un aliment solide ou liquide;
- ❖ **Gélifiant:** Additif alimentaire qui confère une certaine texture à l'aliment au moyen de la formation d'un gel;
- ❖ **Agent d'enrobage:** Additif alimentaire qui, lorsqu'il est appliqué à la surface externe d'un aliment, lui confère un aspect brillant ou le recouvre d'un revêtement protecteur;
- ❖ **19 Humectant:** Additif alimentaire qui empêche les aliments de se dessécher en combattant l'effet que peut avoir une atmosphère caractérisée par un faible degré d'humidité;
- ❖ **Gaz de conditionnement:** Additif alimentaire gazeux, qui est introduit dans un conteneur pendant, durant ou après son remplissage avec une denrée alimentaire avec l'intention de protéger l'aliment par exemple de l'oxydation ou de l'altération;
- ❖ **Conservateur:** Additif alimentaire qui prolonge la durée de conservation des aliments en les protégeant contre les altérations dues aux micro-organismes;
- ❖ **Gaz propulseur:** Additif alimentaire gazeux qui permet d'expulser un aliment contenu dans un récipient;
- ❖ **Agent levant:** Additif alimentaire ou combinaison d'additifs alimentaires, qui dégage du gaz et, par-là même, augmente le volume d'une pâte;
- ❖ **Séquestrant:** Additif alimentaire limitant la disponibilité des cations;
- ❖ **Stabilisant:** Additif alimentaire qui permet de maintenir une dispersion uniforme de deux ou plusieurs composantes dans un aliment;
- ❖ **Édulcorant:** Additif alimentaire (autre qu'un sucre mono ou disaccharide), qui confère un goût sucré à l'aliment;
- ❖ **Épaississant:** Additif alimentaire qui augmente la viscosité d'un aliment.

#### III.4 Rôle des additifs alimentaires:

Les additifs alimentaires ont des fonctions particulières, tel que:

- ❖ garantir la qualité sanitaire des aliments (conservateurs, antioxydants);
- ❖ amélioration de l'aspect (colorants) et le goût d'une denrée (édulcorants, exhausteurs de goût);
- ❖ obtention d'une texture particulière (épaississants, gélifiants);
- ❖ stabiliser le produit (émulsifiants, antiagglomérants, stabilisants).

### III.5 Conservateurs

Ces additifs sont regroupés dans la catégorie des conservateurs dans le système SIN. Il existe essentiellement trois types de conservateurs ajoutés aux aliments (**Larry Branen et Haggerty, 2001**).

- ❖ **Les antimicrobiens**, avec des numéros E et SIN allant de 200 à 290, sont utilisés pour contrôler ou empêcher la croissance des microorganismes. Ils jouent un rôle majeur dans l'extension de la durée de vie de nombreux snacks et plats cuisinés (**Davidson et al., 2001**);
- ❖ **Les antioxydants** (SIN 300-326 et E300-E326), sont utilisés pour empêcher l'oxydation des lipides et / ou des vitamines dans les produits alimentaires. Ils sont utilisés principalement pour prévenir l'auto-oxydation et le développement ultérieur du rancissement et de la saveur désagréable. Ils varient des substances naturelles telles que les vitamines C et E aux produits chimiques synthétiques comme *l'hydroxyanisolebutylé* (BHA) et *l'hydroxytoluènebutylé* (BHT). Les antioxydants sont particulièrement utiles pour conserver les aliments secs et surgelés pendant une période de temps prolongée (**German., 2001**);
- ❖ **Les agents anti-brunissement** sont des produits chimiques utilisés pour prévenir le brunissement enzymatique et non enzymatique dans les produits alimentaires, en particulier les fruits secs ou les légumes. Les plus couramment utilisés dans cette catégorie sont la vitamine C (E300), l'acide citrique (E330) et le sulfite de sodium (E221), ces additifs sont classés comme des antioxydants ou des conservateurs dans le système SIN, conservant les mêmes nombres que dans le système E.

### III.6 Norme des conservateurs et des antioxydants utilisés dans la production de fromage

La présente Norme s'applique aux fromages non affinés, y compris le fromage frais, destinés à la consommation directe ou à un traitement ultérieur.

Seuls les conservateurs et les antioxydants mentionnés ci-après peuvent être utilisés et uniquement dans les limites fixées **CODEX STAN 221-2001**.

**Tableau 10:** Norme générale Codex pour les conservateurs utilisés dans la production de fromage frais **CODEX STAN 221-2001**

N° SIN	Nom de l'additif	Concentration maximale
	Agents de conservation	
200	Acide sorbique	1000 mg/kg de fromage, seuls ou en combinaison, exprimés sous forme d'acide sorbique
202	Sorbate de potassium	
203	Sorbate de calcium	
234	Nisine	12,5 mg/kg
280	Acide propionique	Limitée par les BPF
281	Propionate de sodium	
282	Propionate de calcium	
283	Propionate de potassium	

**Tableau 11 :** Norme générale Codex pour les antioxydants utilisés dans la production de fromage frais **CODEX STAN 221-2001**

N° SIN	Nom de l'additif	Concentration maximale
	antioxydant	
–	–	–

(-) non mentionné

### III.7 Aromes

#### III.7.1 Définition de l'arôme

L'arôme d'un aliment provient de molécules organiques volatiles, solubles dans l'eau et liposolubles libérées par mastication de l'aliment. Les molécules odorantes ainsi dégagées circulent dans l'arrière gorge arrivent dans la cavité nasale et stimulent les récepteurs olfactifs par rétro-olfaction (**Directive 88/388/CEE**).

**La Directive 88/388/CEE** définit l'arôme comme un produit ou une substance destiné à être ajouté à une denrée alimentaire pour lui conférer une odeur, c'est-à-dire une perception par voie nasale ou retro-nasale et/ou un goût c'est-à-dire une perception par voie linguale et qui appartient à l'une des catégories d'agents d'aromatisation, Sont exclus des arômes :

- ❖ les substances qui ont exclusivement un goût sucré, acide ou salé parce qu'on retombe soit sur des denrées alimentaires « générales » comme le sucre ou le sel soit sur des additifs réglementés par ailleurs, comme les acidifiants et les édulcorants ;
- ❖ les aromates, épices et fines herbes qui ne sont pas considérés comme des arômes.

Les arômes ont donc une fonction organoleptique. Ce sont des substances d'addition ajoutées volontairement aux denrées alimentaires pour restaurer une note aromatique ou bien en conférer une à une denrée qui n'en a pas particulièrement au départ.

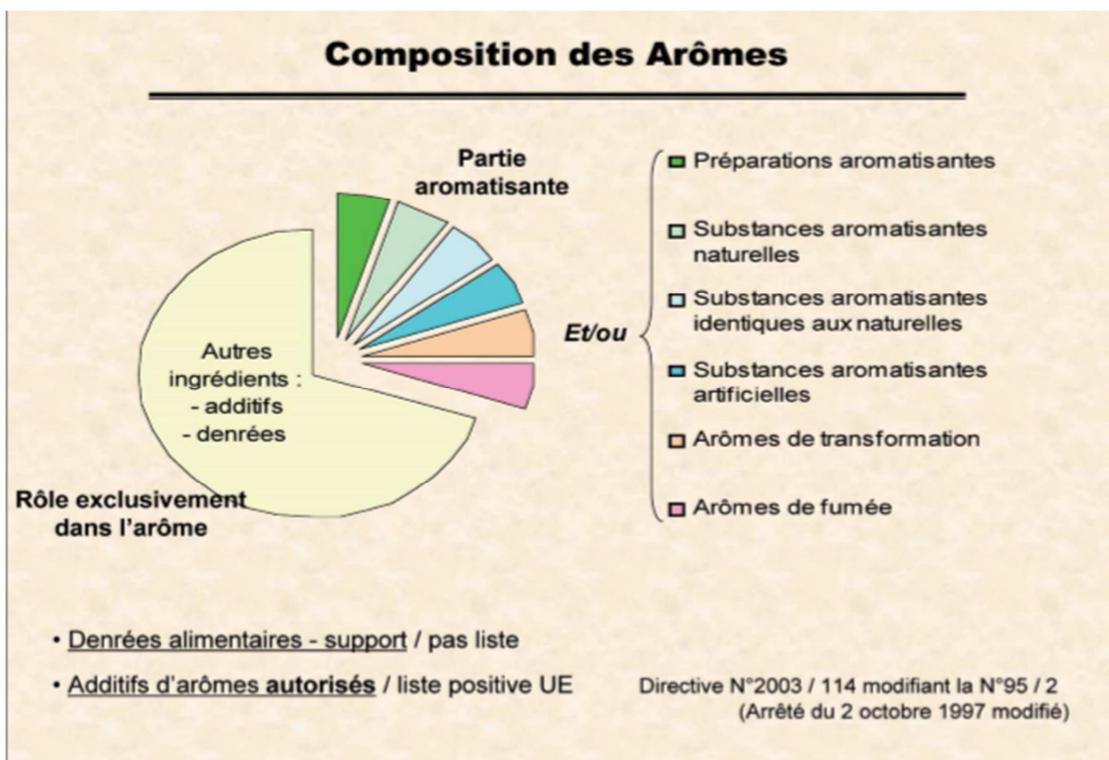


Figure 11: Composition des arômes selon le directive 2003, 114.

### III.7.2 Définition des agents d'aromatisation

La législation européenne 88/388/CEE classe et définit 6 agents d'aromatisation– 6 catégories dont les préparations aromatisantes, et substances aromatisantes.

### III.7.2.1 Préparations aromatisantes

Ce sont un mélanges de molécules obtenues à partir de matières premières naturelles d'origine végétale ou animale par des procédés physiques d'isolement ou des procédés biotechnologiques, c'est-à-dire la mise en œuvre d'enzymes ou de fermentations microbiennes. Ainsi, un extrait de vanille ou une huile essentielle d'orange sont des préparations aromatisantes.

### III.7.2.2 Les substances aromatisantes

#### III.7.2.2.1 Arôme naturel

L'arôme naturel est une substance chimique obtenue soit par des procédés physiques tels que la distillation ou l'extraction au solvant, soit par des procédés enzymatiques ou biologiques. Cet arôme doit être fabriqué à partir d'une matière d'origine végétale ou animale, transformée ou non pour la préparation des denrées alimentaires (exemple : torréfaction, fermentation, séchage...). Par exemple, l'eugénol est une substance aromatique présente en grande quantité dans le clou de girofle.

Les arômes naturels peuvent encore se distinguer en 2 catégories:

- ❖ Les arômes naturels de X (X étant une source naturelle telle qu'une fleur, une épice, un fruit...). Ces arômes sont fabriqués à partir de la source naturelle X. Par exemple, un yaourt à l'arôme naturel de fraise signifie que l'arôme est bien extrait de la fraise. Sur le pot de yaourt, le dessin d'une fraise est autorisé;
- ❖ Les arômes naturels goût X. Etonnamment, aucun apport de la source naturelle X n'est obligatoire pour la fabrication de ce type d'arôme. Ces arômes ne sont pas extraits de la matière première X. La source utilisée est bien naturelle mais est bien différente de X. Par exemple, on peut créer l'arôme de fraise à partir de copeaux de bois australien ou encore l'arôme de noix de coco à partir d'un champignon.

#### III.7.2.2.2 Arôme identique naturel

Cette molécule est obtenue par synthèse chimique ou isolée par des procédés chimiques. De plus, celle-ci est identique à une substance présente naturellement dans une matière végétale ou animale.

Par exemple, l'utilisation de la vanilline de synthèse s'est répandue dans l'alimentation et les parfums. En effet, la vanilline industrielle est fabriquée à moindre coût que la vanilline extraite des gousses de vanille.

### III.7.2.2.3 Arôme artificiel

Cette substance chimique est obtenue par synthèse chimique et cette molécule n'existe pas dans la nature. Ces molécules sont intéressantes pour renforcer les arômes d'un produit. Par exemple, l'arôme artificiel de l'éthylvanilline est 2 à 4 fois plus puissant que la vanilline.

### III.7.2.2.4 Arôme de transformation

Cet arôme est obtenu par chauffage d'un mélange d'ingrédients à une température inférieure à 180°C pendant maximum 15 minutes. Au moins un des ingrédients doit contenir de l'azote et un autre doit contenir un sucre (Réaction de Maillard). Le but de la préparation de ces arômes est de copier les réactions se produisant naturellement pendant la cuisson des aliments. Par exemple, on peut créer des arômes de soupes, de sauces... Sur les emballages, ces produits sont étiquetés « Arôme ».

### III.7.2.2.5 Arôme de fumée

Cet arôme est obtenu par combustion de bois et est utilisé dans les procédés traditionnels de fumaison des denrées alimentaires. (Directive 88/388/CEE)



Figure 12: définition des catégories d'arômes( **Règlement 2065/2003** ).

Ces 6 catégories d'agents d'aromatisation peuvent être mélangées entre elles ou utilisées isolément dans la partie aromatisante de l'arôme. En fait un arôme ne contient pas que les agents d'aromatisation, il peut contenir éventuellement d'autres ingrédients comme des denrées alimentaires ou des additifs qui ne doivent avoir de rôle que dans l'arôme et qui servent à sa conservation, à sa fabrication, à son stockage ou à son utilisation dans les denrées alimentaires.

### III.7.3 Norme des arômes utilisés dans les produits laitiers

Selon la **circulaire du 21.12.1971**, seules les substances aromatiques naturelles sont autorisées. Toutes fois, l'utilisation de matières aromatiques renforcées aux arômes d'abricot, ananas, banane, fraise, framboise, poire, prune et cerise est admise. La limite de renforcement est au maximum de 2 g de substance artificielle par Kg de matière aromatique naturelle de base concentrée au minimum 4 fois.

Ces arômes sont utilisés dans les laits aromatisés, les laits de conserve, les laits concentrés sucrés, les laits secs aromatisés, les fromages frais, les laits fermentés et les crèmes (**Gouget et al. 1992**).

*Partie*

---

*expérimentale*

***Matériels et***  
***méthodes***

## Objectifs de l'étude

Evaluer l'impact des huiles essentielles du *Citrus Limon* sur les caractéristiques physicochimiques, microbiologiques et sensorielles d'un fromage fabriqué à partir du lait de chamelle. Les différentes analyses de cette étude, seront réalisées dans le laboratoire pédagogique de contrôle de qualité alimentaire. Département de Biologie, Université Larbi Tébessi , Tébessa.

- Pour atteindre ces objectifs, nous avons suivi la méthodologie présentée dans l'organigramme suivant :

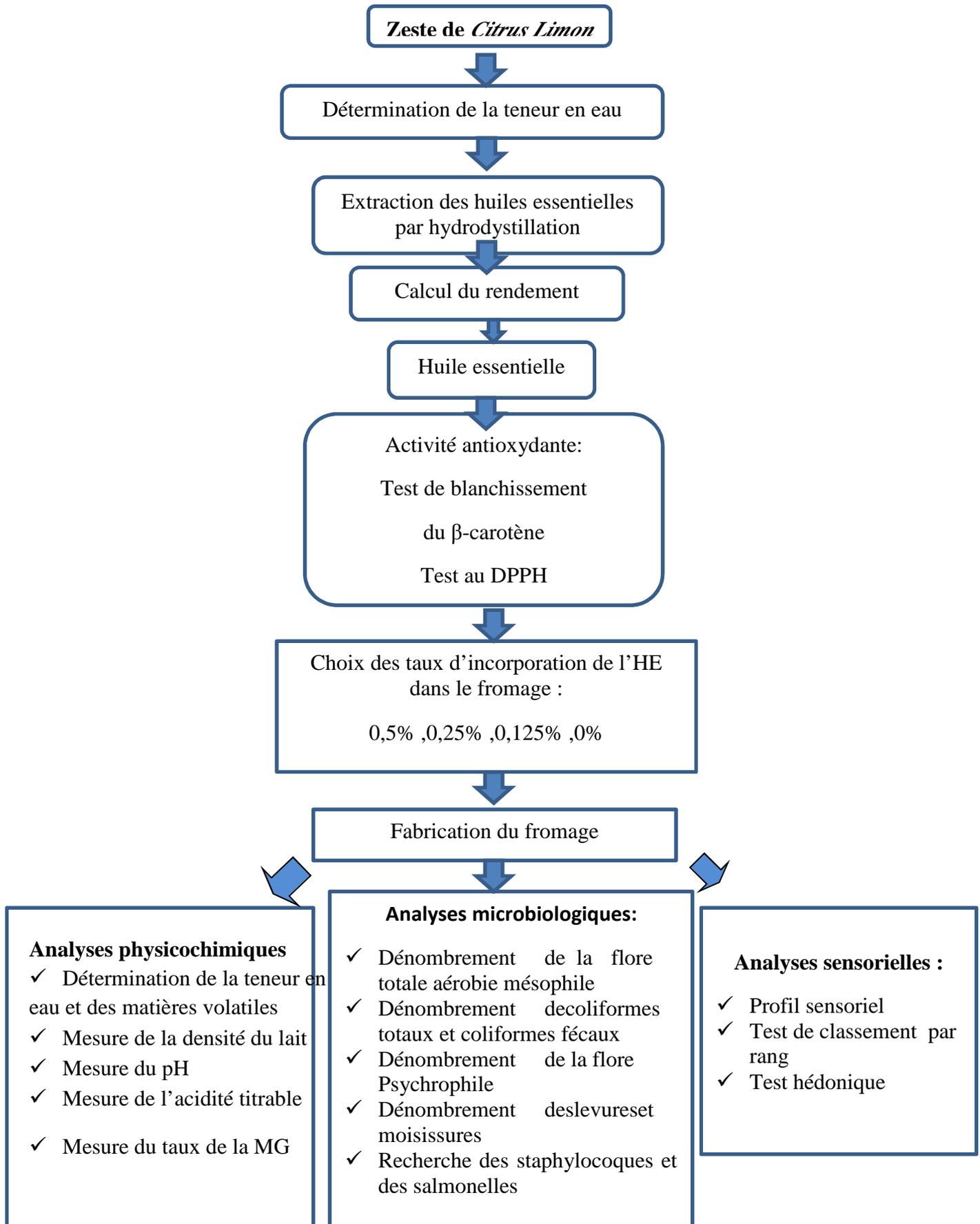


Figure 13: Organigramme de la méthodologie d'étude.

## 1. Extraction des huiles essentielles

### 1.1 Matériel végétal

Le présent travail est focalisé sur la partie écorce (zeste) du *Citrus limon*, connue par sa richesse en huiles essentielles par rapport aux autres parties du fruit (**Robert et Lobstein, 2005**). Le citron a été acheté du marché local de la ville de Tebessa, au mois de février 2020. Nous avons veillé à acheter le citron chez le même commerçant pour avoir la même variété. Avant l'utilisation du fruit, il doit subir un lavage par l'eau pour éliminer les souillures et les tâches noires qui se trouvent à la surface du fruit, puis un essuyage par un chiffon propre. Les caractéristiques déterminées sur le fruit récolté sont la couleur, la forme qui sont déterminées par une analyse visuelle à l'oeil nu, le poids du fruit entier ainsi celui de zeste par une balance analytique.

### 1.2 Extraction de l'huile essentielle du *Citrus limon*

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (**Benchekroune et al. 2012**).

Environ 100 g de zeste de citron obtenu ont été mélangés avec 666 ml d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon à trois cols ou fiole d'un litre d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité (**Benchekroune et al 2012 ; Mohammedi, 2006**). L'extraction a duré 3 heures. L'huile obtenue est ensuite conservée dans un réfrigérateur à une température de 4°C, dans des flacons en verre emballés avec du papier aluminium en vue de l'étude de son activité biologique et de son incorporation dans le fromage frais.

### 1.3 Rendement d'extraction

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \frac{M1}{M2} \times 100$$

Où :

**RHE** : rendement en huile essentielle;

**M1** : masse de l'huile essentielle obtenue en g;

**M2** : masse du zeste utilisé en g.

#### **1.4 Détermination de la teneur en eau**

Taux d'humidité (teneur en eau)

##### **Définition**

On entend conventionnellement par la teneur en eau la perte de masse, exprimée en pourcentage.

Cette détermination est effectuée selon la norme **NF V03-707**.

##### **Principe**

Un étuvage des échantillons des semoules est réalisé à la pression atmosphérique dans une étuve réglée à 130- 133 °C pendant 2h. La perte de masse est la quantité d'eau présente dans l'échantillon de zeste de *Citrus Limon* exprimée en pourcentage.

##### **Mode opératoire**

- Peser 5 grammes à 0.01 % près de semoule.
- Peser le creuset vide.
- Mettre 5 grammes dans le creuset.
- par la suite, les mettre dans l'étuve réglée à 130- 133 °C pendant 2h.
- Manipuler les creusets avec une pince.

##### **Expression des résultats**

Le pourcentage d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H (\%) = (M0 - M1 / M0) \times 100$$

Où

H : taux d'humidité.

M0 : masse en gramme de la prise d'essai.

M1 : masse en gramme de la prise d'essai après séchage.

#### **1.5 Détermination du taux de cendres**

Les cendres du lait sont le produit résultant de l'incinération d'une prise d'essai (5 ml pour le lait et 4 g pour le fromage) dans un four à moufle réglé à  $530 \pm 20$  °C durant 4 heures (AFNOR, 1980).

Le résultat obtenu correspond à la teneur en cendres exprimée en g/l :

$$(M1 - M_0) \times 100 / V$$

La teneur en cendres exprimée en pourcent de masse sont égales à :

$$(M1 - M_0) \times 100 / E$$

Dont :

M<sub>0</sub> : Masse en grammes de la capsule vide.

M<sub>1</sub> : Masse en gramme de la capsule + les cendres.

V : Volume en millilitre de la prise d'essai.

E : Masse en grammes de la prise d'essai de lait, du fromage ou du Zest de citron.

## 2. Evaluation de l'activité antioxydante

### 2.1 Test de blanchissement du $\beta$ -carotène

Le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène est réalisé en suivant la méthode décrite par Mayachiew et Devahastin (2008) où 2 mg de  $\beta$ -carotène ont été dissous dans 20 ml de chloroforme. Un volume de 3ml de la solution obtenue a été introduit dans un ballon contenant 40 mg d'acide linoléique et 400 mg de Tween 20 (on peut le remplacer par le Tween 40). Après évaporation du chloroforme par le rotavapeur à 50°C pendant 5 min, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène (l'eau oxygénée) ont été ajoutés avec agitation. De cette nouvelle solution, 3 ml sont mélangés avec 120 $\mu$ l de la solution d'huile essentielle de *Citron limon* à une concentration de 0,004g/ml d'éthanol dans un tube à essai.

Dans le contrôle positif, l'huile essentielle est remplacée par l' $\alpha$ - tocophérol (antioxydant naturel lipophile), et dans le contrôle négatif par l'éthanol. Une solution ayant la même composition de cette dernière solution, mais sans  $\beta$ -carotène et sans antioxydant (huile essentielle ou vitamine E) a été employée pour étalonner le spectrophotomètre.

Les tubes ont été placés dans un bain Marie à 50°C et l'oxydation de l'émulsion du  $\beta$ -carotène a été surveillée par spectrophotométrie à 470 nm chaque 20 min pendant 120 min.

### Expression des résultats

Le taux de blanchiment de  $\beta$ -carotène (R) a été calculé selon une cinétique de premier ordre, tel que décrit par Al-Saikhan et al., (1995):

$$R_t = [\ln (Abst_0/Abst)]/t$$

R<sub>t</sub> : le taux de blanchiment de  $\beta$ -carotène aux temps 0, 20, 40, 60, 80,100, 120 minutes ;

In : logarithme naturel ; Abst<sub>0</sub> correspond à l'absorbance initiale de l'émulsion, immédiatement après la préparation de l'échantillon (t = 0 minute) ;

Abst : l'absorbance de l'émulsion aux temps 30, 60, 90 ou 120 minutes.

Le pourcentage de l'activité antioxydante a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Activité antioxydante \%} = [(R \text{ témoin} - R \text{ échantillon}) / R \text{ témoin}] \times 100$$

R témoin et R échantillon sont des taux moyens de blanchiment de témoin et d'échantillons (extrait et standards), respectivement.

### 2.2 Test au DPPH°

Le DPPH° (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH° est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH°, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon (Gachkar et al.,2007 ; Chaabi ,2008).

Le protocole suivi est celui décrit par **Dung et al. (2008)** et **Nikhat et al. (2009)**. Dans des tubes à essai secs, une quantité de 100µl de chaque dilution d'huile essentielle (16µg/ml ;

8 µg/ml ; 4 µg/ml ; 2 µg/ml ; 1µg/ml, 0,5µg/ml) a été mélangée avec 2,9 ml de la solution éthylique au DPPH° de 0,004% (p/v). Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Dans le contrôle négatif, les différentes dilutions d'huile essentielle ont été remplacées par

100µl d'éthanol et dans le contrôle positif par des dilutions de l' $\alpha$ -tocophérol (16µg/ml ;

8 µg/ml ; 4 µg/ml ; 2µg/ml ; 1µg/ml, 0,5 µg/ml)

## Expression des résultats

Les résultats ont été exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres (DPPH°) en pourcentages (I %) a été calculée par la formule ci-dessous:

$$PR (\%) = \frac{(Ac - Ae)}{Ac} \times 100$$

**PR** : pouvoir de la réduction en % ;

**AE**: absorbance de la solution de DPPH° en présence de l'huile essentielle ou de la vitamine E ;

**AC** : absorbance de la solution de DPPH° en absence de l'huile essentielle et de la vitamine E.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle ou de la vitamine E a été exprimée par la Concentration Efficace (CE50), celle-ci est définie comme étant la concentration de l'antioxydant nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel (Nikhat *et al.*, 2009).

Les valeurs CE50 moyennes ont été calculées graphiquement à partir de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage (Brand-Williams *et al.*, 1995, Portes, 2008).

### 3. Analyse minérale végétale

#### 3.1 Minéralisation du végétal

Cette méthode de mise en solution d'éléments minéraux contenus dans un matériel végétal s'adresse à des matrices à priori pauvres en silice et dont le résidu après passage au four est très réduit. Elle n'est généralement appliquée que pour l'analyse de **P**, **K**, **Ca**, **Mg**, **Na**.

500 mg de matériel végétal préalablement séché, sont introduits dans une capsule en quartz. La capsule est placée dans un four à moufle dont la température est augmentée progressivement jusqu'à 500°C et qui est ainsi maintenue pendant 2 heures. Un pallier est effectué aux alentours de 200°C jusqu'à la fin du dégagement de fumées. Après refroidissement, les cendres sont humectées avec quelques gouttes d'eau puis on ajoute 2 ml

de HCl au ½. On évapore à sec sur plaque chauffante. Après avoir ajouté 2 ml de HCl au ½, on laisse en contact 10 minutes et on filtre dans des fioles jaugées de 50 ml.

Après avoir ajusté au trait de jauge puis homogénéisé par agitation manuelle, les solutions sont transvasées dans des godets préalablement rincés avec la solution et sur lequel le numéro de l'échantillon est inscrit (CIRAD, 2004).

### 3.2 Dosage de Na et K

Après la réalisation des courbes d'étalonnage pour chaque éléments, on procède au dosage du Na et K, réalisé sur filtrat, par une lecture directe au moyen d'un photomètre à flamme (CERAD, 2004).

## 4. Incorporation de l'huile essentielle au Djben

L'ajout de l'huile essentielle est effectué au niveau du laboratoire de contrôle de qualité alimentaire dans des conditions stériles immédiatement après l'égouttage du Djben. Les huiles essentielles ont été incorporées au Djben à différentes concentrations par pulvérisation. Le conditionnement sera réalisé manuellement dans des portes mangés stériles emballés avec du papier aluminium et stockés à 4°C.

### 4.1 Fabrication du Djben (Fromage)

Le procédé de fabrication utilisée découle d'un protocole établi par RAMET (1993) pour les fromages frais à partir du lait de dromadaire avec quelques modifications des paramètres d'emprésurage tels que le pH et la température.

Le lait destiné à la fabrication du fromage est un lait cru et réfrigéré pendant 2 ou 3 jours. les échantillons du lait sont ensuite mis dans des erlenmeyer à 2000 ml ; après l'abaissement du PH par acide acétique (1N) à une valeur de 5,8 on ajoute 10 g de (CaCL<sub>2</sub>) et 900 µL présure (1.5 g /100ml) et on laisse coaguler à une température de 42 °C pendant 8h ; Dès la séparation de deux phases du lait (lactosérum et caillée) on verse le mélange sur un tissu filtrant pour faciliter l'égouttage. Le dispositif est mis dans le réfrigérateur durant une nuit.

Les caillé est pesé pour servir au calcul du rendement selon l'équation suivant :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Poids du caillé}}{\text{poids du lait}} \times 100$$

## 4.2 Analyses physicochimiques

Les analyses physico-chimiques (pH et acidité titrable) et microbiologiques sont effectuées pendant le premier jour (J0), le troisième (J0+3), le quatrième (J0+4) et le septième jour (J0+7). Les analyses microbiologiques, réalisées à chaque fois avec six dilutions (selon la disponibilité) à partir de la solution mère, ont porté sur l'évaluation de quatre groupes de micro-organismes : les halophiles, les entérobactéries totales, les entérobactéries pathogènes et enfin, les coliformes.

### 4.2.1 Mesure de pH et de la conductivité du lait

La valeur de pH a une importance exceptionnelle sur l'état de fraîcheur du produit ou sur sa stabilité (MATHIEU, 1998). Dès l'arrivée des échantillons de lait cru et du fromage au laboratoire, le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre type Consort selon la méthode électrométrique (AFNOR, 1980).

#### 1-Appareillage et réactifs :

- 100 ml de lait de chamelle cru.
- PH- mètre.
- bécher de 150 ml.

#### 2-Mode opératoire :

- Introduction de l'électrode du pH-mètre préalablement étalonné dans un bécher contenant 100 ml de lait de chamelle à 25°C.
- La valeur affichée sur l'écran de l'appareil correspond au PH.
- La conductivité est mesurée avec le même appareil

### 4.2.2 Acidité titrable du lait

#### 1-Réactifs :

- 10 ml de lait de chamelle cru.
- 2 à 3 gouttes de phénophtaléine à 1%.
- solution de (NaOH , N/9).

#### 2-Appareillage :

- Burette de 25ml
- Pipettes de 10 ml et de 1 ml.
- Bécher de 50 ml.

**3-Mode opératoire :**

- Dans un bécher de 50 ml, introduire.
- 10 ml de lait.
- y ajouter 2 à 3 gouttes de phénophtaléine à 1%.
- titrer avec une solution sodique (NaOH, N/9) à l'aide d'une burette jusqu'au virage au rose pâle.
- lire le volume sur la burette (en millilitre de NaOH titré).

La valeur en acidité titrable exprimée en degré Dornic (°D), est donnée par l'expression suivante :  $1^{\circ}\text{D} = 0,1 \text{ ml de NaOH à N/9}$

**4.2.3 pH et acidité titrable du fromage**

5g de fromage et 30 ml d'eau distillée récemment bouillie et refroidie à 20°C ont été introduits dans une fiole conique, le mélange a été bien agité puis laissé au repos pendant 20min. Le pH a été déterminé en utilisant un pH-mètre. Pour la détermination de l'acidité 10ml du produit était prélevé, ajouter de 0.1ml de phénolphtaléine puis titrer avec du NaOH N/9 jusqu'à apparition d'une couleur rose pâle persistante (Amariglio, 1986).

**4.2.4 Détermination de l'extrait sec**

Le principe de la méthode utilisée consiste en une dessiccation par évaporation à l'étuve (103 ± 2°C) pendant 3 heures d'une prise d'essai de lait cru et de Djben (AFNOR, 1980), suivie d'une pesée du résidu sec total après refroidissement dans un dessiccateur.

**> Expression des résultats**

Après pesée, le taux de l'extrait sec exprime en pourcentage a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Extrait sec \%} = \frac{\text{Poids (capsule+ extrait sec)} - \text{poids capsule vide}}{\text{Prise d'Essai}} \times 100$$

### 4.3 Analyses biochimiques

#### 4.3.1 Détermination de la teneur en matière grasse dans le lait (La méthode de Rose de Gothlieb)

La méthode de **Rose-Gottlieb (Norme AFNOR, NFV04-346)** a été utilisée pour déterminer la teneur en matière grasse dans le lait de chamelle. L'hydrolyse des lipides est effectuée en présence d'ammoniaque (25%) pendant 15 min à 60-70°C. Ils sont ensuite extraites par un mélange d'oxyde di-éthylique et d'éther de pétrole (1:1, vlv) après ajout d'éthanol à l'hydrolysate.

Après séparation des deux phases, la phase supérieure est récupérée et filtrée sur 1 g d'hydrogénéosulfate de sodium. Le filtrat est ensuite recueilli dans une capsule préalablement tarée et mise à évaporer sous la hotte.

La phase aqueuse inférieure peut encore contenir des lipides ce qui nécessite une deuxième extraction qui sera réalisée de la même manière que la première.

Expression des résultats

$$MG (g/l) = \frac{M1 - M2}{V}$$

M1 = la masse du récipient après évaporation

M2 = la masse de récipient vide

#### 4.3.2 Détermination de la teneur en matière grasse dans le fromage

##### 1. Principe de la méthode

Le fromage est attaqué au bain-marie bouillant par une solution d'acide chlorhydrique, en vue de dégrader la caséine qui, transformée en peptides et acides aminés, passe en solution (ou pseudosolution); la matière grasse est quantitativement déplacée, puis séparée de la solution chlorhydrique par filtration, elle est dissoute dans un solvant et pesée après évaporation totale de celui-ci.

##### 2. Réactifs

2.1. Acide chlorhydrique  $d = 1,125$ , préparé en mélangeant 2 volumes d'acide chlorhydrique  $d = 1,19$  avec un volume d'eau distillée.

2.2. Ether éthylique exempt de peroxydes.

##### 3. Mode opératoire

###### 3.1 Attaque

Peser exactement, environ 2 g de fromage dans un Erlenmeyer; soit Pg.

Ajouter 30 ml d'acide chlorhydrique (2.1) ; placer sur le goulot de l'erlenmeyer un petit entonnoir.

Mettre l'Erlenmeyer sur le bain-marie bouillant jusqu'à dissolution complète du fromage, ce qui demande 20 à 30 minutes.

### 3.2 Filtration

Utiliser pour la filtration un double filtre plat; (un filtre à filtration rapide et un filtre à filtration moyenne, marque Durieux, conviennent bien).

- Filtrer la solution chlorhydrique que l'on a préalablement additionnée de 10 ml d'eau chaude.
- Rincer soigneusement la fiole 6 à 7 fois à l'eau bouillante avec un jet de pissette,
- Laver le filtre à l'eau bouillante jusqu'à élimination totale des chlorures dans les eaux de lavage.
- Laisser égoutter et sécher le filtre à l'air libre durant 15 à 16 heures, à une température comprise entre 20 et 28°C.

Une fois séché, le papier filtre est introduit dans une cartouche soumise à l'extracteur (**Soxhlet**). La matière grasse est ainsi extraite par reflux à l'aide d'un solvant : l'hexane. (**Abakar, 2012**).

Utiliser 150 à 200 ml d'hexane ou éther de pétrole pour l'extraction

La teneur en matière grasse du fromage est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Matière grasse (\%)} = \frac{\text{Poids du ballon après extraction} - \text{poids du ballon vide}}{\text{prise d'essai}}$$

### 4.3.3 Détermination la teneur en azote d'après KJALDAH

L'échantillon est désagrégé avec de l'acide sulfurique concentrée et de sulfate de potassium en présence du catalyseur (sulfate de cuivre). Pour ce faire, l'azote lié aux composés organique est transféré au composée inorganique (sulfate d'ammonium). La cuisson avec la lessive de soude permet de libérer l'ammoniac du sulfate d'ammonium. Cette opération est réalisée avec de la vapeur d'eau à l'aide d'un dispositif de distillation. Il en

résulte une solution d'eau ammoniacale, qui introduite dans une quantité bien précise de solution d'acide borique. Ensuite, un titrage acidimétrique permet de définir la quantité d'acide borique lié et enfin le taux d'azote (Schafer, 2009).

#### **A. lait :**

##### **\* dosage de l'azote total :**

Le dosage est effectué sur 5 ml de lait.

#### **B. fromage :**

##### **\* Remise en suspension du fromage :**

- prendre 5 g de fromage pesés au mg près ;
- broyer à l'aide d'un mortier et mélanger pour rendre le produit homogène ;
- disperser l'homogénéisé dans une solution de citrate sodique (0,5 M) dans un mixeur pendant 8 minutes ;
- transvaser sans pertes dans une fiole jaugée de 100 ml en rinçant les parois du mixeur ;
- amener le volume à 100 ml avec la solution de citrate de sodium ;

##### **\* Mode opératoire :**

###### **a : Minéralisation :**

- introduire dans un ballon **Kjeldhal** ou **matras** :
  - . la prise d'essai (mélanger 10 g de sulfate de cuivre cristallisé et 100 g de sulfate de potassium) ;
  - . 15 à 17 ml d'acide sulfurique concentré ; - agiter et placer les matras sur le dispositif de chauffage sous une hotte d'absorption des vapeurs.
- augmenter le chauffage jusqu'à douce ébullition du mélange acide ;
- prolonger le chauffage 30 minutes après décoloration du mélange acide ;
- laisser refroidir et boucher pour éviter tout contact avec les vapeurs ammoniacales présentes dans le laboratoire.

###### **B : distillation :**

- addition de 30 à 50 ml d'eau distillée tout en rinçant les matras,
- alcaliniser le contenu du matras avec 55 à 65 ml de soude concentrée (20 à 30 ml pour le fromage) et adapter aussitôt à l'appareil de distillation,
- l'allonge du réfrigérant est ajustée de façon à ce qu'elle plonge au fond d'un bûcher dans lequel sont introduits 10 ml de solution d'acide borique avec un indicateur coloré,
- l'entraînement de l'ammoniac commence presque aussitôt et se fait très rapidement et l'indicateur contenu dans le bûcher vire à sa teinte alcaline,

- titrer avec de l'acide sulfurique 0,1 N jusqu'à virage de l'indicateur à sa teinte acide.

#### 4.3.4 Détermination de la teneur en protéines (méthode de LOWRY *et al*1951)

##### Réactifs pour le dosage des protéines:

###### \* solution alcaline A :

- soude 0,1 N (2g /500ml) -----500 ml

- carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-----10 g

###### \* solution cuivrique B :

- sulfate de cuivre (0,32 g/100ml) -----2 ml

- tartrate de Na et K (1g/100 ml) -----2ml

###### \* solution C :

- solution A -----50 ml

- solution B -----1ml

##### Solution mère de BSA :

BSA.....10 mg

eau distillée.....100 ml

\* **Mode opératoire** : 1 ml d'échantillon contenant au maximum 100g de protéines et au minimum 25g,

- ajouter 5ml de solution C, mélanger ;

- laisser au repos 10 minutes à T° ambiante ;

- ajouter 0,5ml de réactif de folin Ciocalteu ;

- laisser 30 minutes à l'obscurité et lire la D.O à 750 nm au spectrophotomètre U.V visible contre un blanc.

\* **Gamme étalon** : on utilise la BSA pour la courbe d'étalonnage  $DO=f(c)$

Concentration en BSA (µg/ml)	0	25	50	75	90	100
Solution mère de BSA (µl)	0	250	500	750	900	1000
Eau distillée (µl)	1000	750	500	250	100	0

### Expression des résultats

Une courbe étalon ou standard est tracée en portant sur l'axe des abscisses, les concentrations en BSA des dilutions (gamme étalon) préalablement préparées et sur l'axe des ordonnées, les DO mesurées respectivement pour chaque dilution.

La concentration de la protéine inconnue X est déterminée en portant la valeur de la DO correspondante sur l'axe des ordonnées qui est ensuite projetée sur l'axe des abscisses.

### Courbe DO = f (c)

## 4.4 Analyses microbiologiques

Selon l'arrêté interministériel du 27/05/1998, les germes recherchés et dénombrés dans le fromage frais sont : la flore totale aérobie mésophile (FTAM) à 30°C ; les Coliformes totaux ; les Coliformes fécaux ; les Salmonelles ; *Staphylococcus aureus*; les Levures et les moisissures .

Le prélèvement du *Djben* est effectué à l'aide d'un couteau stérile. Il est réalisé par découpage d'un secteur d'environ 5 à 10g.

La solution mère est obtenue en mélangeant dans un mortier 10 g de l'échantillon avec 90 ml d'eau physiologique. Après homogénéisation, le mélange est laissé au repos pendant une vingtaine de minutes pour la revivification des micro-organismes. Par la suite, des dilutions successives sont effectuées jusqu'à  $10^{-4}$ .

### 4.4.1 Les FTAM

La flore mésophile aérobie totale (FMAT), bon indicateur de contamination, est dénombrée sur gélose PCA incubée pendant 48 h à 72 h à 37°C (AFNOR, 2003).

### 4.4.2 Les coliformes

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

La lecture et le dénombrement se font après 24 h à 48 h d'incubation à 37 C° pour les coliformes totaux et à 44 C° pour les coliformes fécaux. Les colonies sont rouges foncé ou violettes (AFNOR, 1996).

#### 4.4.3 Les Staphylocoques

Les staphylocoques sont dénombrés sur la gélose de Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium et incubée 48 heures à 37°C. Les colonies caractéristiques sont noires ou grises brillantes de 1 à 2 mm de diamètre et entourées d'un halo opaque plus ou moins clair (AFNOR, 1994).

#### 4.4.4 Les Salmonelles

La recherche des salmonelles se fait en suivant trois étapes qui sont : le pré-enrichissement, l'enrichissement et l'isolement sur un milieu sélectif.

##### - Pré-enrichissement

Il s'effectue en bouillon nutritif, l'intérêt de cette étape pour la plupart des produits analysés, est la récupération des bactéries stressées. Environ 1ml de la suspension mère à analyser est introduit dans un tube contenant 10 ml d'eau péptonée tamponnée. La préparation est homogénéisée puis incubée à 37°C pendant 24 heures.

##### -Enrichissement

Un volume de 1ml de la solution de pré-enrichissement a été introduit dans des tubes à essai contenant 10 ml de bouillon de sélénite cystéine. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures

##### - Isolement sur gélose *Salmonelle- Schigella* milieu (SS)

Un volume de 0,1ml du contenant des tubes positifs a été ensemencé à la surface des boîtes de pétri préalablement coulées par le milieu SS. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures.

##### Lecture

Les salmonelles se présentent sous formes des colonies translucides avec un centre noir (NF En ISO 6579).

#### 4.4.5 Levures et Moisissures

La gélose Extrait de Malte ou gélose Sabouraud préalablement fondue et refroidie a été répartie dans des boîtes de pétri vides. Après solidification, 0,1ml de chaque dilution a été ensemencé en surface. L'incubation a été faite à une température de 25°C pendant 3 à 5 jours. La lecture et le dénombrement seront réalisés tous les jours, levures à part et moisissures à part pour suivre le développement et éviter l'envahissement. Une boîte du milieu utilisé a été

incubée telle quelle, dans le même endroit et dans les mêmes conditions de température, elle constitue le témoin du milieu (NF V 08-059).

#### **4.5 Analyses sensorielles**

Généralement les tests utilisés pour l'analyse sensorielle des produits alimentaires sont : l'étude de la différence, du classement par rang de l'intensité, de l'attribution des cotes d'intensité et les analyses descriptives (watts *et al.*, 1991). Les tests appliqués que nous utiliserons sur nos produits sont le test de classement par rang, le test hédonique et le profil sensoriel.

##### **4.5.1 Test Panel**

Le panel sera constitué de 10 à 12 sujets de sexes masculin et féminin composé d'enseignants, étudiants en graduation et en post-graduation du département de biologie appliquée.

Nous leur expliquerons la façon dont les bulletins seront remplis, en se servant de bulletins agrandis projetés sur un écran (Data show) . Nous avons utilisé d'autres aliments que celui qui sera pour réduire la confusion et rendre la tâche plus facile aux dégustateurs.

Il faut recommander aux dégustateurs d'éviter l'utilisation de produits à l'odeur prononcée, comme les savons, les lotions et les parfums avant de participer à un panel et d'éviter de manger, de boire ou de fumer au moins 30 minutes avant de procéder aux essais. Il faut écarter les sujets malades ou qui ont un problème au niveau d'un organe sensoriel (Olfactif, odorat, gustatif, toucher ou visuel).

##### **4.5.2 Test de classement par rang**

Ce test a pour objectif de déterminer la mesure dans laquelle le consommateur accepte un produit. On peut se servir des échelles de catégories, des tests de classement par rang et des tests de comparaison par paires pour évaluer l'acceptation d'un produit. L'acceptation d'un produit alimentaire indique en général la consommation réelle de ce produit (achat et consommation).

**Description de la tâche des dégustateurs:**

On demande aux dégustateurs de classer par rang des échantillons codés en fonction de l'acceptation en allant du moins acceptable au plus acceptable. Les égalités ne sont pas permises.

On présente trois échantillons ou plus dans des contenants identiques, codés avec des numéros aléatoires à 3 chiffres. Chaque échantillon a un numéro distinct. Tous les échantillons sont présentés simultanément à chaque dégustateur dans un ordre prévu à l'avance ou au hasard, et ils ont droit de goûter plusieurs fois les échantillons. La Figure ci-dessous donne un exemple du bulletin à remplir pour le classement par rang de l'acceptation (**Watts et al., 1991**)

FICHE DE TEST DE CLASSEMENT	
NOM :.....	N°Dégustateur :
PRENOM :.....	
-Veuillez classer les cinq échantillons par ordre de préférence	
	DATE :.....
Code	Classement
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....

**Figure 14** : le classement par rang de l'acceptation (**Watts et al., 1991**)

**Analyse des données**

Afin d'analyser les données, les classements attribués à chaque échantillon ont été totalisés.

La

détermination de la signification des différences a été procédée en comparant les totaux des classements pour toutes les paires possibles des échantillons en se servant du test de Friedman. Les différences entre toutes les paires possibles des classements totalisés sont comparées à la valeur critique du tableau donné dans l'annexe 5, pour un niveau de signification de 5 %.

Si la différence entre les paires des totaux des classements est plus importante que la valeur critique calculée, les paires d'échantillons sont sensiblement différentes au niveau de signification choisi ((Watts et al., 1991).

#### 4.5.3 Test hédonique

Ce test est utilisé pour évaluer d'une façon générale le degré d'appréciation des échantillons de crème fraîche en réalisant des profils sensoriels pour chaque produit. Demander aux dégustateurs d'évaluer des échantillons codés de plusieurs produits en indiquant leur degré d'appréciation sur une échelle à 9 niveaux, afin de réaliser des profils sensoriels. Les cinq fromages élaborées seront présentés simultanément dans des assiettes identiques codés. Il est demandé aux dégustateurs de remplir les bulletins (Tableau x) en se basant sur l'analyse de l'odeur, du goût et de l'arôme des produits (Watts et al., 1991).

#### Analyse des données:

Afin d'analyser les données, les catégories sont converties en notations numériques allant de 1 à 9, où 1 correspond à «n'aime pas du tout» et 9 «aime beaucoup». Les notations de chaque échantillon sont présentées sous forme de tableaux et analysées au moyen de l'Analyse de variance (ANOVA) pour déterminer s'il y a des différences significatives dans le degré d'appréciation moyen entre les échantillons. La variance des moyennes entre les échantillons est comparée à celle au sein de l'échantillon (ainsi appelée l'erreur expérimentale aléatoire). Si les échantillons ne sont pas différents, la variance des moyennes entre les échantillons sera comparable à l'erreur expérimentale.

**Tableau 12:** Bulletin de réponse pour le test hédonique (Watts et al., 1991).

<b>Nom</b>		<b>Date.....</b>			
<b>Prénom</b>					
Veuillez examiner et goûter chaque échantillon de fromage dans l'ordre de gauche à droite, tel qu'indiqué sur le bulletin. Indiquez dans quelle mesure vous avez aimé ou pas aimé chaque échantillon en cochant la mention appropriée en dessous du numéro de code de chaque échantillon.					
	<b>Code.....</b>	<b>Code.....</b>	<b>Code.....</b>	<b>Code.....</b>	<b>Code.....</b>
Aimé Enormément					
Aimé Beaucoup					
Aimé Modérément					
Aimé Un Peu					

---

Indifférent					
Pas Aimé					
Pas Aimé Beaucoup					
Pas Aimé Du Tout					
Détesté					

Score le plus élevé = 9 = aime énormément. Score le moins élevé = 1 = déteste.

### **Analyses statistiques**

La saisie et le traitement des données ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel version 2007 et MINITAB version 13.

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\neq$  écart type lorsqu'il s'agit de variables quantitatives (Concentration, ...). La comparaison entre 2 moyennes est réalisée par le test de (Student). Le test de l'ANOVA est utilisé pour comparer entre 3 moyennes ou plus. Le seuil de significativité est fixé à 0.05.

***Résultats et***  
***discussion***

## 1. Extraction des huiles essentielles

### 1.1. Caractéristiques du fruit du citron utilisé

Le fruit utilisé dans cette étude est de couleur jaune, de forme ovale avec un appendice au pédoncule (annexe 06) et de poids moyen de  $137,48 \pm 27,99$  g. Le zest a une épaisseur de 2 mm et représente un pourcentage pondéral de  $25,08\% \pm 4,88\%$ . Son taux d'humidité est de l'ordre de  $76,9 \pm 4,58\%$  (Tableau 13). Le poids moyen et le taux d'humidité trouvés dans cette étude, sont inférieurs à ceux trouvés par (Khehal, 2013). L'origine et le lieu d'achat ou de la récolte sont des facteurs qui jouent un rôle très important sur les caractéristiques physico chimiques du fruit. Le citron utilisé dans cette étude a été acheté chez un marchand de fruit et légume par contre celui utilisé dans l'étude de Khehal a été acheté directement chez un verger c'est ce qui explique cette différence. Le pourcentage pondéral du zest trouvé dans cette étude est supérieur à celui trouvé par l'auteur cité ci-dessus. Cette différence est peut être due à la méthode de récupération du matériel végétal (zest) ou bien à la nature du fruit lui-même qui contient plus de zest.

### 1.2. Rendement d'extraction

Nous avons obtenu une huile de couleur jaune très clair presque blanche avec une odeur aromatique du citron. Le rendement moyen en huile essentielle obtenu par hydrodistillation est de l'ordre de  $1,92 \pm 0,31\%$  (Tableau 13). Ce rendement est supérieur aux rendements obtenus par Blanco Tirado *et al.* (1995), Hellal (2011) et Khehal, 2013 qui valent respectivement 0,19%, 0,70 % et 0,89, mais il est inférieur aux rendements obtenus par Himed (2011) qui est de l'ordre de 2,18%. Cette différence pourrait s'expliquer par l'effet variétal, la période de récolte, les conditions environnementales, le lieu d'achat (le climat, la zone géographique, le degré de fraîcheur), la méthode d'extraction employée et le temps d'entreposage. Sans oublier la période de l'extraction. Bourgou *et al.* (2012) ont constaté que le rendement en HE du citron augmente au début puis diminue vers la fin de la maturation.

La région géographique peut aussi avoir un impact sur le rendement en HE. Nous rappelons que nous ignorons la région de récolte du citron utilisé dans cette étude la région de Jijel, celui de Khehal, 2013 de la région de Jijel, celui de Himed (2011) de la région de Constantine et celui de Bourgou *et al.* (2012) de la région de Menzel Bouzelfa (Tunisie).

Le taux d'humidité peut avoir une influence sur le rendement d'extraction des huiles essentielles, sachant que le fruit du citron utilisé dans cette étude a un taux d'humidité de  $76,9 \pm 4,58\%$ , ce qui a donné un rendement supérieur à celui **Khehal, 2013** qui a trouvé un taux d'humidité égale à  $87,67 \pm 1,15\%$ . Certains auteurs ont montré que lorsque la teneur en eau diminue la concentration en huile essentielles augmente (**Bourkhiss et al., 2009**).

### 1. 3. Taux de cendres

Le taux de cendres moyen en huile essentielle obtenu par hydrodistillation est de l'ordre de  $0,62 \pm 0,04\%$ .

**Tableau 13** : Caractéristiques physico chimiques (M±ET)

Caractéristiques physico chimiques (M±ET)	
Poids moyen du fruit (Citron) (g)	$137,48 \pm 27,99$
Pourcentage pondéral moyen (%)	$25,08\% \pm 4,88$
Humidité (%)	$76,9 \pm 4,58$
Taux de cendre (%)	$0,62 \pm 0,04$
Rendement d'extraction (RH%)	$1,92 \pm 0,31\%$

## 2. Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles du *Citrus limon*

### 2.1. Evaluation de l'activité antioxydante

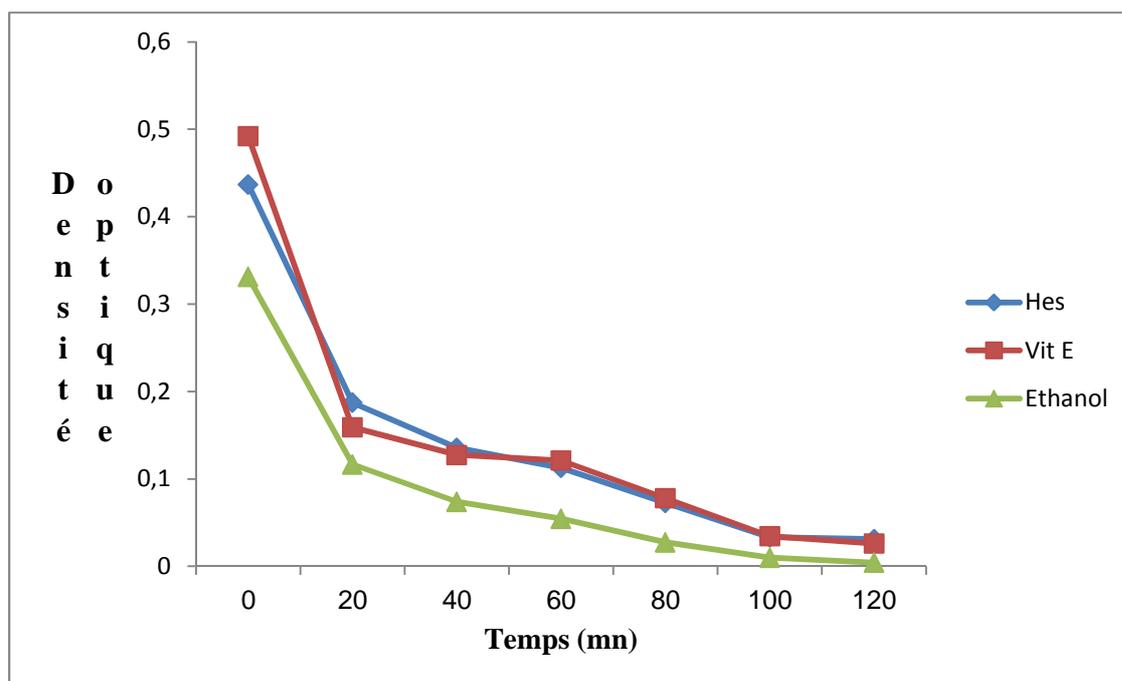
#### 2.1.1. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène

La technique de décoloration du  $\beta$ -carotène/acide linoléique permet d'évaluer l'activité antioxydante par inhibition de la peroxydation des lipides. Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes qui vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène hautement insaturé, entraînant ainsi la disparition de sa couleur orange. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation du  $\beta$ - carotène.

Nos résultats ont montré que l'HE ainsi que le  $\beta$ -carotène présentent une activité antioxydante par comparaison au contrôle négatif (éthanol). Le changement des valeurs de l'absorbance du  $\beta$ carotène, à différents intervalles de temps, a montré que l'HE du citron semble être proche dans l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par rapport à celle de la vitamine E. En parallèle, l'intensité de la décoloration ne montre pas de différence entre le

$\beta$ carotène et la vit E Figure 14 et 15 . Ce résultat ne corrobore pas avec celui trouvé par **Khehal 2013**) qui a montré que l'HE du citron semble être le meilleur inhibiteur de l'oxydation de l'acide linoléique par rapport à la vitamine E.

Dans ce test nous avons mesuré la décoloration du  $\beta$ -carotène qui résulte de sa dégradation oxydative par les produits de décomposition de l'acide linoléique (radicaux peroxydes LOO•). Dans cette étude, l'aptitude de différents échantillons à ralentir la vitesse de l'oxydation du  $\beta$ -carotène a été évaluée par mesure de la variation de l'absorbance dans le temps (Fig. 15). D'après ces données, l'HE est capable d'inhiber le blanchiment du  $\beta$ -carotène en piégeant les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique. Après 120 minutes, l'absorbance du témoin à 470 nm diminue vers une valeur plus basse, alors que cette diminution reste moins rapide dans les HE et la Vitamine E.



**Figure 15:** Cinétique de blanchiment du  $\beta$ -carotène pour l'huile essentielle de citron, la vitamine E et le contrôle négatif

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'HE de citron (à une concentration de 4000 µg/ml) inhibe d'une manière non significative ( $p = 0,583$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$  - carotène, avec une activité antioxydante de  $26,48 \pm 7,06$  %, par rapport à celle de la vitamine E qui équivaut à  $23,3 \pm 11,9$ % (Figure 16, et 17).

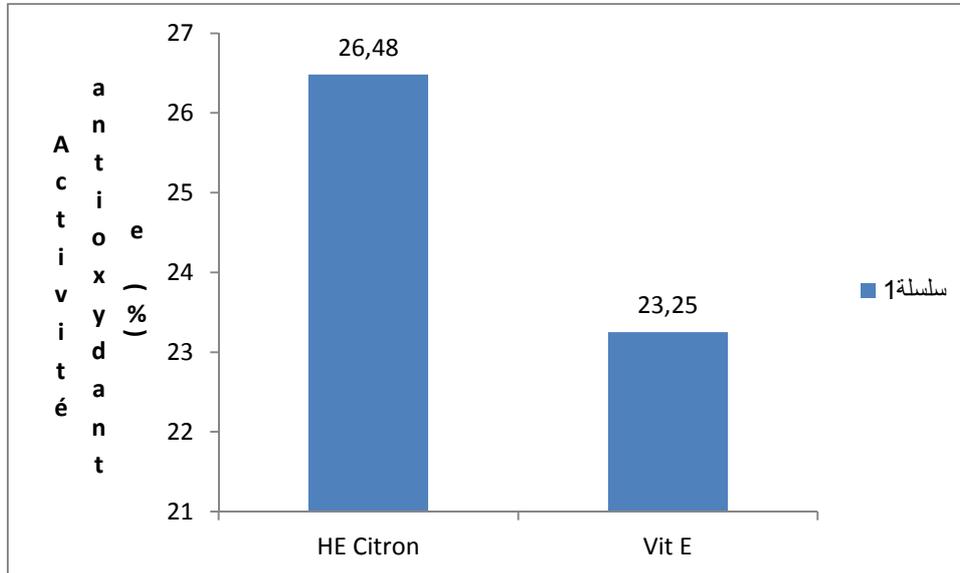


Figure 16 : Activité antioxydante de l'huile essentielle de citron et de la vitamine E à une concentration de 4000 µ g/ml

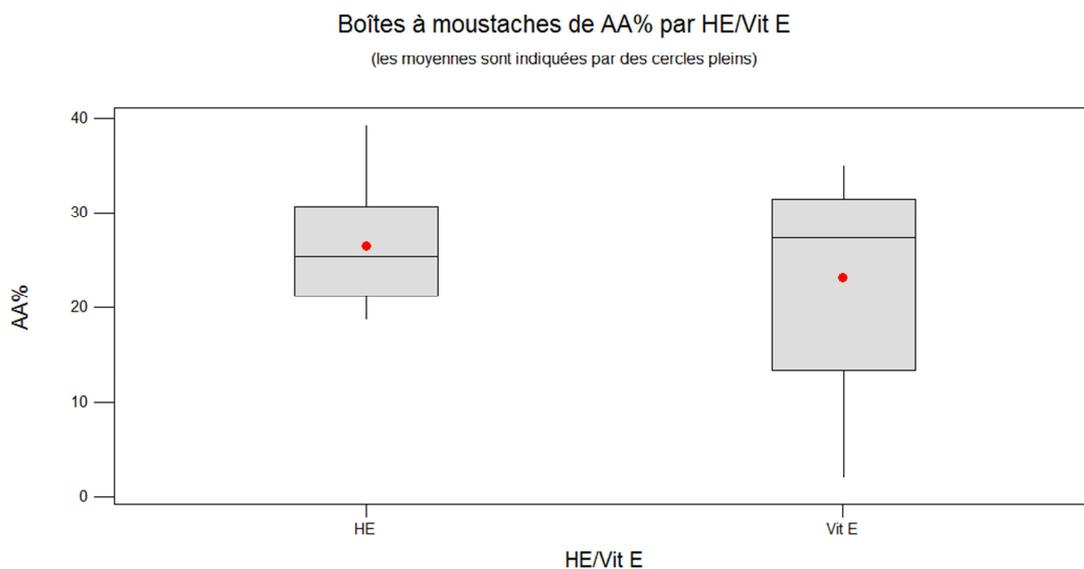


Figure 17 : Boite à moustache pour la variable activité antioxydante (AA%)

2.1.2. Test au DPPH°

Les résultats obtenus dans cette étude, exprimés en terme de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (CE<sub>50</sub>), ont montré que l'HE de citron possède un pouvoir de piégeage du radical DPPH° plus important par rapport à la vitamine E. CE<sub>50</sub> de l'HE (CE<sub>50</sub> = 8,5µg/ml) et celle de la vitamine E (CE<sub>50</sub> = 14,5 µg/ml) (**figure 16**).

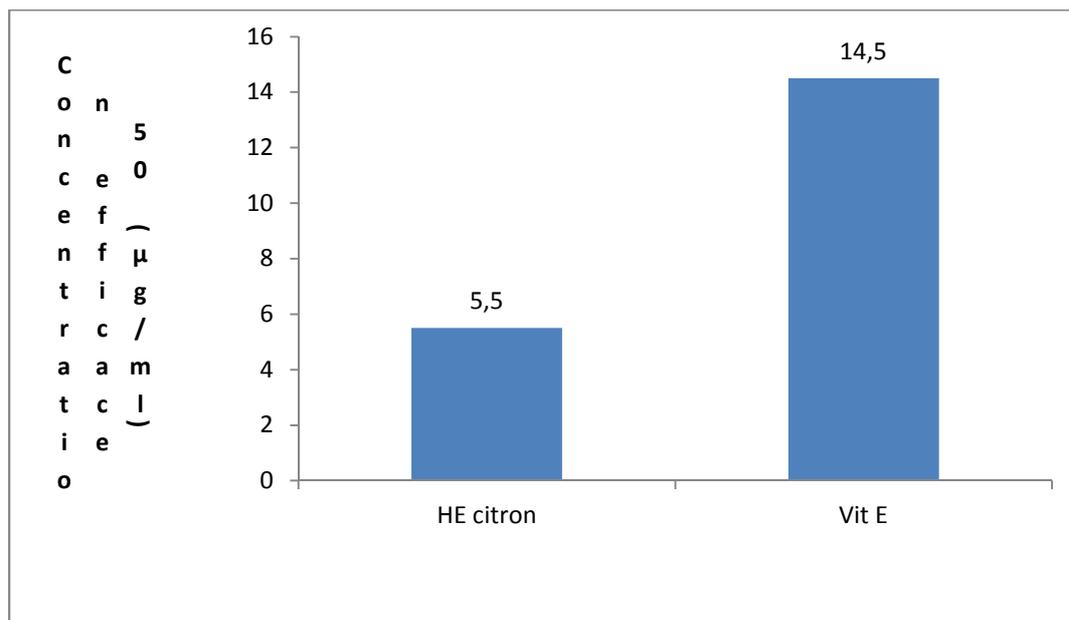


Figure 18 : Concentration efficace 50 (CE<sub>50</sub>) de l'huile essentielle de vitamine E

Les deux tests utilisés nous montrent que les HE du *Citrus Limon* est un bon donneur d'hydrogène, capable de piéger les radicaux libres (DPPH•) et les radicaux peroxydes (LOO•) résultant de l'oxydation de l'acide linoléique. Ces mêmes constatations ont été faites par (Himed et al., 2011 et Khehal, 2013 ).

# ***Conclusion***

---

Nous rappelons que les principaux objectifs visés dans ce travail étaient d'évaluer, dans un premier temps le pouvoir antioxydant des huiles essentielles extraites du *Citrus Limon* dans leur état libre. Dans un deuxième temps la valorisation des écorces du citron par l'utilisation de son huile essentielle comme agent naturel aromatique et conservateur dans le fromage Djben fabriqué à partir du lait de chamelle et dans un dernier temps l'effet de ces huiles essentielles sur les caractéristiques physicochimiques, microbiologiques et sensorielles du fromage. Pour atteindre ces objectifs, plusieurs paramètres devraient être testés notamment la variété, le mode d'extraction, le pouvoir antioxydant, la formulation de fromage, les tests physicochimiques, microbiologiques et sensorielles du fromage additionnées de l'huile essentielle du *Citrus Limon* de différentes concentration.

Au cours de cette étude, les seules conclusions aux quelles nous avons pu aboutir sont les suivantes :

Le rendement moyen en huile essentielle du citron obtenu par hydrodistillation est de l'ordre de  $1,92 \pm 0,31\%$ . L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle du citron par les méthodes de réduction du DPPH° et de blanchiment du  $\beta$ -carotène, a montré que cette huile essentielle possède un pouvoir antioxydant plus élevé que celui de la vitamine E, donc son emploi dans le fromage peut constituer un moyen possible de prévention de l'oxydation. Malheureusement, la pandémie du Covid-19 a constitué une barrière très dure qui nous a empêché d'achever ce travail. La poursuite de cette étude est une étape nécessaire qui mérite d'être prise en charge dans d'autres études.

*Références*

---

*bibliographiques*

- 
- **Abu-Tarboush, H. M.** "Growth behavior of *Lactobacillus acidophilus* and biochemical characteristics and acceptability of acidophilus milk made from camel milk." *Milchwissenschaft* 49.7 (1994): 379-382.
  - **Adams, R.** "Essential oil components by Quadrupole GC/MS." *Carol Stream, IL: Allured Publishing Corp* (2001).
  - **AFNOR NF ISO 855.2004. Huile essentielle de citron [*Citrus limon (L.) Burm. f.*]; AFNOR, Paris.**
  - **AFNOR. 1980. Recueil des Normes Françaises « Lait et produits laitiers», AFNOR. Paris.**
  - **AFNOR. 1986. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.**
  - **AFNOR. 2000. Association française de normalisation. Normes françaises : huiles essentielles. AFNOR,Paris.**
  - **Al Kanhal, H. A.** (2010). Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal*, 20(12), 811-821.
  - **Al-Saikhan MS, Howard LR, Miller JC (1995)** Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum L.*). *J Food Sci* 60:341–
  - **Anema, Skelte G., and Henning Klostermeyer.** "Heat-induced, pH-dependent dissociation of casein micelles on heating reconstituted skim milk at temperatures below 100 C." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45.4 (1997): 1108-1115.
  - **Aprotosoie, Ana Clara, et al.** "The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare Mill.*)." *Farmacía* 58.1 (2010): 46-53.
  - **ATTIA, HAMADI, et al.** "Dromedary milk fat: biochemical, microscopic and rheological characteristics." *Journal of food lipids* 7.2 (2000): 95-112.
  - **Attia, Y. A., et al.** "Value of rice bran, its maximal utilisation and its upgrading by phytase and other enzymes and diet-formulation based on available amino acids in the diet for broilers." *Archiv fur Geflugelkunde* 67.4 (2003): 157-166.
  - **Avlessi, F., Woote, V. D., Ahoussi, E., Dangou, J., & SohounhlouÚ, D. C. (2003).** K. Composition chimique et activitÚs biologiques des huiles essentielles de *Lantanaá camara* Linn et d'*Eucalyptusá tereticornisá* SMá d'origine BÚninoise. *CR Acad. Sci.-J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 176-184.
  - **Bakkali, Fadil, et al.** "Biological effects of essential oils—a review." *Food and chemical toxicology* 46.2 (2008): 446-475.

- **Beg, Obaid Ullah, et al.** "Characterization of a heterogeneous camel milk whey non-casein protein." *FEBS letters* 216.2 (1987): 270-274.
- **Belletti, Nicoletta, et al.** "Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52.23 (2004): 6932-6938.
- **Benaissa M.,** 1989. Le dromadaire en Algérie. *Option méditerranéennes - série séminaire*. 2: 19-28.
- **Benedito, J., Carcel, J. A., Gonzalez, R., & Mulet, A. (2002).** Application of low intensity ultrasonics to cheese manufacturing processes. *Ultrasonics*, 40(1-8), 19-23.
- **Bessah, R., and El-Hadi Benyoussef.** "La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques." *Revue des Energies Renouvelables* 18.3 (2015): 513-528.
- **Bicchi, Carlo, et al.** "Quantitative analysis of essential oils: a complex task." *Flavour and Fragrance Journal* 23.6 (2008): 382-391.
- **Boudjenah, S. (2012).** Aptitudes à la transformation du lait de chamelle en produit divers: effet des enzymes coagulantes extraites de caillettes de dromadaires (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mameri).
- **Bourkhiss, M'barek, et al.** "Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc." *Bulletin de la Société royale des sciences de Liège* (2010).
- **Boussouar ,2017** CARACTERISATION TECHNOLOGIQUE ET SANITAIRE DESENTEROCOQUES ISOLES A PARTIR DE LAIT DE CHAMELLE DUSUD-OUEST ALGERIEN UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN
- **Bouton, Yvette, and R. Grappin.** "Comparaison de la qualité de fromages à pâte pressée cuite fabriqués à partir de lait cru ou microfiltré." *Le Lait* 75.1 (1995): 31-44.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 28, pp. 25-30
- **Bruneton, Jean.** "Pharmacognosie." *Phytochimie. Plantes médicinales, Paris, Ed. Tec-Doc* (1999).
- **Burt, Sara.** "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review." *International journal of food microbiology* 94.3 (2004): 223-253.
- **Caccioni, Duccio RL, et al.** "Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*." *International journal of food microbiology* 43.1-2 (1998): 73-79.

- **Caillet, S., and M. Lacroix.** "Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire." *INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA* (2007): 1-8.
- **Chaabi, Mehdi, et al.** "Activity-guided isolation of antioxidant principles from *Limoniastrum feei* (Girard) Batt." *Zeitschrift für Naturforschung C* 63.11-12 (2008): 801-807.
- **Chehma A.,** 2003. Productivité pastorale et productivité laitière en Algérie, in Lhoste F., Production et santé animales, lait de chamelle pour l'Afrique. FAO, Rome. 43-51.
- **Chemat, F., Fabiano-Tixier, A. S., Hellal, A., Boutekedjiret, C., & Fernandez, X. (2012).** Activités chimiques et biologiques des huiles essentielles. *La Chimie des Huiles Essentielles: Tradition et Innovation; Fernandez, X., Chemat, F., Eds, 229-232.*
- **Collomb, M., and M. Spahni.** "Review of the methods for the determination of lipid oxidation products with special reference to milk lipids." *Schweizerische Milchwirtschaftliche Forschung* 25 (1996): 3-24.
- **Croteau, Rodney.** "Site of monoterpene biosynthesis in *Majorana hortensis* leaves." *Plant physiology* 59.3 (1977): 519-520.
- **Dabbah, Roger, V. M. Edwards, and W. A. Moats.** "Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria." *Applied microbiology* 19.1 (1970): 27-31.
- **Davidson, P. M., Mahakarnchanakul, W., & Weiss, J. (2004).** Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. *Letters in Applied Microbiology*, 39(5), 401-406.
- **Décret n°2007-628 du 27 avril 2007 relatif aux fromages et spécialités fromagères. NOR: ECOC0750331D Version consolidée au 01 janvier 2014Code rural-art**
- **Directive du Conseil du 22 juin 1988 relative au rapprochement des législations des États membres dans le domaine des arômes destinés à être employés dans les denrées alimentaires et des matériaux de base pour leur production (88/388/CEE). Journal Officiel des Communautés Européennes n° L 184 du 15.7.1988, 61 p.**
- **Dung, Nguyen Thi, Jung Min Kim, and Sun Chul Kang.** "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds." *Food and chemical Toxicology* 46.12 (2008): 3632-3639.
- **Durvelle 1893** fabrication des essences et des parfums editeur j , Fritsch paris
- **Durvelle 1930** fabrication des essences et des parfums ed , desforges girardot et cie p 807

- **ECK A et GILLISJ.C. (2006).** Le fromage. 3e édition
- **El Zubeir, Ibtisam EM, and Samah O. Jabreel.** "Fresh cheese from camel milk coagulated with Camifloc." *International Journal of Dairy Technology* 61.1 (2008): 90-95.
- **El-Agamy, E. I.** "The challenge of cow milk protein allergy." *Small Ruminant Research* 68.1-2 (2007): 64-72.
- **El-Hatmi, Halima, et al.** "Characterisation of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrum." *Small Ruminant Research* 70.2-3 (2007): 267-271.
- **Farag, S.I., Kabary, K.M., 1992.** Chemical composition and physical properties of camel's milk and milk fat. In: Proc. 5th Egyptian Conf. Dairy Sci. Technol. Publ. Egyptian Society of dairy Sciences, Cairo, Egypt 325 p.
- **Farah Z., 1993.** Composition and characteristics of camel milk. *Journal Dairy Research*. 60: 603-626.
- **Farah Z., 2011.** Camel milk in Fuquay J.W., Fox P.F. and McSweeney. *Encyclopedia of dairy sciences*, 2 nd édition, San Diego: Academic Press. Elsevier. 512-517.
- **Farah Z., Rettenmaier R., Atkins D., 1992.** Vitamin content of camel milk, *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 62 (1): 30-33.
- **Farah, Z., and A. Fischer.** "An introduction to the camel." *Milk and Meat from the Camel Handbook on Products and Processing* (2004): 15-22.
- **Farah, Z., and M. R. Bachmann.** "Rennet coagulation properties of camel milk." *Milchwissenschaft* 42.11 (1987): 689-692.
- **Farah, Zakaria.** Camel milk properties and products. Swiss Centre for Development Cooperation in Technology and Management, 1996.
- **Faye, Bernard, and C. Mulato.** "Facteurs de variation des paramètres protéo-énergétiques, enzymatiques et minéraux dans le plasma chez le dromadaire de Djibouti." *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 44.3 (1991): 325-334.
- **Ferhat, M. A., Tomao, V., & Chemat, F. (2010).** Carotenoid extraction from tomato using a green solvent resulting from orange processing waste. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(2), 139-147.
- **FERNANDEZ, Xavier, and Daniel CABROL-BASS.** "Analyse des arômes." (2007).
- **Fisher, Katie, and Carol Phillips.** "Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?." *Trends in food science & technology* 19.3 (2008): 156-164.
- **Gachkar, Latif, et al.** "Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils." *Food chemistry* 102.3 (2007): 898-904.

- **Garnero, J.** "Les huiles essentielles, leurs obtentions, leurs compositions, leurs analyses et leurs normalisations." *Ed. Techniques, Encycl. Med-Nat.(Paris, France)* (1991).
- **Girardet, Jean-Michel, et al.** "Camel (*Camelus dromedarius*) milk PP3: evidence for an insertion in the amino-terminal sequence of the camel milk whey protein." *Biochemistry and cell biology* 78.1 (2000): 19-26.
- **Goetz, P.** "Citrus limon (L.) Burm. f.(Rutacées) citronnier." *Phytothérapie* 12.2 (2014): 116-121.
- **Guignard, Jean-Louis.** "Biochimie végétale." (2000).
- **Haddadin, Malik SY, Sana I. Gammoh, and Richard K. Robinson.** "Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan." *The Journal of dairy research* 75.1 (2008): 8.
- **Hailu, Yonas, et al.** "Functional and technological properties of camel milk proteins: a review." *Journal of Dairy Research* 83.4 (2016): 422-429.
- **Hammer, Katherine A., Christine F. Carson, and Thomas V. Riley.** "Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts." *Journal of applied microbiology* 86.6 (1999): 985-990.
- **HANOOU Samia** 2018 **Aptitude du lait de chamelle au développement des bactéries**
- **Hashim, I. B., A. H. Khalil, and H. Habib.** "Quality and acceptability of a set-type yogurt made from camel milk." *Journal of dairy science* 92.3 (2009): 857-862.
- **Hellal, Zohra.** *Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (Sardina pilchardus).* Diss. Université Mouloud Mammeri, 2011.
- **HIMED Louiza** Évaluation des activités biologiques des huiles essentielles du citron (*Citrus limon*) encapsulation et application comme agent conservateur à la margarine allège , I.N.A.T.A.A. UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 2018
- **Himed L. 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon*: application à la margarine. Mémoire de magistère, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires I.N.A.T.A.A. Université Mentouri – Constantine. 65 p.
- **Himed Merniz, Louiza, and Malika Barkat.** *Évaluation des activités biologiques des huiles essentielles du citron (Citrus limon).* Diss. Mantouri constantine 2018 ,.
- **Holley, Richard A., and Dhaval Patel.** "Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials." *Food microbiology* 22.4 (2005): 273-292.

- 
- **Holley, Richard A., and Dhaval Patel.** "Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials." *Food microbiology* 22.4 (2005): 273-292.
  - **Hooper, G. R. (1978).** **Zygosporangium and zygospore** formation in *Phycomyces nitens*. *Canadian Journal of Botany*, 56(1), 91-100.
  - **Ibrahim, A. H., & Khalifa, S. A. (2015).** The effects of various stabilizers on physicochemical properties of camel's milk yoghurt. *Journal of American Science*, 11(1), 15-24.
  - **Jeantet, R. (2006).** Continuous raw skim milk processing by pulsed electric field at non-lethal temperature: effect on microbial inactivation and functional properties. *Le Lait*, 86(1), 43-57.
  - **Kamal mohammed** 2016 Contribution à l'étude de la structure-texture du lait de chamelle lors de la coagulation et du traitement thermique : comparaison avec le lait de vache these UNIVERSITE D'ARTOIS
  - **Kamoun M.,** 1995. Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation In : Tisserand J.-L. Élevage et alimentation du dromadaire. Zaragoza: Ciheam, Options Méditerranéennes : Série B. Études et Recherches. 13, 81-103.
  - **KAPPELER, STEFAN, ZAKARIA FARAH, and ZDENKO PUHAN.** "Sequence analysis of *Camelus dromedarius* milk caseins." *Journal of Dairy Research* 65.2 (1998): 209-222.
  - **Kehal Farida** , Utilisation de l'huile essentielle de *Citrus limon* comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche , *I.N.A.T.A.A. Constantine 2013*
  - **Khan, M. Aslam, and M. Abid.** "Effect of environmental conditions on citrus canker disease development." *Pak. J. Phytopathol* 19.2 (2007): 139-144.
  - **Khaskheli, M., et al.** "Physico-chemical quality of camel milk." *Journal of Agriculture and Social Sciences* 2 (2005): 164-166.
  - **Khaskheli, M., et al.** "Physico-chemical quality of camel milk." *Journal of Agriculture and Social Sciences* 2 (2005): 164-166.
  - **Kim, Soon-II, et al.** "Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae)." *Journal of Stored Products Research* 39.1 (2003): 11-19.
  - **Konuspayeva G., Faye B., and Loiseau G., 2009 a.** The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22: 95-101.

- **Konuspayeva, Gaukhar, Bernard Faye, and Gérard Loiseau.** "The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data." *Journal of food composition and analysis* 22.2 (2009): 95-101.
- **Konuspayeva, Gaukhar, et al.** "Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan." (2009).
- **LACHKHAB S, YOUCEF L ., (2002)** .Influence de taux de réfrigération sur la qualité bactériologique et biochimique du lait ; département agronomie, faculté des sciences , Université de Batna Aust. *J. Dairy Techn.*, 41, 33-35.
- **lactiques et mise au point de laits fermentés THÈSE UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR – ANNABA Vignola, 2002**
- **Lahsaoui, S.** Étude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel Algérien (Kilila)'. Diss. Thèse de Doctorat: Science Agronomie, université de Batna (Algérie), 2009.

lait de chamelle. *Actes de l'atelier international sur \*lait de chamelle pour l'Afrique du 5-8 novembre, Niamey, Niger.*

- **Lapointe-Vignola, Carole.** *Science et technologie du lait: transformation du lait.* Presses inter Polytechnique, 2002.
- **Lawrence BM. 2000.** Essential oils: from agriculture to chemistry. *Int J Aromather* 10: 82–98.
- **Loussert, Raymond.** Les agrumes. Technique et Documentation-Lavoisier, 1989.
- **M. BOURKHISS, M. HNACH, B. BOURKHISS, M. OUHSSINE, A. CHAOUCH2ET B. SATRANI.** Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) *Masters AGROSOLUTIONS SEPTEMBRE 2009 VOL. 20 No 1*
- **Madhavi, D. L., Singletary, K., & Smith, M. A. L. (1996).** In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. *Planta medica*, 62(03), 212-216.
- **Mahmoud, Hosam M., and George S. Lueker.** *Evolution of random search trees.* Vol. 200. New York: Wiley, 1992.
- **Marco, Gino J.** "A rapid method for evaluation of antioxidants." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 45.9 (1968): 594-598.
- **McMahon, Donald J., et al.** "Microstructural changes in casein supramolecules during acidification of skim milk." *Journal of dairy science* 92.12 (2009): 5854-5867

- **Medjour**, Abdelhak. : Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chamelles (*Camelus dromedarius*) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semi-intensif). Diss. Université Mohamed khider Biskra., 2014.
- **Mehaia M. A., 1993.** Fresh soft white cheese (Domiaty-type) from camel milk: Composition, yield and sensory evaluation. *Journal Dairy Science*. 76: 2845-2855
- **Miller, Joseph S.** "Photoelectric spectrophotometry of the Cygnus Loop." *The Astrophysical Journal* 189 (1974): 239-248.
- **Molimard, P., et al.** "Amertume et fractions azotées de fromages à pâte molle de type camembert: rôle de l'association de *Penicillium camemberti* avec *Geotrichum candidum*." *Le Lait* 74.5 (1994): 361-374.
- **Moreira, M. R., et al.** "Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen." *LWT-Food Science and Technology* 38.5 (2005): 565-570.
- **Moreira, M. R., et al.** "Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen." *LWT-Food Science and Technology* 38.5 (2005): 565-570.
- **Moreira, M. R., et al.** "Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen." *LWT-Food Science and Technology* 38.5 (2005): 565-570
- **Mortada, M. S. and Omer, I. A. H. 2013.** Effect of fortifying camel's milk with Skim milk powder on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of set yoghurt. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 5(6), 765-770
- **Multon, J. L.** "Additifs et Auxiliaires de Fabrication dans les Industries Agroalimentaires (Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires)(French), p 746." (2002).
- **Munier Sylvie 2011** , Elaboration d'une crème de nuit à base d'huile essentielle de citron ,*Montpellier SupAgro - Universités Montpellier* 1 – 12 p
- **NAVES, YR, and NAVES YR.** "NORMALISATION DES HUILES ESSENTIELLES: LISBONNE, 3-7 NOVEMBRE 1975." (1976).
- **Nikhat, F., D. Satynarayana, and E. V. S. Subhramanyam.** "Isolation, charectrisation and screening of antioxidant activity of the roots of *Syzygiumcumini* (L) Skeel." *Asian Journal of Research in Chemistry* 2.2 (2009): 218-221.
- **Ochirkhuyag, B., et al.** "Characterization of caseins from Mongolian yak, khainak, and Bactrian camel." *Le Lait* 77.5 (1997): 601-613.
- **Peyron, L., and H. Richard.** "Extraction des épices et herbes aromatiques et différents types d'extraits." *Épices et aromates*, Paris: Tec et Doc-Lavoisier, APRIA (1992).
- **Piacentini, E.** "Antiseptic and disinfectant power against sporogens of bergamot, orange and lemon oils in aqueous solution." *Ann. igiene, r* 8 (1949): 1-12.

- **Portes, Elise.** *Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes: propriétés photochimiques et antioxydantes: applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle.* Diss. Bordeaux 1, 2008.
  - **Poznanski, E. L. I. S. A., et al.** "Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park." *International journal of food microbiology* 92.2 (2004): 141-151.
  - **Prior, Ronald L.** "Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage." *The American journal of clinical nutrition* 78.3 (2003): 570S-578S.
  - **Ramet J. P., 1990.** Processing of dairy production from camel milk. *Mission*
  - **Ramet J. P., 1990.** Processing of dairy production from camel milk. *Mission report F.A.O.* 1-44.278.
  - **Ramet J. P., 1994.** Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire. *Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie.*279.
  - **Ramet J. P., 2003.** Aptitude à la conservation et à la transformation fromagère du lait de chamelle. *Actes de l'atelier international sur \*lait de chamelle pour l'Afrique du 5-8 novembre, Niamey, Niger.*
  - **Ramet J. P., 2003.** Aptitude à la conservation et à la transformation fromagère du
  - **Razafindrakoto, B. S.** *Huiles Essentielles d'Eucalyptus de Madagascar.* Diss. Thesis, USTL, Montpellier, France, 1988.
- report F.A.O.* 1-44.
- **Richard Forget, Florence.** Recherche sur le brunissement enzymatique. Etudes sur l'oxydation de phénols et sur l'inhibition de la polyphénoloxydase isolée de la Pomme(Malus sylvestris, var. Red delicious). Diss. 1992.
  - **Robert Anton, and Annelise Lobstein.** *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles.* Tec & Doc, 2005
  - **Roux D. 2008.** *Conseil en aromathérapie.* 2ème Ed. Pro-Officina., 187 p.
  - **Salmeron, J., et al.** "Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheesemaking." *Food microbiology* 19.2-3 (2002): 167-174.
  - **Sboui A, TOUHAMI K, MONGI D. et OMRANE B ., (2009).** Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du sud tunisien; variation du PH et de l'acidité à différentes températures science afrique 05(2)

- **Sboui, Amel, et al.** "Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures." *Afrique science: revue internationale des sciences et technologie* 5.2 (2009).
- **Schafer, Zachary T., et al.** "Antioxidant and oncogene rescue of metabolic defects caused by loss of matrix attachment." *Nature* 461.7260 (2009): 109-113.
- **Schmidt, R. H., et al.** "Heat treatment and storage effects on texture characteristics of milk and yogurt systems fortified with oilseed proteins." *Journal of Food science* 45.3 (1980): 471-475.
- **Senatore, Felice, et al.** "Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L.(Asteraceae) essential oil with different chemical composition." *Flavour and Fragrance Journal* 19.6 (2004): 574-578.
- **Shuiep, El Tahir Salih, et al.** "Biochemical and molecular characterization of polymorphisms of  $\alpha$ 1-casein in Sudanese camel (*Camelus dromedarius*) milk." *International Dairy Journal* 28.2 (2013): 88-93.
- **Siboukeur O.,** 2007. Étude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques, aptitudes à la coagulation. *Thèse, Université Kasdi Merbah, Ourgla, Algérie.*
- **Spiegel-Roy, Pinhas, and Eliezer E. Goldschmidt.** *The biology of citrus.* Cambridge University Press, 1996.
- **St-Gelais, D., et al.** "Fromage." *Science et technologie du lait: transformation du lait* (2002): 349-415.
- **Tarek, A. R. B. I. A., and CHIHEB Ammar Elhassen.** "Caractérisation physico-chimique, bactériologique et authentification du lait camelin collecté dans la région de Oued Souf au Sud Est Algérien." (2018).
- **Tomi, Félix, et al.** "Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy." *J. Magn. Reson. Anal* 1 (1995): 25-34.
- **VANGELDER Victoria ,** L'AROMATHERAPIE DANS LA PRISE EN CHARGE DES TROUBLES DE SANTE MINEURS CHEZ L'ADULTE A L'OFFICINE , Université de Lille 2 , 2018
- **Voisin A ., (2010)** .influence du type d'alimentation sur la texture et la flaveur du fromage , thèse pour obtenir le grade de Docteur en sciences vétérinaire .université
- **Wangoh, J., Z. Farah, and Z. Puhan.** "COMPOSITION OF MILK FROM THREE CAMEL (*CAMELUS DROMEDARIUS*) BREEDS IN KENYADURING LACTATION." *Milchwissenschaft* 53.3 (1998): 136-139.

- Wangoh, J., Z. Farah, and Z. Puhan. "Extraction of camel rennet and its comparison with calf rennet extract." *Milchwissenschaft* 48 (1993): 322-322.
- **Watts B.M, Ylimaki G.L, Jefery L.E, Elias L.G. (1991).** Methode de base pour l'evaluation sensorielle des aliments.116,117,120, p
- **Watts, Beverley Merle, et al.** *Méthodes de base pour l'évaluation sensorielle des aliments.* CRDI, Ottawa, ON, CA, 1991.
- **Yagil, Reuven, and Zipora Etzion.** "Effect of drought condition on the quality of camel milk." *Journal of Dairy Research* 47.2 (1980): 159-166.

# *Annexes*

## Annexe 01 :

Différences des sommes de classement par rang absolu critiques pour les comparaisons de «tous les traitements» à un seuil de signification de 5 %

Dégustateurs	Nombre d'échantillons										
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
3	6	8	11	13	15	18	20	23	25	28	
4	7	10	13	15	18	21	24	27	30	33	
5	8	11	14	17	21	24	27	30	34	37	
6	9	12	15	19	22	26	30	34	37	42	
7	10	13	17	20	24	28	32	36	40	44	
8	10	14	18	22	26	30	34	39	43	47	
9	10	15	19	23	27	32	36	41	46	50	
10	11	15	20	24	29	34	38	43	48	53	
11	11	16	21	26	30	35	40	45	51	56	
12	12	17	22	27	32	37	42	48	53	58	
13	12	18	23	28	33	39	44	50	55	61	
14	13	18	24	29	34	40	46	52	57	63	
15	13	19	24	30	36	42	47	53	59	66	
16	14	19	25	31	37	42	49	55	61	67	
17	14	20	26	32	38	44	50	56	63	69	
18	15	20	26	32	39	45	51	58	65	71	
19	15	21	27	33	40	46	53	60	66	73	
20	15	21	28	34	41	47	54	61	68	75	
21	16	22	28	35	42	49	56	63	70	77	
22	16	22	29	36	43	50	57	64	71	79	
23	16	23	30	37	44	51	58	65	73	80	
24	17	23	30	37	45	52	59	67	74	82	
25	17	24	31	38	46	53	61	68	76	84	
26	17	24	32	39	46	54	62	70	77	85	
27	18	25	32	40	47	55	63	71	79	87	
28	18	25	33	40	48	56	64	72	80	89	
29	18	26	33	41	49	57	65	73	82	90	
30	19	26	34	42	50	58	66	75	83	92	
31	19	27	34	42	51	59	67	76	85	93	
32	19	27	35	43	51	60	68	77	86	95	
33	20	27	36	44	52	61	70	78	87	96	
34	20	28	36	44	53	62	71	79	89	98	
35	20	28	37	45	54	63	72	81	90	99	
36	20	29	37	46	55	63	73	82	91	100	
37	21	29	38	46	55	64	74	83	92	102	
38	21	29	38	47	56	65	75	84	94	103	
39	21	30	39	48	57	66	76	85	95	105	
40	21	30	39	48	57	67	76	86	96	106	
41	22	31	40	49	58	68	77	87	97	107	
42	22	31	40	49	59	69	78	88	98	109	
43	22	31	41	50	60	69	79	89	99	110	
44	22	32	41	51	60	70	80	90	101	111	
45	23	32	41	51	61	71	81	91	102	112	
46	23	32	42	52	62	72	82	92	103	114	
47	23	33	42	52	62	72	83	93	104	115	
48	23	33	43	53	63	73	84	94	105	116	
49	24	33	43	53	64	74	85	95	106	117	
50	24	34	44	54	64	75	85	96	107	118	
55	25	35	46	56	67	78	90	101	112	124	
60	26	37	48	59	70	82	94	105	117	130	
65	27	38	50	61	73	85	97	110	122	135	
70	28	40	52	64	76	88	101	114	127	140	
75	29	41	53	66	79	91	105	118	131	145	
80	30	42	55	68	81	94	108	122	136	150	
85	31	44	57	70	84	97	111	125	140	154	
90	32	45	58	72	86	100	114	129	144	159	
95	33	46	60	74	88	103	118	133	148	163	
100	34	47	61	76	91	105	121	136	151	167	

On se sert des valeurs exactes adaptées de Hollander et Wolfe (1973) jusqu'à 15 dégustateurs.

## Annexe 02 : Tableau 1 de test hedonique

TABLEAU 7.5  
Distribution de F  
à un seuil de signification de 5 %

$v_1 \backslash v_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.298	19.330	19.353	19.371	19.385
3	10.128	9.5521	9.2766	9.1172	9.0135	8.9408	8.8868	8.8452	8.8123
4	7.7086	6.9443	6.5914	6.3883	6.2560	6.1631	6.0942	6.0410	5.9988
5	6.6079	5.7861	5.4095	5.1922	5.0503	4.9503	4.8759	4.8183	4.7725
6	5.9874	5.1433	4.7571	4.5337	4.3874	4.2839	4.2066	4.1468	4.0990
7	5.5914	4.7374	4.3465	4.1203	3.9715	3.8660	3.7870	3.7257	3.6767
8	5.3177	4.4590	4.0602	3.8378	3.6876	3.5806	3.5005	3.4381	3.3881
9	5.1174	4.2565	3.8526	3.6331	3.4817	3.3738	3.2927	3.2296	3.1789
10	4.9646	4.1028	3.7083	3.4780	3.3258	3.2172	3.1355	3.0717	3.0204
11	4.8443	3.9823	3.5874	3.3567	3.2039	3.0946	3.0123	2.9480	2.8962
12	4.7472	3.8853	3.4903	3.2592	3.1050	2.9961	2.9134	2.8486	2.7964
13	4.6672	3.8056	3.4105	3.1791	3.0254	2.9153	2.8321	2.7669	2.7144
14	4.6001	3.7389	3.3439	3.1122	2.9582	2.8477	2.7642	2.6987	2.6458
15	4.5431	3.6823	3.2874	3.0556	2.9013	2.7905	2.7066	2.6408	2.5876
16	4.4940	3.6337	3.2389	3.0069	2.8524	2.7413	2.6572	2.5911	2.5377
17	4.4513	3.5915	3.1968	2.9647	2.8100	2.6987	2.6143	2.5480	2.4943
18	4.4139	3.5546	3.1599	2.9277	2.7729	2.6613	2.5767	2.5102	2.4563
19	4.3808	3.5219	3.1274	2.8961	2.7401	2.6283	2.5435	2.4768	2.4227
20	4.3513	3.4928	3.0984	2.8661	2.7100	2.5980	2.5140	2.4471	2.3928
21	4.3248	3.4668	3.0726	2.8401	2.6848	2.5727	2.4876	2.4205	2.3661
22	4.3009	3.4434	3.0491	2.8167	2.6613	2.5491	2.4638	2.3965	2.3419
23	4.2793	3.4221	3.0280	2.7955	2.6400	2.5277	2.4422	2.3748	2.3201
24	4.2597	3.4028	3.0088	2.7763	2.6207	2.5082	2.4226	2.3551	2.3002
25	4.2417	3.3852	2.9912	2.7587	2.6030	2.4904	2.4047	2.3371	2.2821
26	4.2252	3.3690	2.9751	2.7426	2.5868	2.4741	2.3883	2.3205	2.2655
27	4.2100	3.3541	2.9604	2.7278	2.5719	2.4591	2.3732	2.3053	2.2501
28	4.1960	3.3404	2.9467	2.7141	2.5581	2.4453	2.3593	2.2913	2.2360
29	4.1830	3.3277	2.9340	2.7014	2.5454	2.4324	2.3463	2.2782	2.2229
30	4.1709	3.3158	2.9223	2.6896	2.5336	2.4205	2.3343	2.2662	2.2107
40	4.0848	3.2317	2.8387	2.6060	2.4495	2.3359	2.2490	2.1802	2.1240
60	4.0012	3.1504	2.7681	2.5252	2.3683	2.2540	2.1665	2.0970	2.0401
120	3.9201	3.0718	2.6902	2.4472	2.2900	2.1760	2.0867	2.0164	1.9588
$\infty$	3.8415	2.9957	2.6049	2.3719	2.2141	2.0986	2.0096	1.9384	1.8799

Note : Dans ce tableau, il faut remplacer le point décimal par la virgule décimale.  
Ce tableau donne les valeurs de  $F$  pour lesquelles  $I_F(v_1, v_2) = 0,05$ .

**TABLEAU 7.5 (suite)**  
**Distribution de F**  
**à un seuil de signification de 5 %**

$v_1 \backslash v_2$	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$
1	241.88	243.91	245.95	248.01	249.05	250.09	251.14	252.20	253.25	254.32
2	19.396	19.413	19.429	19.446	19.454	19.462	19.471	19.479	19.487	19.496
3	8.7855	8.7446	8.7029	8.6602	8.6385	8.6166	8.5944	8.5720	8.5494	8.5265
4	5.9644	5.9117	5.8578	5.8025	5.7744	5.7459	5.7170	5.6878	5.6581	5.6281
5	4.7351	4.6777	4.6188	4.5581	4.5272	4.4957	4.4638	4.4314	4.3984	4.3650
6	4.0600	3.9920	3.9381	3.8742	3.8415	3.8082	3.7743	3.7398	3.7047	3.6688
7	3.6365	3.5747	3.5108	3.4445	3.4105	3.3758	3.3404	3.3043	3.2674	3.2298
8	3.3472	3.2840	3.2184	3.1503	3.1152	3.0794	3.0428	3.0053	2.9669	2.9276
9	3.1373	3.0729	3.0061	2.9365	2.9005	2.8637	2.8259	2.7872	2.7475	2.7067
10	2.9782	2.9130	2.8450	2.7740	2.7372	2.6996	2.6609	2.6211	2.5801	2.5379
11	2.8536	2.7876	2.7186	2.6464	2.6090	2.5705	2.5309	2.4901	2.4480	2.4045
12	2.7534	2.6866	2.6169	2.5436	2.5055	2.4663	2.4259	2.3842	2.3410	2.2962
13	2.6710	2.6037	2.5331	2.4589	2.4202	2.3803	2.3392	2.2966	2.2524	2.2064
14	2.6021	2.5342	2.4630	2.3879	2.3487	2.3082	2.2664	2.2230	2.1778	2.1307
15	2.5437	2.4753	2.4035	2.3275	2.2878	2.2468	2.2043	2.1601	2.1141	2.0658
16	2.4935	2.4247	2.3522	2.2756	2.2354	2.1938	2.1507	2.1058	2.0589	2.0098
17	2.4499	2.3807	2.3077	2.2304	2.1898	2.1477	2.1040	2.0584	2.0107	1.9604
18	2.4117	2.3421	2.2686	2.1906	2.1497	2.1071	2.0629	2.0166	1.9681	1.9168
19	2.3779	2.3080	2.2341	2.1555	2.1141	2.0712	2.0264	1.9796	1.9302	1.8780
20	2.3479	2.2776	2.2033	2.1242	2.0825	2.0391	1.9938	1.9464	1.8963	1.8432
21	2.3210	2.2504	2.1757	2.0960	2.0540	2.0102	1.9645	1.9165	1.8657	1.8117
22	2.2967	2.2258	2.1508	2.0707	2.0283	1.9842	1.9380	1.8895	1.8380	1.7831
23	2.2747	2.2036	2.1282	2.0476	2.0050	1.9605	1.9139	1.8649	1.8128	1.7570
24	2.2547	2.1834	2.1077	2.0267	1.9838	1.9390	1.8920	1.8424	1.7897	1.7331
25	2.2365	2.1649	2.0889	2.0075	1.9643	1.9192	1.8718	1.8217	1.7684	1.7110
26	2.2197	2.1479	2.0716	1.9898	1.9464	1.9010	1.8533	1.8027	1.7488	1.6906
27	2.2043	2.1323	2.0558	1.9736	1.9299	1.8842	1.8361	1.7851	1.7307	1.6717
28	2.1900	2.1179	2.0411	1.9586	1.9147	1.8687	1.8203	1.7689	1.7138	1.6541
29	2.1768	2.1045	2.0275	1.9448	1.9005	1.8543	1.8055	1.7537	1.6981	1.6377
30	2.1646	2.0921	2.0148	1.9317	1.8874	1.8409	1.7918	1.7396	1.6835	1.6223
40	2.0772	2.0035	1.9245	1.8389	1.7929	1.7444	1.6928	1.6373	1.5760	1.5089
60	1.9926	1.9174	1.8364	1.7480	1.7001	1.6491	1.5943	1.5343	1.4673	1.3993
120	1.9105	1.8337	1.7505	1.6587	1.6084	1.5543	1.4952	1.4309	1.3519	1.2539
$\infty$	1.8307	1.7522	1.6664	1.5705	1.5173	1.4591	1.3940	1.3180	1.2214	1.0900

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{v_1 S_1}{v_2 S_2}$$

**Annexe 03: Tableau 2 test hédonique**

**TABLEAU 7.7**  
**Valeurs critiques (valeurs de Q) pour le Test de comparaisons multiples de Duncan**  
**à un seuil de signification de 5 %**

$v \backslash p$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97
2	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085
3	4.501	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516	4.516
4	3.927	4.013	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033
5	3.635	3.749	3.797	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814
6	3.461	3.587	3.649	3.680	3.694	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697
7	3.344	3.477	3.548	3.588	3.611	3.622	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626
8	3.261	3.399	3.475	3.521	3.549	3.566	3.575	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579
9	3.199	3.339	3.420	3.470	3.502	3.523	3.536	3.544	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547
10	3.151	3.293	3.376	3.430	3.465	3.489	3.505	3.518	3.522	3.525	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526
11	3.113	3.256	3.342	3.397	3.435	3.462	3.480	3.493	3.501	3.508	3.509	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510
12	3.082	3.225	3.313	3.370	3.410	3.439	3.459	3.474	3.484	3.491	3.496	3.498	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499
13	3.055	3.200	3.289	3.348	3.389	3.419	3.442	3.458	3.470	3.478	3.484	3.488	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490
14	3.033	3.178	3.268	3.329	3.372	3.403	3.426	3.444	3.457	3.467	3.474	3.479	3.482	3.484	3.484	3.485	3.485	3.485
15	3.014	3.160	3.250	3.312	3.356	3.388	3.413	3.432	3.446	3.457	3.465	3.471	3.476	3.478	3.480	3.481	3.481	3.481
16	2.998	3.144	3.235	3.298	3.343	3.376	3.402	3.422	3.437	3.449	3.458	3.465	3.470	3.473	3.477	3.478	3.478	3.478
17	2.984	3.130	3.222	3.285	3.331	3.366	3.392	3.412	3.429	3.441	3.451	3.459	3.465	3.469	3.473	3.475	3.476	3.476
18	2.971	3.118	3.210	3.274	3.321	3.356	3.383	3.405	3.421	3.435	3.445	3.454	3.460	3.465	3.470	3.472	3.474	3.474
19	2.960	3.107	3.199	3.264	3.311	3.347	3.375	3.397	3.415	3.429	3.440	3.449	3.456	3.462	3.467	3.470	3.472	3.473
20	2.950	3.097	3.190	3.255	3.303	3.339	3.368	3.391	3.409	3.424	3.436	3.445	3.453	3.459	3.464	3.467	3.470	3.472
24	2.919	3.066	3.160	3.226	3.276	3.315	3.345	3.370	3.390	3.406	3.420	3.432	3.441	3.449	3.456	3.461	3.465	3.466
30	2.888	3.035	3.131	3.199	3.250	3.290	3.322	3.349	3.371	3.389	3.405	3.418	3.430	3.439	3.447	3.454	3.460	3.466
40	2.858	3.006	3.102	3.171	3.224	3.266	3.300	3.328	3.352	3.373	3.390	3.405	3.418	3.429	3.439	3.448	3.456	3.463
60	2.829	2.978	3.073	3.143	3.198	3.241	3.277	3.307	3.333	3.355	3.374	3.391	3.406	3.419	3.431	3.442	3.451	3.460
120	2.800	2.947	3.045	3.116	3.172	3.217	3.254	3.287	3.314	3.337	3.359	3.377	3.394	3.409	3.423	3.435	3.446	3.457
$\infty$	2.772	2.918	3.017	3.089	3.146	3.193	3.232	3.265	3.294	3.320	3.343	3.363	3.382	3.399	3.414	3.428	3.442	3.454

Note : Dans ce tableau, il faut remplacer le point décimal par la virgule décimale.

$v = dl$  (Erreur)

$p =$  nombre de moyennes comparées dans la gamme

## Annexe 04:

Tableau 2 (suite)

**TABLEAU 7.7 (suite)**  
**Valeurs critiques (valeurs de Q) pour le Test de comparaisons multiples de Duncan**  
**à un seuil de signification de 5 %**

$\nu$	$p$	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	50	60	70	80	90	100	
1		17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97
2		6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085	6.085
3		4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518	4.518
4		4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033	4.033
5		3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814	3.814
6		3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697	3.697
7		3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626	3.626
8		3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579	3.579
9		3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547	3.547
10		3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526	3.526
11		3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510	3.510
12		3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499	3.499
13		3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490	3.490
14		3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485	3.485
15		3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481	3.481
16		3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478	3.478
17		3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476	3.476
18		3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474
19		3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474
20		3.473	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474	3.474
24		3.471	3.475	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477	3.477
30		3.470	3.477	3.481	3.484	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486	3.486
40		3.469	3.479	3.486	3.492	3.497	3.500	3.502	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504	3.504
60		3.467	3.481	3.492	3.501	3.509	3.515	3.521	3.525	3.529	3.531	3.534	3.537	3.537	3.537	3.537	3.537	3.537	3.537
120		3.466	3.483	3.498	3.511	3.522	3.532	3.541	3.548	3.555	3.561	3.566	3.565	3.566	3.566	3.566	3.566	3.566	3.566
$\infty$		3.466	3.486	3.505	3.522	3.536	3.550	3.562	3.574	3.584	3.594	3.603	3.610	3.616	3.621	3.625	3.628	3.631	3.633

## Annexe 05 : Tableau 3 test hédonique

**TABLEAU 7.8**  
**Valeurs critiques (valeurs de Q) pour le Test de comparaisons multiples de Duncan à un seuil de signification de 1 %**

$\nu$	$p$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
1		90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03	90.03
2		14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04	14.04
3		8.261	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321
4		6.512	6.577	6.740	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756	6.756
5		5.702	5.893	5.989	6.040	6.065	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074	6.074
6		5.243	5.439	5.549	5.614	5.655	5.680	5.694	5.701	5.703	5.703	5.703	5.703	5.703	5.703	5.703	5.703	5.703	5.703	5.703
7		4.949	5.145	5.260	5.334	5.383	5.416	5.439	5.454	5.464	5.470	5.472	5.472	5.472	5.472	5.472	5.472	5.472	5.472	5.472
8		4.746	4.939	5.057	5.135	5.180	5.227	5.256	5.276	5.291	5.302	5.309	5.314	5.316	5.317	5.317	5.317	5.317	5.317	5.317
9		4.586	4.787	4.906	4.986	5.043	5.086	5.118	5.142	5.160	5.174	5.185	5.193	5.199	5.203	5.205	5.206	5.206	5.206	5.206
10		4.482	4.671	4.790	4.871	4.931	4.975	5.010	5.037	5.058	5.074	5.088	5.098	5.106	5.112	5.117	5.120	5.122	5.124	5.124
11		4.392	4.579	4.697	4.780	4.841	4.887	4.924	4.952	4.975	4.994	5.009	5.021	5.031	5.039	5.045	5.050	5.054	5.057	5.057
12		4.320	4.504	4.622	4.706	4.767	4.815	4.852	4.883	4.907	4.927	4.944	4.958	4.969	4.978	4.986	4.993	4.998	5.002	5.002
13		4.260	4.442	4.560	4.644	4.706	4.755	4.793	4.824	4.850	4.872	4.889	4.904	4.917	4.928	4.937	4.944	4.950	4.956	4.956
14		4.210	4.391	4.508	4.591	4.654	4.704	4.743	4.775	4.802	4.824	4.843	4.859	4.872	4.884	4.894	4.902	4.910	4.916	4.916
15		4.168	4.347	4.463	4.547	4.610	4.660	4.700	4.733	4.760	4.783	4.803	4.820	4.834	4.846	4.857	4.866	4.874	4.881	4.881
16		4.131	4.309	4.425	4.509	4.572	4.622	4.663	4.696	4.724	4.748	4.768	4.780	4.800	4.813	4.825	4.835	4.844	4.851	4.851
17		4.099	4.275	4.391	4.475	4.539	4.589	4.630	4.664	4.693	4.717	4.738	4.756	4.771	4.785	4.797	4.807	4.816	4.824	4.824
18		4.071	4.246	4.362	4.445	4.509	4.560	4.601	4.635	4.664	4.689	4.711	4.729	4.745	4.759	4.772	4.783	4.792	4.801	4.801
19		4.046	4.220	4.335	4.419	4.483	4.534	4.575	4.610	4.639	4.665	4.688	4.705	4.722	4.736	4.749	4.761	4.771	4.780	4.780
20		4.024	4.197	4.312	4.395	4.459	4.510	4.552	4.587	4.617	4.642	4.664	4.684	4.701	4.716	4.729	4.741	4.751	4.761	4.761
24		3.956	4.126	4.239	4.322	4.386	4.437	4.480	4.516	4.546	4.573	4.596	4.616	4.634	4.651	4.665	4.678	4.690	4.700	4.700
30		3.889	4.056	4.168	4.250	4.314	4.366	4.409	4.445	4.477	4.504	4.528	4.550	4.569	4.586	4.601	4.615	4.628	4.640	4.640
40		3.825	3.988	4.098	4.180	4.244	4.296	4.339	4.376	4.408	4.436	4.461	4.483	4.503	4.521	4.537	4.553	4.566	4.579	4.579
60		3.762	3.922	4.031	4.111	4.174	4.226	4.270	4.307	4.340	4.368	4.394	4.417	4.438	4.456	4.474	4.490	4.504	4.518	4.518
120		3.702	3.858	3.965	4.044	4.107	4.158	4.202	4.239	4.272	4.301	4.327	4.351	4.372	4.392	4.410	4.426	4.442	4.456	4.456
$\infty$		3.643	3.796	3.900	3.978	4.040	4.091	4.135	4.172	4.205	4.235	4.261	4.285	4.307	4.327	4.345	4.363	4.379	4.394	4.394

Note : Dans ce tableau, il faut remplacer le point décimal par la virgule décimale.

$\nu = dl(\text{Erreur})$

$p = \text{nombre de moyennes comparées dans la gamme}$

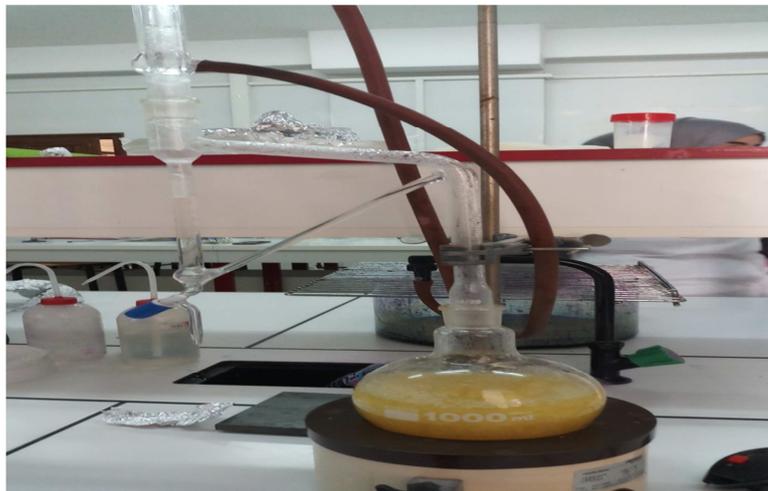
**Annexe 06 : citron utilisèe**



**Annexe 07 :**

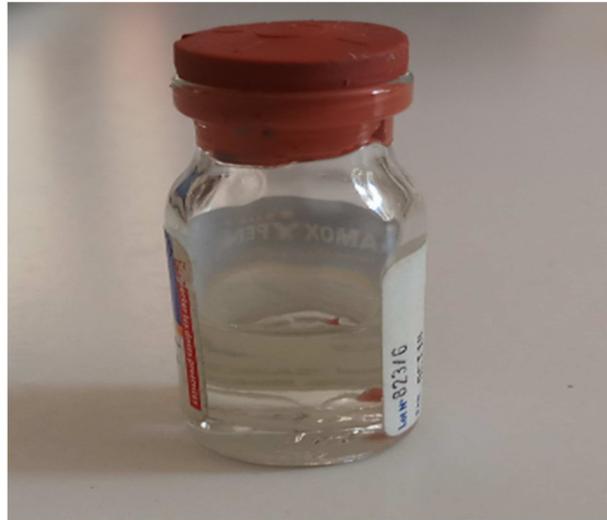
Extraction des huiles essentielles

Hydrodistillation



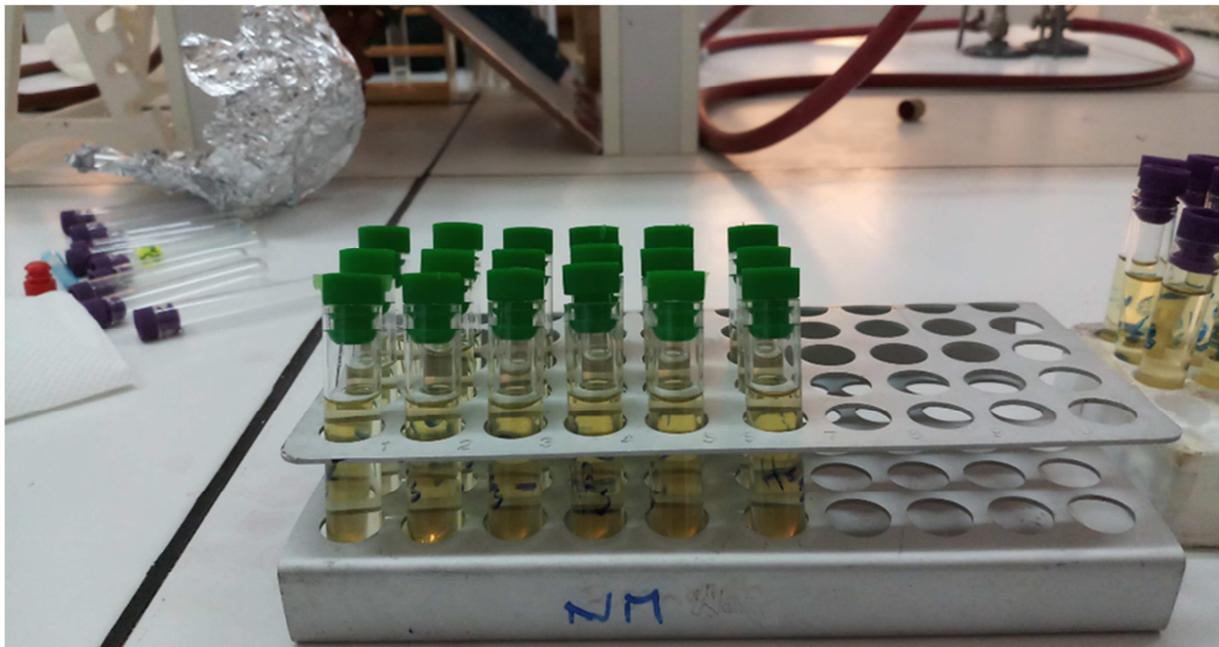
**Annexe 08 :**

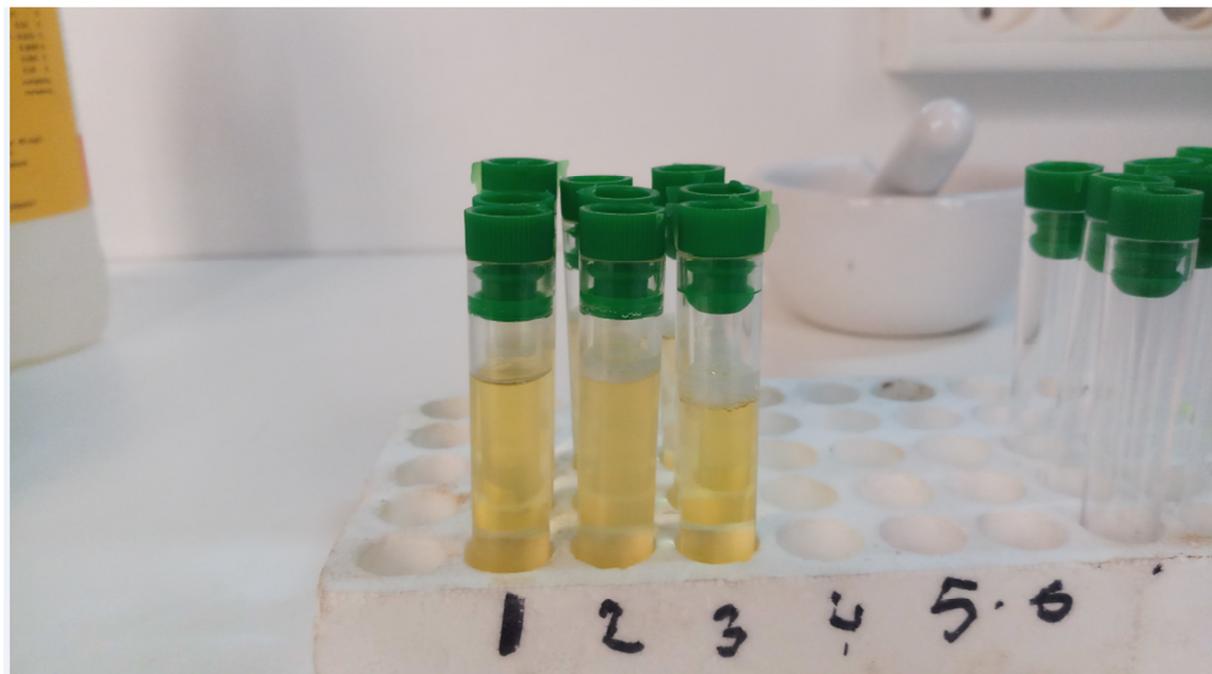
Huile essentielle de citron obtenu



**Annexe 09 :**

Test de blanchiment beta carotène





**Annexe 10 :**

Test de DPPH

