



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



Echahid Cheikh Larbi Tebessi –Tebessa
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Science Biologique

Option: Microbiologie Appliquée

Sous le Thème :

**Préparation d'un conservateur biologique à base des bactéries lactique
isolées des légumes fermentés artisanalement**

Présentée par :

Melle. Kharkhache Manel

&

Melle. Rezgui Hasna

Devant le Jury :

Mme. Benhadj M.

Professeur

Président

Mme.Metrouh.R

Maitre de conférences B

Rapporteur

Mme.Smaali.S

Maitre de conférences A

Examineur

Mr.Aliani .M

Inspecteur principal en chef

Partenaire

économique

Mr.Goudjil.F

Maitre-assistant A

**Représentant de
l'incubateur**

Note

Mention

19.95

Excellent

2024/2025



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC OF ALGERIA
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH
جامعة الشهيد الشيخ العربي التبسي
ECHAHID CHEIKH LARBI TEBESSI UNIVERSITY, TEBESSA
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة



FACULTY OF EXACT SCIENCES, NATURAL AND LIFE SCIENCES

Département de Biologie Appliquée
Filière : Science Biologique
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Année universitaire 2024/2025

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : Reggiani Houda

Régulièrement inscrit (e) : oui

N° de carte d'étudiant : 202034015695

Année universitaire : 2024/2025

Domaine : des Sciences de la nature et de la vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé : Préparation d'un conservateur biologique à base de bactéries lactiques isolées de légumes fermentés artisanalement.

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité, je certifie également que je n'ai ni copié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

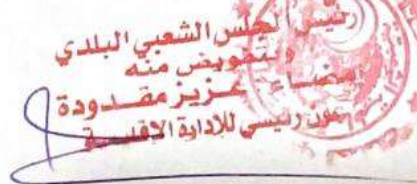
Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de refaire sur un sujet différent
- L'exclusion d'une année de Master.
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa le 12 2025

Signature de l'étudiant (e)





الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC OF ALGERIA
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH
جامعة الشهيد الشاذلي بن جديد
ECHAHID CHEIKH LARBI TEBESSI UNIVERSITY, TEBESSA
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
FACULTY OF EXACT SCIENCES, NATURAL AND LIFE SCIENCES



Département de Biologie Appliquée
Filière : Science Biologique
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Année universitaire 2024/2025

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : Khankhach Manel

Régulièrement inscrit (e) : Oui

N° de carte d'étudiant : 191934020305

Année universitaire : 2024/2025

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé : Préparation de consorciums biologiques à base de bactéries

isolées à partir de légumes fermentés artisanalement
Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont

été indiquées dans leur totalité, je certifie également que je n'ai ni copié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année de Master.
- L'exclusion définitive.



Tebessa, le 15.12.2025

Signature de l'étudiant (e)



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC OF ALGERIA
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH
جامعة الشهيد الشيخ العربي التبسي
ECHAHID CHEIKH LABBI TEBESSI UNIVERSITY, TEBESSA
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
FACULTY OF EXACT SCIENCES, NATURAL AND LIFE SCIENCES



Département de Biologie appliquée
Filière : Science biologique
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Année universitaire : 2024/2025

Formulaire de levée de réserves après soutenance d'un Mémoire de Master

Données d'identification du candidats (es) :

Nom et prénom du candidat : Khar Khache Mamel
Rezgui Hasna

Intitulé du Sujet : Préparation de conservateur biologique à base de
bactéries lactiques isolées à partir des souches fermentaires.

Données d'identification du membre de jury :

Nom et prénom :

1. Benshadj M. 2. Smaali S. 3. Aliani M. 4. Groujil F. 5. Metrouh R.

Grade :

1. Professeur 2. Maitre de conférences 3. Inspecteur principal en chef 4. Maitre assistant B 5. Maitre de conférences B

Lieu d'exercice : Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa

Vu le procès-verbal de soutenance de la thèse sus citée comportant les réserves suivantes :

La correction de la mise en forme du document, la justification de
la pagination et du sommaire ainsi que l'ajout du test
sensoriel des aliments traités par les prototypes fermaprotect.

Et après constatation des modifications et corrections suivantes :

Nous attestons avoir effectué l'ensemble des modifications,
demandées par la commission à savoir la correction de la
mise en forme, la justification de la pagination et du sommaire,
ainsi que l'ajout du test sensoriel des aliments traités par les prototypes
Je déclare en ma qualité de président de jury de soutenance que le mémoire cité remplit toutes les
conditions exigées et permet au candidat de déposer son mémoire en vue de l'obtention de
l'attestation de succès.

Tébessa le : 12/10/2025

Président de jury de soutenance : (Nom/Prénom et signature)

P. B. h. j.

Remerciements

Tout d'abord et avant toute chose, nous voudrions louer et remercier Dieu, le Tout-Puissant, qui nous a comblées de patience, de force et de persévérance, et qui nous a guidées et accordé Sa bénédiction tout au long de notre parcours jusqu'à l'accomplissement de ce travail.

Nous exprimons notre plus profonde gratitude à Dr Metrouh Roumaissa, notre encadreuse, dont la bienveillance, l'exigence scientifique et la disponibilité sans faille ont été le soutien essentiel de notre mémoire. Son écoute attentive, ses conseils éclairés et le temps qu'elle nous a généreusement consacré ont grandement contribué à la qualité et à la réalisation de ce travail. Nous lui sommes infiniment reconnaissantes pour son accompagnement professionnel et humain. Nous adressons nos sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de juger ce travail. Nous tenons à adresser nos remerciements chaleureux à Mme Imane et à Mlle (future Dr) Hmimed Rayene pour leur aide précieuse au laboratoire de microbiologie, leur disponibilité et leur soutien concret qui ont grandement facilité nos manipulations et nos analyses.

Nous exprimons également notre reconnaissance à l'ensemble du personnel du laboratoire ainsi qu'à toutes les personnes, de près ou de loin, qui nous ont apporté leur aide, leurs encouragements ou leurs compétences au cours de ce travail. Enfin, à titre personnel et au nom des deux auteures de ce mémoire, nous dédions ces remerciements à tous ceux qui ont contribué, par leur présence ou leurs conseils, à l'aboutissement de ce projet.

Dédicace

À ceux qui ont éclairé mon chemin et dont les voix résonnent à travers le temps, je dédie ce travail, fruit d'un effort sincère, rendu possible par la grâce de Dieu et leur soutien inébranlable.

À ma chère mère, Nassira Kharkhache, toi qui as illuminé ma vie d'un amour inépuisable et d'un dévouement sans fin. Tu es la fleur qui a éclos dans mon cœur, la source qui a nourri mon existence. Tu as été non seulement une mère attentionnée, mais aussi une amie fidèle et un pilier de soutien. À toi, source de ma force, je dédie cet accomplissement, comme un symbole de gratitude que les mots ne sauraient exprimer, et une reconnaissance à la hauteur de ton amour sans condition.

À mon cher père, Noureddine Kharkhache, toi qui as été la semence dans laquelle mes principes et valeurs ont grandi. À l'homme qui m'a appris que la véritable force réside dans la patience et que la détermination est le seul chemin vers l'élévation. Tu n'as pas été seulement un père, mais aussi un maître de la vie. À toi ce couronnement, que je place entre tes mains en hommage à ta place irremplaçable dans mon cœur.

À mon cher frère Ibrahim, toi qui as été mon compagnon de vie et mon soutien inébranlable. À l'âme sœur, celui qui a rendu ma vie plus douce et mon chemin plus facile. Tu es l'exemple même de la fraternité pure et du secours inestimable. À toi, toute ma reconnaissance pour ton amour constant et ton soutien indéfectible.

À la Dr. Roumaissa Metrouh, phare de sagesse et guide spirituel, dont le soutien va bien au-delà de l'académique. Grâce à toi, ce projet a pris forme, et je te suis infiniment reconnaissante pour ton accompagnement constant, qui a forgé en nous une détermination à toute épreuve.

À mon cher oncle, dont la mémoire reste gravée dans nos cœurs. Qu'Allah lui accorde le pardon et l'accueille dans son éternité.

À mes amies précieuses : Wiam, Dhouha, Chaima et Radia, votre soutien sans faille, vos encouragements et votre présence constante ont été des piliers dans cette aventure. Je ne pourrai jamais assez exprimer ma gratitude pour votre amitié.

À Hasna ma partenaire de succès, qui a été mon soutien, mon acolyte, et ma complice tout au long de ce projet. Ce travail est aussi le fruit de ton engagement et de ton investissement sincère.

Enfin, à ma famille élargie : mes cousins, cousines, tantes et oncles, en particulier Issam, Kenza, Aya, Nesrine, Basma et Bouthaina, vous êtes mon premier et constant soutien. Votre amour et votre présence m'ont toujours accompagnée.

À chaque main qui m'a soutenue, à chaque cœur qui a prié pour moi... je dédie ce travail avec une profonde gratitude et un amour sincère. Vous êtes la force qui m'a poussée à aller de l'avant et le soutien qui élève mon esprit

Kharkhache Manel

Dédicaces

À mon père, **Rezgui Abd Erazak**, pour son soutien indéfectible et ses sacrifices constants, merci d'avoir cru en moi, de t'être toujours tenu à mes côtés et d'avoir tout fait pour que je réussisse.

À ma mère, **Marzougi Djamila**, pour son amour et son appui sans faille, ta présence a été ma force tout au long de ce parcours.

À **mes sœurs Naâma, Sara, chorouk**., pour leur dévouement, leur compréhension et leur soutien continu , je vous suis profondément reconnaissante.

À **ma grand-mère**, pour ses encouragements et sa tendresse qui m'ont portée dans les moments difficiles.

À toute **ma famille** mon oncle, ma tante maternelle, ma tante paternelle et tous les autres membres de la famille pour leur présence, leurs prières et leur aide précieuse.

À la **Dr. Roumaissa Metrouh**, pour sa confiance dès le début, son enseignement patient et son accompagnement constant tout au long de ce projet, je vous remercie infiniment.

À mon amie et binôme de recherche **Manal**, pour sa collaboration loyale, sa patience et son soutien constant . tu as été un véritable appui tout au long de ce travail.

À toutes les mains et les cœurs qui m'ont soutenue, je vous dédie ce travail avec gratitude.

Rezgui Hasna

Résumé

Cette étude a pour objectif la valorisation de souches de bactéries lactiques (BL) autochtones, isolées de légumes fermentés traditionnels, en tant qu'agents de bioconservation naturels pour les denrées alimentaires périssables. Les souches de BL ont été soumises à une étape de repiquage et de purification post-conservation, suivie d'une caractérisation rigoureuse visant à confirmer leur viabilité et leur potentiel antimicrobien. Simultanément, des micro-organismes d'altération ont été isolés à partir de matrices alimentaires variées (viande, poisson, salade, camembert et raisin) afin de tester l'efficacité inhibitrice des BL sélectionnées. Quatre prototypes de systèmes de bioconservation ont été développés : un gel, un film biodégradable, une poudre et un emballage à revêtement actif, tous enrichis en BL. Ces prototypes ont été appliqués sur différentes matrices alimentaires et leur efficacité a été évaluée après 10 jours de stockage. Les analyses comprenaient des mesures physicochimiques (pH, teneur en eau, cendres, matière organique, protéines, lipides) et microbiologiques. Les résultats mettent en évidence une réduction significative de la flore microbienne d'altération et une meilleure préservation des paramètres de qualité dans les échantillons traités, notamment ceux protégés par le film et le gel. Ces observations confirment le potentiel des bactéries lactiques comme solution de bioconservation naturelle et ouvrent des perspectives prometteuses pour leur intégration dans les stratégies de conservation de l'industrie agroalimentaire.

Mots-clés : Bactéries lactiques, bioconservation, prototypes, activité antimicrobienne, aliments périssables.

Abstract

This study aims to valorize native lactic acid bacteria (LAB) strains isolated from traditionally fermented vegetables as natural biopreservation agents for perishable food products. The LAB strains underwent subculturing and purification after storage, followed by rigorous characterization to confirm their viability and antimicrobial potential. Meanwhile, spoilage microorganisms were isolated from various food matrices (meat, fish, salad, camembert, and grapes) to assess the inhibitory effectiveness of the selected LAB strains.

Four prototype biopreservation systems were developed: a gel, a biodegradable film, a powder, and an active-coated packaging, all enriched with LAB. These prototypes were applied to different food matrices, and their effectiveness was evaluated after 10 days of storage. The analyses included physicochemical measurements (pH, moisture content, ash, organic matter, proteins, lipids) as well as microbiological assessments.

The results show a significant reduction in spoilage microbial flora and better preservation of quality parameters in the treated samples, particularly those protected by the film and the gel. These observations confirm the potential of lactic acid bacteria as a natural biopreservation solution and open promising perspectives for their integration into food preservation strategies within the agri-food industry.

Keywords: Lactic acid bacteria, biopreservation, prototypes, antimicrobial activity, perishable foods.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تثمين سلالات من البكتيريا اللبنية المحلية، المعزولة من خضروات مُخمّرة تقليدياً، باعتبارها عوامل طبيعية لحفظ الأغذية سريعة التلف. خضعت السلالات اللبنية لعملية إعادة تلقيح وتنقية بعد الحفظ، تلتها مرحلة توصيف دقيقة بهدف تأكيد حيويتها وقدرتها المضادة للميكروبات. وفي الوقت نفسه، تم عزل كائنات دقيقة مُسببة لفساد الغذاء من مصفوفات غذائية متنوعة (اللحوم، الأسماك، السلطة، الكامامبير والعنب) لاختبار فعالية السلالات المختارة من البكتيريا اللبنية في تثبيطها.

تم تطوير أربعة نماذج أولية لأنظمة الحفظ الحيوي: جل، فيلم قابل للتحلل الحيوي، مسحوق، وتغليف بطلاء فعال، وجميعها مدعّمة بالبكتيريا اللبنية. طُبِّقت هذه النماذج على مصفوفات غذائية مختلفة، وتم تقييم فعاليتها بعد 10 أيام من التخزين. شملت التحاليل قياسات فيزيائية-كيميائية (الأس الهيدروجيني pH، نسبة الماء، الرماد، المادة العضوية، البروتينات والدهون) إلى جانب التحاليل الميكروبيولوجية.

أظهرت النتائج انخفاضاً ملحوظاً في الحمولة الميكروبية المُسببة للفساد وتحسناً في الحفاظ على معايير الجودة في العينات المعالجة، خاصة تلك المحمية بالفيلم والجل. تؤكد هذه الملاحظات قدرة البكتيريا اللبنية على العمل كوسيلة طبيعية للحفظ الحيوي، وتفتح آفاقاً واعدة لإدماجها في استراتيجيات الحفظ داخل الصناعة الغذائية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا اللبنية، الحفظ الحيوي، النماذج الأولية، النشاط المضاد للميكروبات، الأغذية سريعة التلف.

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
Figure 1 : Représente présence (1) / absence (0) des bactéries d'altération jour 0 vs jour 15	60
Figure 2 : La proportion en pourcentage des souches isolées selon leur groupe microbien	61
Figure 3 : Zones d'inhibition illustrant l'activité antibactérienne	62
Figure 4 : Activité antibactériennes des souches lactique	65
Figure 5 : Les résultats de l'Activité antibactériennes des souches lactique	65
Figure 6 : Variabilité de l'Activité antibactériennes des souches lactique	66
Figure 7: Comparaison de la matière organique ____témoin j0 vs j15 et prototypes	86
Figure 8 : Comparaison de l'humidité ____témoin j0 vs j15 et prototype	86
Figure 9: Comparaison de la matière minérale ____témoin j0 vs j15 et prototypes	87
Figure 10 : Comparaison du pH ____témoin j0 vs j10 et prototypes	87
Figure 11 : Comparaison du taux de protéines ____témoin j0 vs j15 et prototypes	87
Figure 12: Comparaison du taux de lipides ____témoin j0 vs j15 et prototypes	87

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
Tableau 01 : Liste du matériel, appareillage et produits utilisés	15
Tableau 2 : Milieux spécifiques de chaque bactérie	22
Tableau 3 : Résultats de la deuxième coloration de Gram (sur souches pures)	38
Tableau 4 : Observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de camembert	42
Tableau 5 : Observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de camembert	46
Tableau 6 : Observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de Sardine	46
Tableau 7: Observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de laitue	49
Tableau 8: Observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de viande	52
Tableau 9: Observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de Fraise	55
Tableau 10 : Les principaux résultats et observations microscopique de l'isolement des bactéries d'altération	57
Tableau 11:L micro-organismes suspects isolés et description morphologique et l'origine des souches.	60
Tableau 12 : Résultat de l'activité antibactérienne	62
Tableau 13: Résultats de contrôle microbiologique des prototypes (gel/film)	69
Tableau 14 : Résultats Contrôle physicochimiques des prototypes (Film – Gel – Poudre	71
Tableau 15 : Évaluation microbiologique des aliments testés avec prototypes bioconservateurs et témoins après 15 jour	78

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Unités de mesure

mm : millimètre

mL : millilitre

L : litre (ex. «225 mL» = 0,225 L)

g : gramme

mg : milligramme

µL : microlitre (micro-litres)

°C : degré Celsius

UFC : unité formant des colonies (colony forming units)

TNTC : Trop Nombreuses Pour être Comptées (Too Many To Count)

Éléments et composés chimiques

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

(NH₄)₂SO₄ : sulfate d'ammonium

Na₂SO₄ : sulfate de sodium

CuSO₄·5H₂O : sulfate de cuivre pentahydraté

NaCl : chlorure de sodium (sol. physio. 0,85 %)

Organismes ou agents microbiens

BL : bactéries lactiques (lactic acid bacteria)

E. coli : Escherichia coli

S. aureus : Staphylococcus aureus

Concepts biologiques ou médicaux

pH : potentiel hydrogène (mesure d'acidité)

aW : activité de l'eau

FMAT : flore mésophile aérobie totale (mesophilic aerobic total flora)

Techniques, milieux de culture, appareils ou méthodes

PCR : Polymerase Chain Reaction (réaction en chaîne par polymérase)

MH : milieu de Mueller–Hinton

MRS : milieu de Man, Rogosa & Sharpe

MSA : milieu Chapman, dit Mannitol Salt Agar (milieu salé au mannitol)

PCA : Plate Count Agar (gélose PCA, pour flore aérobie mésophile totale)

VRBL : Violet Red Bile Lactose agar (gélose VRBL, pour coliformes)

VRBG : Violet Red Bile Glucose agar (gélose VRBG, pour coliformes)

SS : gélose Salmonella–Shigella agar

XLD : gélose Xylose Lysine Désoxycholate (milieu sélectif Salmonella)

DRBC : gélose Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (pour levures et moisissures)

MALDI-TOF : spectrométrie de masse MALDI TOF (identification microbienne)

Institutions, organismes et logiciels

AFNOR : Association Française de Normalisation

AOAC : Association of Official Analytical Chemists (chimistes analytiques officielles)

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute (normes cliniques et de laboratoire)

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments (European Food Safety Authority)

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

ISO : Organisation internationale de normalisation

JORA : Journal officiel de la République algérienne (normes algériennes)

NF : Norme Française (standards AFNOR)

UNEP : Programme des Nations unies pour l'environnement

WFP : Programme alimentaire mondial (World Food Programme)

TABLE DES MATIERES

Titre	Page
Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES ABRÉVIATIONS	
TABLE DES MATIÈRES	
Introduction	2
Matériel et Méthodes	13
1. L'objectif	14
2. Date et lieu de travail	14
3. Matériel et produits utilisés	14
4. Protocole expérimental	16
4.1 Repiquage et purification des souches lactiques conservées	18
4.1.1 Identification des isolats	19
4.1.1.1 Examens macroscopiques	19
4.1.1.2 Examens microscopiques	19
4.1.2 Conservation des souches lactiques pures	20
4.2 Recherche et isolement des germes d'altération dans cinq aliments différents	21
4.2.1 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales	21
4.2.2 Isolement et purification des bactéries d'altération	21
4.2.2.A Identification des isolats	24
4.3 L'activité antibactérienne	24
4.3.1 Méthode du cylindre d'agar	25
4.3.2 Évaluation par extraits bactériens – Méthode de diffusion par puits	26
4.4 Réalisation de la cinétique de croissance bactérienne	26
4.4.1 Test d'inhibition par la méthode du cylindre d'agar	26
5. Réalisation des prototypes	27
6. Contrôle qualité physicochimique et microbiologique des prototypes et des aliments testés	29
6.1 Préparation des échantillons	29
6.2 Analyses physicochimiques	29
6.3 Analyses microbiologiques	31
7. Caractéristiques organoleptiques des prototypes	32
7.1 Évaluation sensorielle des aliments traités par les prototypes	33
Fermaprotect	
Résultats et Discussion	36
1. Identification des souches lactiques	37
1.1 Étude morphologique	37
1.2 Identification microscopique	37
2. Identification des souches d'altération	40
2.1 Souches d'altération du camembert	40

2.2 Souches d'altération de la sardine	45
2.3 Souches d'altération de la laitue	48
2.4 Souches d'altération de la viande	51
2.5 Souches d'altération de la fraise	54
3. Activité antimicrobienne	62
3.1 Activité par culture vivante	62
4. Résultats des prototypes sur les aliments	66
4.1 Évaluation de l'efficacité des prototypes de bioconservation	68
4.1.1 Contrôle microbiologique des prototypes (Gel / Film)	68
4.1.2 Contrôle physicochimique des prototypes (Film – Gel – Poudre)	71
4.1.3 Caractéristiques organoleptiques des prototypes	74
4.2 Évaluation sensorielle des aliments traités par les prototypes	76
Fermaprotect	
5. Résultats du contrôle qualité des aliments testés par les prototypes	77
5.1 Contrôle microbiologique	77
5.2 Contrôle physicochimique	84
Conclusion	92
Références bibliographiques	96
Annexes	

Introduction

Introduction

La sécurité alimentaire constitue aujourd'hui un enjeu mondial majeur, au croisement des problématiques de santé publique, d'économie et de durabilité. Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO, 2023**), près d'un tiers des denrées alimentaires produites dans le monde sont perdues ou gaspillées chaque année, en grande partie à cause de leur détérioration microbiologique. Dans un contexte de croissance démographique et de changement climatique, la nécessité de garantir une alimentation sûre, saine et durable devient une priorité stratégique pour tous les pays, y compris l'Algérie.

Les méthodes de conservation conventionnelles, telles que la réfrigération, la pasteurisation ou l'usage de conservateurs chimiques, ont certes permis de prolonger la durée de vie des aliments, mais elles présentent plusieurs limites. En effet, les conservateurs chimiques tels que les nitrates, nitrites, benzoates ou parabènes sont de plus en plus controversés pour leurs effets potentiellement nocifs sur la santé humaine (**Carocho et al., 2019 ; Gyawali & Ibrahim, 2014**). Par ailleurs, leur utilisation excessive contribue à la résistance microbienne et à la perte de qualité sensorielle des produits alimentaires (**Pisoschi et al., 2018**).

Face à ces défis, la recherche scientifique et l'industrie agroalimentaire s'orientent désormais vers des **alternatives naturelles et durables**. Ces approches visent à réduire l'utilisation de composés chimiques tout en maintenant la sécurité microbiologique et la qualité nutritionnelle des aliments. Parmi ces stratégies, la **bioconservation** — ou conservation biologique — émerge comme une solution innovante basée sur l'utilisation de micro-organismes bénéfiques ou de leurs métabolites pour inhiber la croissance des agents d'altération et des pathogènes alimentaires (**Silva et al., 2018**).

Dans le contexte algérien, cette orientation vers des solutions naturelles présente un double intérêt : d'une part, répondre aux exigences sanitaires et environnementales actuelles ; d'autre part, **valoriser les ressources locales**, notamment la richesse de la microflore autochtone issue des fermentations traditionnelles (comme les légumes fermentés artisanalement). L'Algérie dispose en effet d'un patrimoine microbiologique encore peu exploité, qui pourrait être mis à profit pour développer des produits bioprotecteurs à haute valeur ajoutée, adaptés aux conditions climatiques et aux habitudes alimentaires locales.

Introduction

Ce travail de recherche s'inscrit ainsi dans une perspective d'**innovation durable**, visant à exploiter les bactéries lactiques isolées de matrices fermentées traditionnelles pour concevoir des **bioconservateurs naturels** aptes à prolonger la durée de conservation des aliments tout en préservant leur qualité et leur innocuité.

La détérioration des aliments constitue un défi majeur pour la chaîne agroalimentaire, tant en termes de sécurité sanitaire que d'efficacité économique. En effet, divers processus physiologiques, chimiques et microbiologiques peuvent compromettre la qualité, l'innocuité ou la fraction valorisable d'un aliment. Parmi les principales causes figurent la **contamination microbienne**, les réactions d'**oxydation** et l'**activité enzymatique** endogène ou exogène (Mafe et al., 2024). Ces phénomènes se traduisent par une altération sensorielle, un abaissement de valeur nutritionnelle, voire une inadéquation à la consommation humaine.

Concernant la contamination microbienne, les aliments sont exposés à une large gamme de micro-organismes d'altération : bactéries, levures et moisissures. Ces derniers peuvent non seulement dégrader les constituants alimentaires mais aussi produire des métabolites toxiques ou indésirables. Par exemple, dans les produits laitiers, des bactéries psychrotrophes du genre *Pseudomonas* ou des moisissures comme *Penicillium* sont régulièrement identifiées comme responsables de fromages ou laits altérés (Martin et al., 2021; Zhu et al., 2022).

De nombreux aliments sont particulièrement sensibles à l'altération : la **viande** (en raison notamment de son pH, de sa teneur élevée en eau et en protéines), le **poisson**, le **fromage**, les **fruits et légumes** à peau fine ou à haute activité enzymatique. Par exemple, dans une revue consacrée à la viande, il est indiqué que les bactéries d'altération spécifiques (« **Specific Spoilage Organisms** ») dominent le processus d'altération, entraînant des pertes de qualité organoleptique et une dégradation économique substantielle.

L'impact de ces altérations est double :

- Sur le plan économique : les pertes en termes de quantité en qualité ou quantité forment un fardeau non négligeable pour les producteurs, distributeurs et consommateurs (WFP/UNEP, 2023).

Introduction

- Sur le plan sanitaire : la détérioration peut favoriser la croissance de pathogènes ou la production de toxines, compromettant ainsi la sécurité alimentaire (**Uysal et al., 2021**).

Ainsi, l'étude approfondie des mécanismes d'altération et des micro-organismes impliqués constitue une étape essentielle pour concevoir des stratégies de conservation efficaces, économes et respectueuses de l'environnement. Dans le cadre du présent mémoire, l'accent sera mis sur la maîtrise microbiologique de ces phénomènes et sur l'évaluation de souches de bactéries lactiques comme agents de bioconservation.

Face aux pertes alimentaires massives et aux risques microbiologiques associés aux produits périssables, la recherche scientifique s'oriente vers des approches plus durables et naturelles pour prolonger la durée de conservation des denrées. Parmi ces stratégies émergentes, la **bioconservation** — ou conservation biologique — représente une alternative prometteuse aux traitements chimiques et thermiques conventionnels (**Galvez et al., 2023**).

La bioconservation peut être définie comme l'utilisation de **micro-organismes bénéfiques** (principalement des bactéries lactiques) ou de leurs **métabolites antimicrobiens naturels** (acides organiques, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, etc.) afin d'inhiber la croissance des agents pathogènes ou d'altération dans les aliments (**Settanni et Corsetti, 2022**). Contrairement aux conservateurs chimiques, ces composés naturels sont **biodégradables, non toxiques** et souvent reconnus comme sûrs (« GRAS » : **Generally Recognized As Safe**) par la FDA et l'EFSA (**Food and Drug Administration, 2022**).

Les approches de bioconservation présentent plusieurs **avantages majeurs** :

- Elles permettent de **maintenir la qualité nutritionnelle et organoleptique** des aliments.
- Elles réduisent la dépendance aux additifs chimiques et limitent les risques toxicologiques.

Introduction

- Elles peuvent être intégrées à d'autres techniques de conservation (réfrigération, emballages actifs, atmosphère modifiée) pour renforcer la sécurité microbiologique (**da Silva et al., 2021**).
- Enfin, elles s'inscrivent dans la logique de la **bio-économie circulaire**, en valorisant des souches microbiennes locales issues de sous-produits agroalimentaires.

Dans l'industrie agroalimentaire, plusieurs bioconservateurs naturels ont déjà démontré leur efficacité :

- Les **cultures protectrices** à base de *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* ou *Pediococcus acidilactici* sont utilisées pour retarder la croissance de *Listeria monocytogenes* et d'autres pathogènes dans les produits carnés ou laitiers (**Liu et al., 2023**).
- Les **bactériocines**, comme la **nisine** produite par *Lactococcus lactis*, sont approuvées comme additifs alimentaires dans plus de 50 pays pour leurs propriétés antimicrobiennes à large spectre (**EFSA, 2022**).
- Les **extraits fermentaires** de bactéries lactiques, riches en peptides antimicrobiens et acides organiques, sont également étudiés pour leur potentiel dans les produits végétaux et marins (**Wang et al., 2023**).

Dans le contexte algérien, l'application de la bioconservation revêt un intérêt particulier :

- Elle répond à la nécessité de limiter les pertes post-récolte et de **prolonger la durée de vie des aliments** dans un climat chaud propice à la prolifération microbienne.
- Elle permet de **valoriser la microflore autochtone** issue des fermentations artisanales, telles que celles des légumes, des produits laitiers ou des poissons fermentés.
- Enfin, elle constitue une **voie durable d'innovation agroalimentaire**, combinant sécurité sanitaire, économie locale et respect de l'environnement.

Introduction

Les **bactéries lactiques (BL)** représentent un groupe de micro-organismes Gram positifs, non sporulés, anaérobies aérotolestants, caractérisés par leur capacité à fermenter les sucres pour produire principalement de l'**acide lactique**. Elles appartiennent à plusieurs genres, dont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Weissella* (Zheng et al., 2020). Ces bactéries se retrouvent naturellement dans divers environnements : lait, produits fermentés, viandes, poissons, fruits, légumes, ainsi que dans le microbiote intestinal de l'homme et des animaux.

Leur aptitude à coloniser des milieux variés est liée à leur **résistance physiologique** et à leur **capacité métabolique diversifiée**, leur permettant d'utiliser différents substrats carbonés et d'adapter leur métabolisme selon les conditions environnementales (Garcia et al., 2023).

Sur le plan technologique, les BL sont au cœur de nombreuses fermentations alimentaires traditionnelles et industrielles. Elles assurent :

- La **production d'acides organiques** abaissant le pH et assurant la conservation des produits.
- La **synthèse d'arômes**, de composés volatils et de polysaccharides contribuant à la texture et aux qualités sensorielles.
- Le **renforcement de la stabilité microbiologique** grâce à la compétition avec la flore d'altération.

Ainsi, elles sont largement utilisées dans la production de **yaourts, fromages, légumes lactofermentés, saucissons fermentés, produits à base de poisson ou de céréales** (Leroy & De Vuyst, 2020). Dans le contexte algérien, leur usage traditionnel dans les fermentations artisanales (lait caillé, légumes salés, olives, etc.) représente une source importante de biodiversité microbienne à valoriser.

Les bactéries lactiques produisent une grande variété de **métabolites bioactifs** jouant un rôle crucial dans la bioconservation :

- **Acides organiques** (lactique, acétique, formique) abaissant le pH et déstabilisant les membranes microbiennes.

Introduction

- **Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)**, qui oxyde les lipides et les protéines bactériennes.
- **Diacétyl**, conférant une activité antifongique et antibactérienne.
- **Bactériocines**, peptides antimicrobiens ribosomaux capables d'inhiber spécifiquement des bactéries proches, y compris des pathogènes comme *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella spp.* (Silva et al., 2023).

Ces métabolites contribuent à la **sécurité microbiologique naturelle** des aliments fermentés et justifient leur emploi comme **agents de bioprotection**.

L'activité antimicrobienne des BL repose sur plusieurs mécanismes complémentaires :

- **Compétition nutritionnelle** : consommation rapide des sucres et des nutriments limitant la croissance d'autres micro-organismes.
- **Production d'acides** entraînant une acidification du milieu et une dénaturation des protéines des bactéries concurrentes.
- **Perturbation de la membrane cellulaire** des pathogènes par les bactériocines et le peroxyde d'hydrogène.
- **Formation de biofilms protecteurs**, limitant l'adhésion d'espèces d'altération.

Ces propriétés expliquent pourquoi certaines souches lactiques sont aujourd'hui qualifiées de “**cultures protectrices**” et sont utilisées dans les industries laitière, carnée et végétale (Allouche et al., 2023).

Les applications industrielles des BL en tant qu'agents bioconservateurs se multiplient.

- Dans les **produits carnés**, des souches de *Lactobacillus sakei* et *Pediococcus pentosaceus* sont utilisées pour inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes*.

Introduction

- Dans les **produits laitiers**, *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* préviennent la détérioration due aux *Pseudomonas* et aux levures.
- Dans les **produits végétaux**, *Lactiplantibacillus plantarum* prolonge la conservation des fruits et légumes frais (Cruz et al., 2022).

Ces résultats confirment l'importance des bactéries lactiques non seulement comme agents fermentaires, mais aussi comme **solutions biotechnologiques naturelles** de préservation des aliments.

L'évolution de la recherche en biotechnologie alimentaire a permis de dépasser la simple utilisation de cultures lactiques vivantes pour la bioconservation, en explorant de nouvelles **formes galéniques** et **matrices bioactives**. Les composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques peuvent désormais être **immobilisés, encapsulés ou incorporés** dans des supports polymériques naturels pour former des **gels, films comestibles, poudres ou enrobages protecteurs** (Fadlaoui et al., 2023). Ces formulations visent à assurer une **libération contrôlée et prolongée** des métabolites antimicrobiens au contact de l'aliment, améliorant ainsi leur efficacité et leur stabilité.

Les films et gels biodégradables, souvent constitués de **biopolymères naturels** tels que l'amidon, la gélatine, la pectine, la cellulose ou la chitine, sont reconnus pour leur compatibilité écologique et leur rôle actif dans la **réduction des déchets plastiques** (Otoni et al., 2021). L'incorporation de bactéries lactiques vivantes ou d'extraits fermentaires dans ces matrices confère à ces matériaux des propriétés **antimicrobiennes** et **antioxydantes**, transformant les emballages passifs en **systèmes actifs de protection des aliments** (Ponce et al., 2022).

Dans le cadre de cette étude, plusieurs prototypes de bioconservateurs ont été développés :

1. **Film biodégradable à base de bactéries lactiques,**
2. **Gel antimicrobien,**
3. **Poudre active** obtenue par séchage,

Introduction

4. **Enrobage protecteur** pour aliments.

Chacun de ces prototypes a fait l'objet d'un **contrôle de qualité approfondi** incluant :

- une **analyse physicochimique** (pH, humidité, texture, intégrité du support),
- un **contrôle microbiologique** (pureté, viabilité des bactéries lactiques, absence de contaminants),
- et une évaluation de l'**activité antibactérienne** de l'extrait fermentaire.

Ces paramètres sont essentiels pour garantir la performance et la sécurité d'emploi des bioconservateurs naturels (**Kavoosi et al., 2022**).

L'efficacité antimicrobienne des prototypes a été évaluée à travers l'approche :

1. L'**activité antibactérienne in vitro** mesurée par la méthode de diffusion en gélose, mettant en évidence les zones d'inhibition autour des souches productrices ou de leurs extraits.

Ces tests permettent de comparer la puissance des différents prototypes et d'optimiser la formulation du bioconservateur final.

Le choix des aliments pour tester les bioconservateurs a été effectué selon leur **taux de périssabilité** et leur **importance dans le régime alimentaire algérien** :

- **Viande hachée et sardines** : riches en protéines, rapidement altérables à température ambiante, souvent associées à des contaminations par *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* et *Listeria*.
- **Camembert** : produit laitier à pâte molle, sensible à la flore psychrotrophe et fongique.
- **Laitue (salade)** : aliment frais consommé cru, exposé à des contaminations d'origine fécale.
- **Fraise et raisin** : fruits à haute teneur en eau et en sucres, favorables au développement des moisissures et levures.

Introduction

Ces matrices alimentaires représentent des **modèles pertinents** pour évaluer la performance des bioconservateurs, car elles couvrent différentes **natures de substrats** (protéiques, lipidiques et glucidiques) et conditions de conservation.

Le développement de bioconservateurs naturels s'inscrit dans la dynamique mondiale de la **bioéconomie verte**. Ces technologies, à la fois **écologiques** et **économiquement viables**, peuvent contribuer à réduire les pertes post-récolte, à prolonger la durée de vie des produits alimentaires et à limiter la dépendance aux additifs de synthèse. Le projet **Fermaprotect**, porté par cette recherche, illustre cette approche intégrée : valoriser des souches locales de bactéries lactiques issues de légumes fermentés pour élaborer des bioconservateurs **sains, sûrs et biodégradables**, répondant aux besoins du marché algérien et maghrébin.

La demande croissante des consommateurs pour des aliments **sains, naturels et sans additifs chimiques** conduit aujourd'hui à une profonde transformation des pratiques de conservation dans le secteur agroalimentaire. Cette évolution pose une question essentielle :

Comment remplacer les conservateurs de synthèse par des solutions biologiques sûres, efficaces et adaptées aux conditions locales ?

Dans ce contexte, les **bactéries lactiques**, connues pour leur capacité à produire une diversité de métabolites antimicrobiens, apparaissent comme une **alternative prometteuse** pour assurer la bioprotection des aliments périssables. Cependant, leur efficacité dépend de plusieurs facteurs : la nature de la souche, la matrice alimentaire, les conditions environnementales et la stabilité des composés bioactifs (**Santos et al., 2023**).

En Algérie, malgré l'abondance de produits fermentés traditionnels riches en microflore lactique, **peu d'études appliquées** ont été menées pour valoriser ces souches locales dans des formulations bioconservatrices modernes. Cette lacune scientifique et technologique justifie la nécessité de travaux intégrant **isolation, identification, évaluation et formulation** de souches lactiques dans des systèmes de conservation innovants.

Introduction

Les bactéries lactiques utilisées dans cette étude ne constituent pas de nouvelles isolations, mais proviennent de souches précédemment isolées à partir de légumes fermentés artisanaux et conservées au laboratoire. Ces souches avaient déjà fait l'objet d'une première caractérisation physiologique et technologique, notamment en ce qui concerne leurs propriétés probiotiques potentielles telles que la résistance à l'acidité, la tolérance aux sels biliaires, l'adhésion cellulaire, ainsi que leurs activités enzymatiques et antimicrobiennes.

Dans le cadre du présent travail, ces souches ont été **repiquées après conservation, purifiées à nouveau** afin d'assurer la viabilité et la stabilité des cultures, puis **réutilisées pour l'évaluation de leur activité antimicrobienne**. Cette étape visait à confirmer leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis de différentes souches pathogènes et d'altération, et à sélectionner les souches les plus performantes pour leur incorporation dans les prototypes de bioconservateurs naturels (gel, film biodégradable, poudre et boîte avec revêtement).

Ainsi, le travail expérimental s'inscrit dans la continuité des recherches antérieures sur la **valorisation des bactéries lactiques autochtones** issues des fermentations traditionnelles, en vue de leur application concrète dans la **bioconservation des aliments périssables**.

La problématique centrale de cette recherche peut être formulée comme suit : **Comment valoriser les bactéries lactiques isolées à partir de légumes fermentés artisanaux comme agents de bioconservation naturels et efficaces pour la préservation de différents aliments ?**

Pour répondre à cette question, l'étude a eu pour but de **concevoir et d'évaluer des prototypes de bioconservateurs naturels** à base de bactéries lactiques locales, capables d'inhiber les micro-organismes d'altération dans divers aliments périssables.

Les **objectifs spécifiques** du travail sont les suivants :

1. Isoler et identifier les souches de bactéries lactiques à partir de légumes fermentés artisanaux.

Introduction

2. Caractériser les souches sélectionnées sur le plan morphologique, et microscopique.
3. Évaluer l'activité antibactérienne des souches par différentes méthodes (cylindre d'agar, disques, extraits fermentaires).
4. Formuler différents prototypes de bioconservateurs (gel, film biodégradable, poudre et enrobage).
5. Effectuer des contrôles de qualité physicochimiques et microbiologiques sur les prototypes et sur les aliments traités.
6. Tester l'efficacité de conservation sur plusieurs matrices alimentaires représentatives : viande, poisson, laitue, camembert, fraise et raisin.

Cette étude vise à apporter une **contribution scientifique et appliquée** à la valorisation de la biodiversité microbienne locale en Algérie. Elle combine la **microbiologie appliquée**, la **biotechnologie alimentaire** et la **science des matériaux biodégradables** pour proposer une solution écologique aux problèmes de conservation des denrées périssables. Le projet s'inscrit dans une logique de **bio-innovation** à double impact :

- **Scientifique**, par la caractérisation de souches locales de bactéries lactiques et la mise en évidence de leur potentiel bioprotecteur.
- **Socio-économique**, par la création de produits naturels, sûrs et respectueux de l'environnement, valorisant les ressources locales et contribuant à la sécurité alimentaire nationale.

Enfin, cette approche innovante ouvre la voie à un développement industriel sous forme de **startup agro-biotechnologique**, tel que le projet *Fermaprotect*, visant la production de bioconservateurs algériens compétitifs pour le marché national et maghrébin.

Ce travail vise ainsi à apporter une contribution scientifique et appliquée à la promotion d'une bioconservation durable, respectueuse de la santé humaine et de l'environnement, à travers la valorisation des bactéries lactiques autochtones.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. L'objectif

- L'objectif principal de ce travail est la mise au point d'un bioconservateur naturel à base de bactéries lactiques, isolées à partir de légumes fermentés de manière artisanale. Cette étude s'inscrit dans une perspective de valorisation des ressources microbiennes indigènes, en vue de développer des solutions alternatives aux conservateurs chimiques classiquement utilisés dans l'industrie agroalimentaire.
- Le projet vise, d'une part, à sélectionner et caractériser des souches de bactéries lactiques présentant une activité antimicrobienne intéressante, et d'autre part, à formuler un prototype de bioconservateur permettant de prolonger la durée de conservation des aliments tout en garantissant leur sécurité microbiologique.
- À travers cette démarche, notre objectif est également de contribuer à la promotion de méthodes de conservation durables, naturelles et économiquement accessibles, particulièrement adaptées au contexte local.

2. Date et lieu de travail

Le présent travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie appliquée de l'Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi – Tébessa, durant la période allant de **février à novembre 2025**.

3. Matériel et produits utilisés

Dans le cadre de cette étude, un ensemble varié de matériel, d'appareillages et de milieux de culture a été utilisé afin d'assurer l'isolement, la purification et la caractérisation des souches de bactéries lactiques ainsi que des micro-organismes d'altération. L'ensemble des manipulations microbiologiques a été réalisé dans des conditions aseptiques, en utilisant des équipements adaptés et des milieux sélectifs ou non sélectifs selon les besoins expérimentaux. Le tableau ci-dessous présente la liste détaillée du matériel, de l'appareillage et des produits employés tout au long des analyses.

Matériel et méthodes

Tableau 01 : Liste du matériel, appareillage et produits utilisés

Verreries et consommables	Appareillages	Produits et milieux
Boîtes de Pétri		Milieux MRS (liquide et solide)
Flacons	Agitateur magnétique	MH liquide et solide
Tubes à essai	Stérilisateur	MacConkey
Lames et lamelles	Hotte à flux laminaire (UV)	Hektoen
Pipettes Pasteur	Autoclave	SS
Micropipettes	Étuve	Chapman
Pointes stériles (bleues et jaunes)	Bain-marie	VRBL
Écouvillons	Bec Bunsen	GN
Spatules	Microscope optique	BN
Seringues jetables	Balance électronique	Beard Parker
Pinces	Réfrigérateur	Violet de gentiane
Barreaux aimantés		Rose de Fuschine
		Lugol
		Eau peptonée tamponnée
		Tryptone
		NaCl
		Alun de fer
		Éthanol
		Alcool 70 %

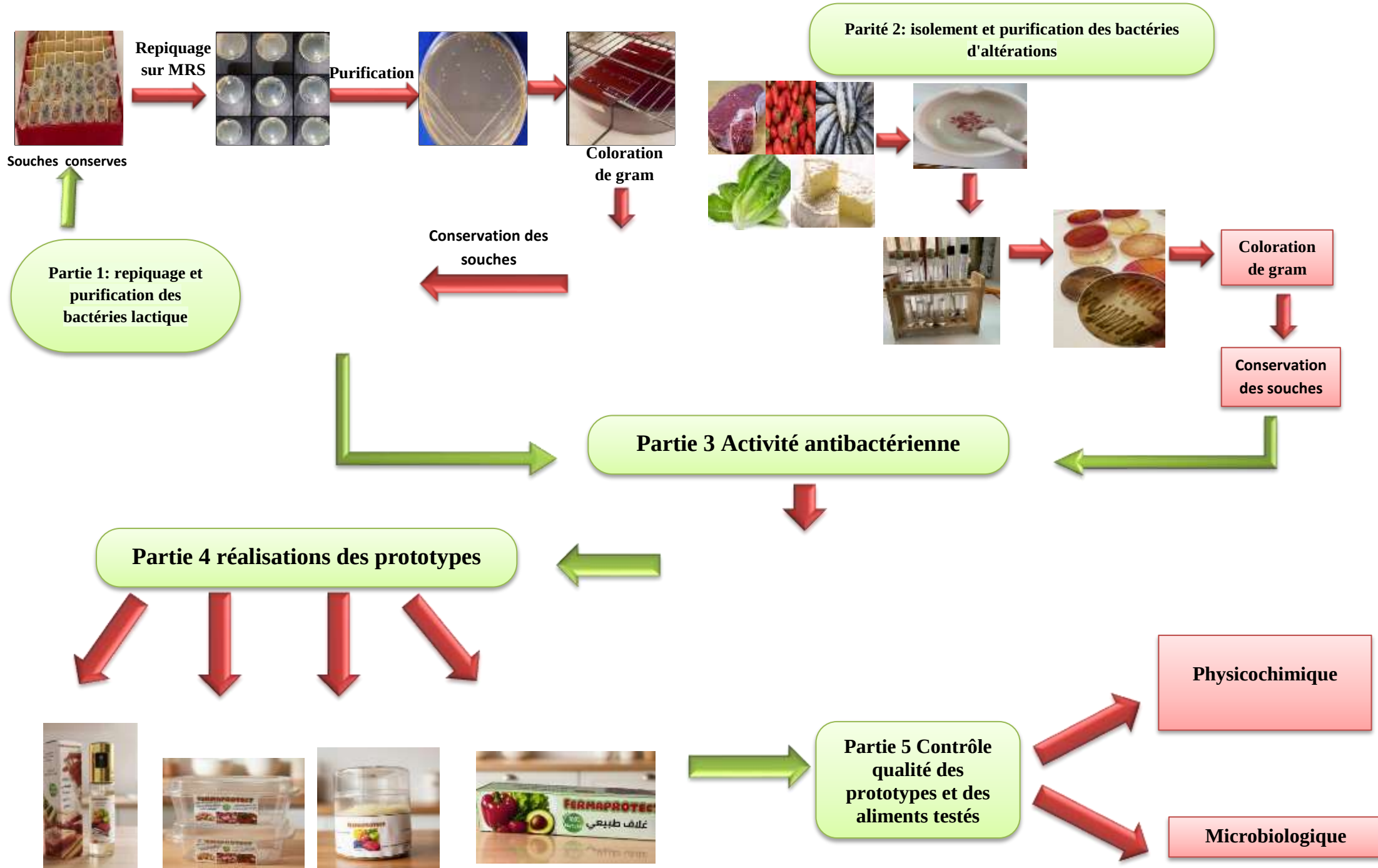
Matériel et méthodes

4. Protocole expérimental

Le schéma ci-dessous illustre de manière synthétique les différentes étapes expérimentales réalisées au cours de ce travail. Il présente le déroulement général depuis le repiquage souches de bactéries lactiques et des germes d'altération, jusqu'à l'évaluation de leur activité antibactérienne.

Par la suite, les quatre prototypes de bioconservateurs naturels (gel, film, poudre et boîte avec revêtement) ont été formulés à partir des souches sélectionnées, puis appliqués à divers aliments modèles.

Enfin, un contrôle de qualité complet, à la fois physicochimique et microbiologique, et organoleptiques a été effectué sur les prototypes et sur les aliments traités et non traité , afin d'évaluer l'efficacité bioprotectrice et la stabilité des formulations développée



Matériel et méthodes

Les bactéries lactiques utilisées dans cette étude ne constituent pas de nouvelles isolations, mais proviennent de souches précédemment isolées et identifiées à partir de légumes fermentés artisanaux et conservées au laboratoire par Dr. Metrouh Roumaïssa. Ces souches avaient déjà fait l'objet d'une première caractérisation physiologique et technologique, notamment en ce qui concerne leurs propriétés probiotiques potentielles telles que la résistance à l'acidité, la tolérance aux sels biliaires, l'adhésion cellulaire, ainsi que leurs activités enzymatiques et antimicrobiennes.

Dans le cadre du présent travail, ces souches ont été repiquées après conservation, purifiées à nouveau afin d'assurer la viabilité et la stabilité des cultures, puis réutilisées pour l'évaluation de leur activité antimicrobienne. Cette étape visait à confirmer leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis de différentes souches pathogènes et d'altération, et à sélectionner les souches les plus performantes pour l'incorporation dans les prototypes de bioconservateurs (gel, film, poudre et boîte à revêtement).

4.1 Repiquage et purification des souches lactiques conservées

Un total de **vingt-six souches de bactéries lactiques** conservées depuis mars 2023 a été réactivé pour les étapes expérimentales. Cette réactivation s'est déroulée en deux phases principales :

a) Enrichissement en MRS liquide

Chaque souche a été réactivée dans du milieu **MRS liquide**, incubée à **30 °C pendant 24 heures**, afin de stimuler une croissance optimale des bactéries lactiques dans un environnement sélectif (**Harrigan & McCance, 2014**)

b) Isolement par stries en séries sur gélose MRS solide

Après incubation, les cultures ont été étalées sur gélose MRS en utilisant la **technique des stries en série** pour obtenir des colonies isolées (technique classique en microbiologie). Les colonies aux caractéristiques morphologiques typiques de LAB (taille, forme, couleur, aspect mucoïde éventuel) ont été sélectionnées (**Harrigan et al., 1998 ; Lagier et al., 2015**)

c) Purification par repiquages successifs

Les colonies sélectionnées ont subi **plusieurs repiquages successifs** sur gélose MRS jusqu'à obtention de cultures pures. Ce procédé de purification

Matériel et méthodes

garantit une homogénéité morphologique (forme, couleur, taille) et physiologique des souches (pureté confirmée) (**Batdorj et al., 2006**)

d) **Vérification de la pureté**

La pureté a été confirmée par :

- **Observation macroscopique** des colonies (homogénéité de l'aspect, absence de variations morphologiques).
- **Examen microscopique**, notamment coloration de Gram, afin de vérifier la morphologie cellulaire typique des bactéries lactiques : Gram positif, souvent en bâtonnets ou cocciodes selon les genres (Bergey's Manual ; comparaison générique) (**Harrigan & McCance, 2014**)

4.1.1. Identification des isolats

L'identification des bactéries lactiques isolées repose sur l'analyse de leurs caractéristiques morphologiques, à la fois macroscopiques et microscopiques, conformément aux méthodes de référence en microbiologie alimentaire.

4.1.1.1 Examens macroscopiques

L'examen macroscopique des colonies cultivées sur gélose MRS permet de décrire des critères essentiels tels que la **taille**, la **forme**, la **couleur** et l'aspect de surface (lisse, granuleux, mucoïde). Ces paramètres sont reconnus comme indicateurs fiables des caractéristiques spécifiques aux bactéries lactiques (**Guiraud, 2003**). Des colonies homogènes en apparence sont considérées comme issues d'une même souche.

4.1.1.2 Examens microscopiques

Un examen microscopique est ensuite réalisé à l'aide d'une **coloration de Gram**, afin de déterminer la **morphologie cellulaire** (coques ou bacilles), leur arrangement (en paires, chaînes, amas) et la réaction Gram-positif caractéristique des LAB (*Lactobacillales*). La forme coccoïde ou bacillaire, alignée avec une coloration Gram-positif, oriente vers une identification initiale au niveau du genre.

A. Coloration de Gram

A.1.

Principe

La coloration de Gram est une technique différentielle essentielle qui permet de distinguer les bactéries Gram-positives des bactéries Gram-négatives. Les bactéries

Matériel et méthodes

Gram-positives retiennent le colorant primaire (violet de cristal) et apparaissent violettes après décoloration à l'alcool, tandis que les Gram-négatives sont contre-colorées en rose. Cette méthode permet également d'évaluer la morphologie et le regroupement cellulaires (cocci, bâtonnets, chaînettes, amas), des critères fondamentaux pour l'identification préliminaire des bactéries lactiques (BL)

A.2. Mode opératoire

1. Préparation d'un frottis bactérien à partir d'une colonie fraîche sur une lame propre et stérile.
2. Séchage à l'air libre puis fixation à la chaleur.
3. Coloration primaire au violet de cristal (1 min), rinçage, puis application de lugol (1 min).
4. Décoloration à l'alcool-acétone (quelques secondes) jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper.
5. Contre-coloration avec safranine ou fuch sine (30 s), rinçage, séchage et observation au microscope à immersion à 100×.
6. Les **cellules Gram-positives** apparaissent violettes, les **Gram-négatives** roses ; de plus, l'architecture cellulaire (bâtonnets, chaînettes, amas) est notée pour compléter l'identification (AvniKırmacı et al., 2016)

4.1.2. Conservation des souches lactiques pures

Afin de préserver la viabilité et les propriétés fonctionnelles des souches lactiques isolées, une méthode de conservation à long terme a été adoptée. Elle consiste à stocker les cultures dans un cryoprotecteur à base de glycérol, à très basse température.

Après incubation des isolats dans un bouillon MRS liquide, un volume de **750 µL** de culture bactérienne est prélevé à l'aide d'une micropipette stérile, puis mélangé soigneusement avec **250 µL** de glycérol stérile (à 80 % v/v) dans un **tube Eppendorf stérile**. Le mélange est ensuite homogénéisé délicatement et placé immédiatement dans un **congélateur à -80 °C**.

Matériel et méthodes

Cette méthode est largement reconnue pour sa capacité à **maintenir la viabilité cellulaire**, la stabilité génétique et les caractéristiques phénotypiques des bactéries lactiques sur une longue durée. Le glycérol agit ici comme **agent cryoprotecteur**, en empêchant la formation de cristaux de glace intracellulaires susceptibles d'endommager les membranes cellulaires (**Baust&Baust, 2021**).

La congélation à **-80 °C** est actuellement l'une des pratiques standard en microbiologie pour le **stockage des cultures pures**, notamment dans les banques de souches et les laboratoires de recherche (**Zhang et al., 2020 ; Baust&Baust, 2021**).

4.2 Recherche et isolement des germes d'altération dans cinq aliments différents

L'isolement des germes responsables de l'altération a été réalisé sur cinq matrices alimentaires distinctes : **salade, viande, fraise, sardine et fromage Camembert**. Deux points temporels ont été considérés : **au jour 0** (immédiatement après préparation) et **après 15 jours** de stockage. Le protocole suivi est conforme à la pratique standard en microbiologie alimentaire.

4.2.1 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

1. Suspension initiale (solution mère)

Pour chaque aliment, **10 g** ont été broyés dans **100 mL d'eau peptonée stérile**, puis homogénéisés de manière soigneuse afin d'assurer une suspension homogène.

2. Série de dilutions décimales

Des dilutions successives ont été préparées selon la méthode classique des dilutions décimales :

- Prélèvement de **1 mL** de la suspension mère transféré dans un tube contenant **9 mL** de diluant stérile.
- Homogénéisation par vortex puis transfert de **1 mL** dans le tube suivant, répété jusqu'à une dilution de **10⁻⁴**.

Ce protocole permet une quantification précise des germes d'altération potentiels et suit les normes de microbiologie quantitative en alimentation (**Elissa et al., 2019 ; El Ahmadi et al., 2025**)

4.2.2. Isolement et purification des bactéries d'altérations

Matériel et méthodes

L'ensemencement a été réalisé à partir des dilutions 10^{-3} et 10^{-4} préparées à partir des aliments étudiés. Tous les milieux gélosés ont été ensemencés selon la méthode de **stries en surface (streak plate method)** afin d'obtenir des colonies isolées et de faciliter l'identification des micro-organismes.

Les bactéries d'altération visées ont été cultivées sur des milieux de culture sélectifs ou différentiels appropriés selon la typologie suivante :

Tableau 2 : Milieux spécifiques de chaque bactérie

Groupe bactérien	Milieu de culture	Méthode d'ensemencement	Conditions d'incubation
Coliformes totaux	Gélose VRBL	Ensemencement en surface	30–37°C / 24h
Coliformes fécaux	Gélose VRBL	Ensemencement en surface	44°C / 24h
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gélose Chapman, Baird-Parker	Ensemencement en surface	37°C / 24–48h
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	Milieu VF (Viande Foie)	Piqûre en tube ou en surface	37°C / 24–48h (anaérobiose)
<i>Salmonella spp.</i>	Bouillon peptone, gélose Hektoen, gélose SS	Enrichissement + ensemencement	37°C / 24–48h
Flore mésophile aérobie totale (FMAT)	Gélose nutritive (GN)	Ensemencement en surface	30°C / 72h

a. Isolement des *Clostridium sulfito-réducteurs*

Deux formes d'ensemencement ont été adoptées selon le type de condition :

- **En tube (milieu VF) :**
 - Piqûre centrale à l'aide d'une anse droite stérile.
 - Recouvrement du milieu par une couche de paraffine ou d'huile de vaseline stérile pour créer un environnement anaérobie.

Matériel et méthodes

- **En boîtes de Petri (milieu VF gélifié) :**
 - Ensemencement en surface.
 - Application d'une fine couche d'huile de vaseline.
 - Incubation en jarre anaérobie à 37°C pendant 24–72h.
- **Isolement des *Salmonella* spp.**

La recherche de *Salmonella* s'est déroulée en deux étapes :

1. Étape d'enrichissement :

- Incubation dans **bouillon peptone** à 37°C pendant 24h pour favoriser la croissance des *Salmonella*.

2. Isolement sur milieux sélectifs :

- **Gélose Hektoen** : identification par formation de colonies noires (production de H₂S).
- **Gélose SS (*Salmonella*–*Shigella*)** : détection spécifique par des colonies noires caractéristiques.

Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

c. Isolement de *Staphylococcus aureus*

- Ensemencement en surface sur **gélose Baird-Parker**.
- Incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.
- Les colonies caractéristiques sont de couleur noire à halo clair, dues à la réduction du tellurite et à la production de lécithinase.

d. Coliformes totaux et fécaux

- Milieu utilisé : **Gélose VRBL (Violet Red Bile Lactose)**.
- **Coliformes totaux** : incubation à 30–37°C pendant 24h.
- **Coliformes fécaux** : incubation à 44°C pendant 24h.

Les colonies typiques apparaissent rouges à centre foncé.

Matériel et méthodes

e. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

- Ensemencement sur **gélose nutritive (GN)**.
- Incubation à **30°C pendant 72h**.
- Ce groupe de micro-organismes est considéré comme indicateur de la qualité hygiénique globale des aliments (**Brunet et al., 2018**).

4.2.2. A. Identification des isolats

L'identification des bactéries isolées à partir des milieux spécifiques se fait en plusieurs étapes : purification, examen macroscopique, et examen microscopique.

4.2.2. A.1. Purification et examens macroscopiques

La purification des isolats est réalisée par repiquages successifs sur les milieux de culture spécifiques afin d'obtenir des souches pures. Une souche est considérée comme pure lorsque toutes les colonies observées présentent une morphologie identique.

L'examen macroscopique permet d'observer les caractéristiques des colonies cultivées sur gélose : forme, taille, bord, relief, texture, opacité et couleur. Ces critères orientent vers une première hypothèse d'identification (**Prescott et al., 2002 ; Madigan et al., 2018**).

4.2.2. A.2. Examen microscopique (Coloration de Gram)

Les colonies purifiées sont ensuite soumises à une coloration de Gram pour distinguer les bactéries à Gram positif des bactéries à Gram négatif et pour déterminer la morphologie cellulaire (cocci, bacilles) et leur arrangement (en chaînes, amas, etc.). La coloration de Gram repose sur la capacité des bactéries à retenir le cristal violet en fonction de la structure de leur paroi cellulaire. Les bactéries Gram positives apparaissent violettes, tandis que les Gram négatives apparaissent roses après la contre-coloration à la safranine (**Beveridge, 2001**).

Après l'isolement et l'identification préliminaire des souches responsables de l'altération des aliments, celles-ci sont conservées dans des conditions adéquates afin de maintenir leur viabilité et leur stabilité génétique pour des analyses ultérieures.

4.3. L'activité antibactérienne

Matériel et méthodes

L'évaluation de l'activité antibactérienne des souches lactiques isolées a été réalisée selon deux approches complémentaires : la culture vivante par la méthode du cylindre d'agar et les extraits bactériens par la méthode de diffusion par puits (**Kociubinski et al., 1996 ; Settanni&Corsetti, 2008**).

4.3.1 Méthode du cylindre d'agar

Les milieux utilisés sont le Mueller-Hinton (MH) et l'eau physiologique stérile. Tout le matériel (embouts jaunes/bleus, écouvillons, cure-dents, tubes à essai) a été stérilisé à l'autoclave à 100 °C pendant 20 à 30 minutes selon le type d'équipement (**Daba et al., 2008**).avec modification

Un total de 19 souches lactiques productrices a été testé contre 16 souches pathogènes indicatrices selon le protocole suivant :

- **Activation des souches lactiques** : enrichies dans du bouillon MRS liquide à 30 °C pendant 24 h, puis ensemencées sur gélose MRS (stries ou nappe) pour obtenir une culture bien développée (**Soomro et al., 2002**).
- **Enrichissement des souches pathogènes** : cultivées dans un bouillon BN liquide à 37 °C pendant 24 h, puis repiquées sur leurs milieux spécifiques 24 h avant le test.
- **Préparation des suspensions des souches indicatrices** : chaque souche indicatrice est suspendue dans environ 2 mL d'eau physiologique stérile à partir d'une colonie isolée pour former l'inoculum test.
- **Préparation des cylindres d'agar** : à l'aide d'un emporte-pièce stérile ($\approx 6-8$ mm), des cylindres d'agar contenant la souche lactique sont prélevés à partir de la gélose MRS.
- **Mise en contact** : les cylindres sont déposés délicatement sur la gélose MH inoculée avec la souche pathogène. Les boîtes sont incubées à 30–37 °C pendant 24–48 h.
- **Interprétation** : l'inhibition de la croissance est évaluée en mesurant le diamètre (en mm) des zones claires autour des cylindres d'agar : plus le halo est large, plus l'activité antibactérienne est forte (**Kociubinski et al., 1996**).

Matériel et méthodes

4.3.2 Évaluation par extraits bactériens — méthode de diffusion par puits

Douze souches productrices ayant montré une activité en culture vivante ont été sélectionnées pour test en phase acellulaire :

- **Préparation des extraits** : cultures lactiques incubées dans MRS liquide à 30–37 °C pendant 24 h. Ensuite, centrifugation à 4 000–6 000 rpm pendant 10–15 min, récupération du surnageant, puis filtration à 0,22 µm pour éliminer les cellules bactériennes (Yang et al., 2012 ; Callewaert et al., 2021).
- **Préparation des puits** : sur gélose MH inoculée avec la souche indicatrice, des puits de 6 mm de diamètre sont créés à l'aide d'un emporte-pièce stérile, chaque puits reçoit 10 µL d'extrait bactérien stérile.
- **Incubation** : température : 37 °C, durée : 24 h.
- **Lecture des résultats** : mesure des diamètres d'inhibition autour des puits : les halos clairs indiquent la diffusion de métabolites antibactériens tels que les bactériocines ou acides organiques (Zacharof&Lovitt, 2012 ; O'Shea et al., 2012).
- « L'analyse graphique a été réalisée à l'aide de **Google Colaboratory (Python 3.9)** en utilisant les bibliothèques **Pandas, NumPy et Matplotlib** pour le traitement statistique et la visualisation des résultats. »

4.4. La réalisation de la cinétique de croissance bactérienne

Afin d'évaluer l'effet inhibiteur des souches lactiques sur les bactéries pathogènes au cours du temps, une étude cinétique a été menée en combinant plusieurs approches analytiques.

4.4.1. Test d'inhibition par la méthode du cylindre d'agar

Des cylindres d'agar contenant les souches lactiques ont été mis en contact avec des cultures fraîches de pathogènes étalées sur gélose Mueller-Hinton. L'incubation a eu lieu à 37 °C pendant 24 à 48 h. La mesure des halos d'inhibition a permis de déterminer l'activité antibactérienne en fonction du temps. Cette méthode est largement utilisée pour l'évaluation de la production de bactériocines (Kociubinski et al., 1996 ; Yang et al., 2012).

Matériel et méthodes

Les cinétiques de croissance bactérienne ont été suivies par mesure de la densité optique (DO) à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Des lectures ont été effectuées toutes les 2 à 3 heures pendant 24 h afin de tracer les courbes de croissance bactérienne, permettant d'observer l'effet inhibiteur des extraits lactiques (**Ben Braïek&Smaoui, 2019**).

5. Réalisation des prototypes

À partir des extraits antibactériens produits par les bactéries lactiques sélectionnées, plusieurs formes galéniques de **bioconservateurs** ont été élaborées. Ces prototypes visent à démontrer l'applicabilité des métabolites bactériens dans des systèmes de conservation alimentaires pratiques, innovants et respectueux de l'environnement.

5.1. Bioconservateur sous forme de film biodégradable

Un film alimentaire actif a été développé à base de polymères naturels, incorporant les extraits lactiques. Ce type de film permet la libération progressive des composés antimicrobiens en surface des aliments, prolongeant leur durée de conservation (**Fouad et al., 2021 ; De Oliveira et al., 2022**). La méthode consiste à mélanger les polymères avec les extraits, couler la solution sur une plaque, puis sécher à température contrôlée.

5.2. Bioconservateur sous forme de gel

Un gel antimicrobien a été formulé en utilisant des agents gélifiants naturels, enrichi avec des extraits lactiques. Ce format est adapté à l'application en surface sur les produits frais (viandes, fromages, fruits) pour former une barrière protectrice. Ce type de gel permet également une bonne stabilité des métabolites actifs (**Kang et al., 2020**).

5.3. Bioconservateur sous forme de poudre

Par lyophilisation (séchage à froid), les extraits bactériens ont été transformés en poudre fine, stable et facile à intégrer dans les formulations alimentaires ou à saupoudrer sur les aliments. Cette forme présente l'avantage d'une longue durée de conservation et d'une facilité d'usage industrielle (**Zhou et al., 2021**). La poudre peut également être incorporée dans des matrices alimentaires (sauces, marinades).

Matériel et méthodes

5.4. Boîte alimentaire enrobée d'agent bioconservateur

Un enrobage actif a été appliqué sur des matériaux d'emballage alimentaires à base d'un mélange d'extraits lactiques et de polymères naturels. Cette approche transforme le contenant en un support de bioconservation, limitant la prolifération microbienne au contact des aliments (**Valdés et al., 2017**). Elle permet d'envisager une application industrielle écologique et sans additifs chimiques.

Dans le cadre de la réalisation des prototypes et afin d'évaluer leur potentiel d'acceptation sur le marché, une enquête de terrain a été menée auprès de **72 participants**. L'objectif principal de ce questionnaire était de collecter des données réelles permettant d'orienter le développement des prototypes naturels de bioconservation (gel, film, poudre et boîte), ainsi que d'appuyer scientifiquement le projet de startup associé. Les résultats dans **l'annexe 1**

L'enquête a exploré plusieurs dimensions essentielles :

- **Le niveau de connaissance des consommateurs concernant les risques liés aux conservateurs chimiques** utilisés dans les aliments.
- **L'intérêt porté aux alternatives naturelles** basées sur les bactéries lactiques et les extraits antimicrobiens.
- **La disposition à tester les produits naturels proposés** (gel, film, boîte, poudre) et **la forme préférée** selon les usages alimentaires.
- **Le comportement d'achat**, incluant la confiance perçue, les critères de décision et **la volonté de payer** pour un produit de bioconservation naturel et sûr.
- **Les usages potentiels**, en précisant les types d'aliments sur lesquels les répondants seraient prêts à utiliser ces prototypes (viande, charcuterie, fruits, légumes, fromages, poissons...).
- **Des questions destinées aux professionnels** (transformateurs, restaurateurs, commerçants) afin de connaître leurs besoins, contraintes et attentes envers les solutions de conservation naturelle.
- **Les canaux de communication préférés**, permettant d'identifier les moyens les plus efficaces pour diffuser et promouvoir les produits Fermaprotect.

Matériel et méthodes

6. Contrôle qualité physicochimique et microbiologique des prototypes et des aliments testés

L'évaluation de la qualité physicochimique et microbiologique a été réalisée sur l'ensemble des échantillons alimentaires traités par les prototypes à base de bactéries lactiques (film biodégradable, gel, poudre et enrobage de boîte) ainsi que sur les témoins non traités. Les matrices étudiées comprenaient la viande hachée, le fromage type camembert, le poisson (sardine), la laitue et le raisin. Au total, vingt échantillons ont été analysés, soit cinq aliments pour chacun des quatre prototypes, en comparaison avec cinq témoins. Les analyses ont été effectuées après quinze jours de conservation à 4 ° C (J15), le contrôle du jour zéro (J0) ayant déjà été réalisé lors de l'isolement des germes d'altération.

6.1. Préparation des échantillons

Chaque échantillon a été prélevé aseptiquement (25 g) et homogénéisé dans 225 mL d'eau physiologique stérile (NaCl 0,85 %) à l'aide d'un stomacher pendant 2 minutes afin d'obtenir la dilution 10^{-1} . Des dilutions successives ont ensuite été préparées jusqu'à 10^{-6} . La suspension mère a été considérée comme dilution 10^0 . La dilution 10^{-3} a été retenue pour la majorité des dénombrements microbiologiques afin de garantir un comptage optimal compris entre 30 et 300 colonies par boîte de Petri (**ISO 4833-1:2013**).

6.2. Analyses physicochimiques

Les paramètres physicochimiques étudiés comprenaient la matière sèche (MS), la matière minérale (MM), la matière grasse (MG), la teneur en protéines (azote total), le pH, l'acidité titrable, l'humidité, la texture et la couleur. L'ensemble des analyses a été réalisé en triplicat et exprimé en moyenne $\pm$ écart-type (ET).

- 1) **La matière sèche (MS)** a été déterminée par dessiccation à 105 ± 2 °C jusqu'à masse constante, conformément à la méthode AOAC 950.46 (2016).
- 2) **La teneur en matière minérale (MM)** a été obtenue après incinération dans un four à moufle à 550 °C jusqu'à obtention de cendres blanches (AOAC 942.05).

Matériel et méthodes

- 3) **La matière grasse (MG)** a été dosée par la méthode de Gerber ou Van Gulik selon la norme algérienne (JORA n° 67 du 12 novembre 2014). Trois grammes d'échantillon ont été introduits dans le butyromètre, auxquels ont été ajoutés 10 mL d'acide sulfurique concentré, 1 mL d'alcool isoamylique et 8 mL d'eau distillée. Après agitation et centrifugation à 1000 tours/min pendant 5 minutes, la lecture directe a permis d'exprimer la MG (%) selon la formule : $MG (\%) = \text{lecture} \times 11 / \text{prise d'essai}$.
- 4) **La teneur en azote total (NT)** a été déterminée par la méthode Kjeldahl (AOAC 981.10), fondée sur la minéralisation de l'azote organique en $(NH_4)_2SO_4$ sous l'action oxydante de l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur (Na_2SO_4 et $CuSO_4 \cdot 5H_2O$). Après distillation et titrage de l'ammoniac libéré avec l'acide sulfurique standardisé, les teneurs ont été calculées selon :
- $$NT = (V_1 - V_0) \times 0,14 \times 10 / P$$
- juste pour les produits laitiers 6,25 pour les autres
où V_1 = volume de H_2SO_4 pour l'échantillon, V_0 = volume pour le blanc, P = poids de l'échantillon en grammes.

Le facteur de conversion utilisé était de 6,38. Note : Ce facteur est spécifique aux produits laitiers. Pour les autres matrices alimentaires étudiées (viande, poisson, etc.), le facteur standard de 6,25 est généralement requis.

- 5) **Le pH** a été mesuré sur une suspension de 10 g d'échantillon dilué dans 90 mL d'eau distillée à 25 °C à l'aide d'un pH-mètre calibré (AOAC 2016). L'acidité titrable a été déterminée par titrage de 10 mL de la phase aqueuse avec une solution de NaOH N/9 en présence de phénolphtaléine jusqu'à virage rose pâle, et exprimée en pourcentage d'acide lactique (**Lim, 2017**).
- 6) **La texture** a été mesurée à l'aide d'un analyseur de texture (test TPA – Texture Profile Analysis) en double compression, avec enregistrement de la dureté, cohésivité et élasticité (**Otoni et al., 2021**). La couleur a été déterminée selon le système CIELab (L^* , a^* , b^*) à l'aide d'un colorimètre portable. Enfin, l'humidité relative et l'activité de l'eau (a_W) ont été mesurées par a_W -mètre à 25 °C, conformément aux recommandations de **l'ISO 21807:2004**.

Matériel et méthodes

6.3. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont porté sur la flore mésophile totale, les coliformes totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., levures et moisissures, ainsi que *Clostridium* spp. Les analyses ont été réalisées selon les normes ISO et les recommandations de la réglementation algérienne (**JORA n° 39 du 2 juillet 2017 ; JORA n° 68 du 23 novembre 2014**).

La flore mésophile aérobie totale a été dénombrée sur gélose PCA (Plate Count Agar) selon la méthode ISO 4833-1:2013, après incubation à 30 °C pendant 72 heures. Les coliformes totaux et fécaux ont été dénombrés sur milieu VRBL (Violet Red Bile Lactose agar) selon ISO 4832 et ISO 16649-2 ; l'incubation a été réalisée respectivement à 37 °C et 44 °C pendant 24 h.

Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* a été effectué sur milieu Baird-Parker enrichi en tellurite et jaune d'œuf (ISO 6888-1:1999). Les colonies typiques noires et brillantes ont été confirmées par le test de coagulase utilisant le plasma de lapin.

La recherche de *Salmonella* spp. a suivi la norme ISO 6579-1:2017 : pré-enrichissement dans le bouillon peptoné tamponné à 37 °C (24 h), enrichissement sélectif dans le bouillon au sélénite-cystéine, puis isolement sur milieu SS ou XLD et identification des colonies transparentes à centre noir.

Les levures et moisissures ont été dénombrées sur milieu DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar) selon ISO 21527-1:2008, après incubation à 25 °C pendant 5 à 7 jours.

La recherche et le dénombrement de *Clostridium* spp., notamment *C. perfringens*, ont été réalisés sur milieu VF en conditions anaérobies (jarre à gaz) selon ISO 7937:2004. Les colonies noires ont été confirmées par tests biochimiques spécifiques.

Les résultats microbiologiques ont été exprimés en unités formant colonies par gramme (UFC/g), selon la formule standard :

$$\text{CFU/g} = \frac{(N \times F)}{V}$$

où N = nombre de colonies comptées, F = facteur de dilution, V = volumeensemencé.

Matériel et méthodes

- **Critères de conformité et analyses statistiques**

Les valeurs obtenues ont été comparées entre les échantillons traités et témoins. Les seuils microbiologiques de conformité ont été interprétés selon les recommandations internationales du Codex Alimentarius et des normes ISO correspondantes : absence de *Salmonella* dans 25 g, $<10^3$ UFC/g pour *S. aureus*, $<10^6$ UFC/g pour flore totale des produits prêts à consommer, et $<10^2$ UFC/g pour coliformes fécaux (**ISO 2004 ; Settanni & Corsetti, 2022**).

Les données physicochimiques et microbiologiques ont été exprimées en moyenne $\pm$ écart-type. Les comparaisons statistiques ont été effectuées par analyse de variance à un facteur (ANOVA), suivie du test post-hoc de Tukey ($p < 0,05$), après transformation logarithmique pour les données microbiennes ($\log_{10}$ UFC/g) (**Kavoosi et al., 2022**).

7. Caractéristiques organoleptiques des prototypes

L'évaluation organoleptique visait à apprécier la perception sensorielle des prototypes de bioconservateurs développés (gel, film biodégradable, poudre et boîte à revêtement actif), afin de déterminer leur acceptabilité visuelle, olfactive et tactile avant leur

Application sur les aliments. Cette étape constitue une phase essentielle de la validation technologique des produits, permettant d'anticiper leur potentiel d'intégration dans la chaîne agroalimentaire (**Tarlak et al., 2021**).

L'analyse sensorielle a été réalisée auprès d'un panel de 20 participants volontaires,

Sélectionnés selon leur disponibilité et leur intérêt pour les produits naturels et innovants.

Protocole d'Évaluation : Les prototypes ont été observés et manipulés dans des conditions standardisées (éclairage naturel, 25 °C). L'évaluation a porté sur les critères suivants :

- Aspect visuel : transparence, couleur, homogénéité et uniformité de surface ;
- Odeur : intensité et caractère agréable ou désagréable ;
- Texture : consistance, flexibilité, granularité au toucher (pour le film et le gel)

Matériel et méthodes

- Acceptabilité globale : appréciation générale du prototype selon la préférence du participant.

Échelle de Mesure : Une échelle hédonique à 5 points a été utilisée (1 = très insatisfaisant à 5 = très satisfaisant). ≥ 4 a été considérée comme satisfaisante, traduisant une bonne acceptabilité sensorielle. Une moyenne comprise entre 3 et 4 a été jugée acceptable avec réserves, tandis qu'une moyenne ≤ 3 indiquait une perception défavorable (Meullenet et al., 2015).

7.1. Évaluation sensorielle des aliments traités par les prototypes Fermaprotect

1. Objectif de l'évaluation sensorielle

L'évaluation sensorielle a été réalisée afin d'analyser l'effet des prototypes de bioconservation Fermaprotect sur la perception organoleptique de différentes matrices alimentaires après une semaine de stockage réfrigéré.

Les caractéristiques évaluées concernaient : l'odeur, le goût, la couleur et la présence de signes visibles de détérioration.

Cette approche est conforme aux recommandations méthodologiques de l'**ISO 11136 (2014)** pour les tests hédoniques et des travaux récents portant sur l'analyse sensorielle des aliments conservés par des biopolymères (Lacroix & Vu, 2021).

2. Participants et conditions du test

L'évaluation sensorielle a été réalisée auprès d'un panel de 20 évaluateurs non entraînés, recrutés sur la base de leur disponibilité et de leur absence d'allergies alimentaires.

L'utilisation d'un panel non expert est couramment recommandée pour les tests d'acceptabilité et de qualité générale (Stone & Sidel, 2018).

Les analyses ont été effectuées dans une salle calme, bien éclairée et à température contrôlée (22 ± 1 °C), conformément à la norme **ISO 8589 (2007)** relative à la préparation des locaux de tests sensoriels.

Matériel et méthodes

3. Matrices alimentaires évaluées

Cinq matrices alimentaires traitées par les prototypes Fermaprotect ont été évaluées après 7 jours de conservation à 4 ± 1 °C .

Viande hachée enrobée par le film biodégradable.

Poisson (sardine) recouvert de film alimentaire et/ou gel Fermaprotect.

Laitue fraîche pulvérisée par le gel bioconservateur.

Raisin conditionné dans une boîte à revêtement actif.

Fromage Camembert traité par la poudre bioactive.

Ces aliments ont été choisis en raison de leur forte sensibilité à l'altération microbienne, enzymatique ou oxydative (FAO, 2020 ; Jay, Loessner & Golden, 2005).

4. Méthodologie d'évaluation sensorielle

Une fiche d'évaluation structurée a été distribuée aux participants.

Elle comprenait quatre critères sensoriels, chacun évalué selon une échelle ordinale simple permettant une décision rapide et réduisant la variabilité inter-évaluateurs (Meilgaard, Civille & Carr, 2015).

4.1. Attributs évalués

Chaque produit a été évalué sur les critères suivants :

a. Odeur

- Bonne
- Acceptable
- Non acceptables

b. Goût (pour les produits nécessitant cuisson : viande, poisson)

- Bon
- Acceptable
- Non acceptable

Matériel et méthodes

c. Couleur

- Bonne
- Acceptable
- Non acceptable

d. Présence de signes visibles d'altération

- Absence de signes
- Signes légers
- Signes visibles mais partiels
- Signes visibles et préoccupants
- Signes de détérioration étendus

5. Procédure expérimentale

Les échantillons ont été codés anonymement afin d'éviter tout biais perceptif, selon les recommandations de l'**ISO 8586 (2012)**.

Chaque participant a évalué les échantillons individuellement, dans un ordre aléatoire.

Entre chaque dégustation, un rinçage a été réalisé avec de l'eau à 25 °C pour limiter les interférences gustatives.

Les réponses ont été recueillies via un questionnaire Google Form, afin de garantir la précision des données.

6. Justification méthodologique

Le choix d'un test basé sur un questionnaire simple et structuré permet d'obtenir une estimation rapide de la qualité sensorielle des aliments conservés.

Les tests menés après une semaine permettent de détecter les premiers signes d'altération des aliments périssables et d'évaluer l'efficacité antimicrobienne et stabilisatrice des prototypes (**Coma, 2008 ; Ojagh et al., 2010**).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Identification des souches lactique

1.1. Étude morphologique

Après l'étape d'enrichissement dans un bouillon MRS liquide, une turbidité homogène a été observée, suggérant une croissance active des bactéries lactiques.

Le repiquage sur milieu MRS agar a permis l'obtention de colonies présentant les caractéristiques suivantes : couleur variant du blanc cassé au crème, parfois légèrement translucide ; surface lisse, brillante ou légèrement mate ; forme ronde et régulière avec un bord bien défini ; taille comprise entre 1 et 3 mm après 24 à 48 h d'incubation à température optimale ; relief bombé ou légèrement convexe ; texture crémeuse, parfois légèrement visqueuse selon l'isolat.

Les souches utilisées étaient préalablement identifiées par MALDI-TOF. Un repiquage a été réalisé à la fois pour assurer la purification et pour confirmer l'identité des souches.

La turbidité observée dans le milieu liquide reflète l'activité métabolique élevée et la production d'acide lactique, entraînant une diminution du pH favorable à la stabilisation de la population bactérienne (**Paleckis et al., 2021**).

Les caractéristiques morphologiques observées correspondent aux descriptions classiques des colonies de bactéries lactiques cultivées sur milieu MRS, notamment pour les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*, qui se distinguent généralement par des colonies de petite à moyenne taille, à surface lisse et texture crémeuse (**García-Cano et al., 2020**).

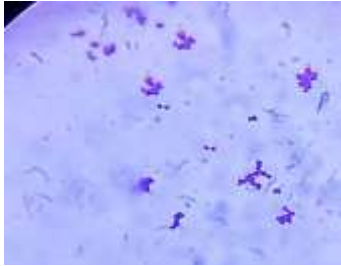
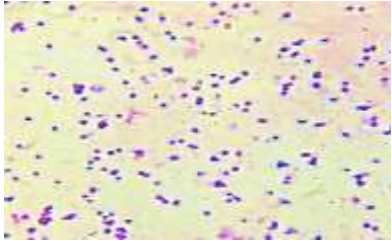
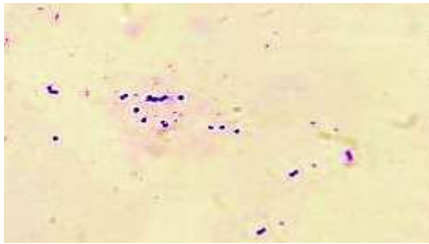
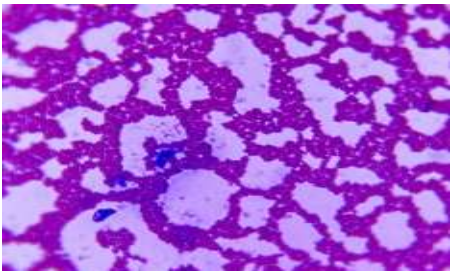
1.2 Identification microscopique

Les observations issues des colorations de Gram ont révélé que les souches lactiques examinées étaient **Gram-positives**, présentant une morphologie variée entre **bacilles**, **coccobacilles** et **cocci**, tous colorés en **violet**.

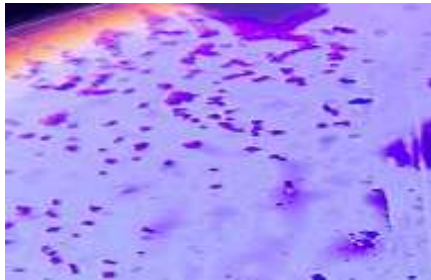
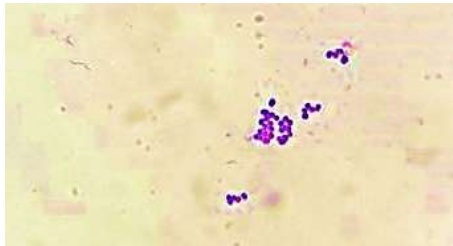
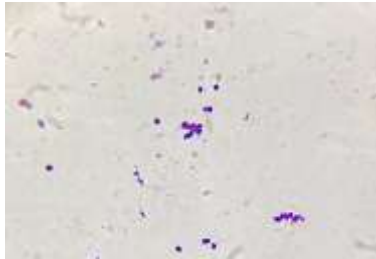
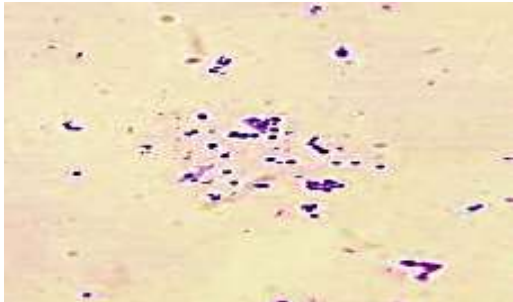
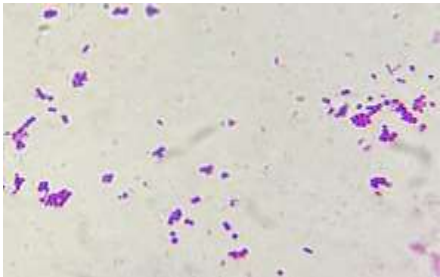
Après repiquage visant à obtenir des souches pures, une deuxième coloration de Gram a confirmé les mêmes morphologies – **bacille**, **coccobacille**, et **cocci**, tous toujours **Gram-positifs**. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 3**

Résultats et discussion

Tableau 3: Résultats de la deuxième coloration de Gram (sur souches pures)

La souche	La forme	Gram	Photos de microscope
BL 1	Cocci/ diplocoque	Gram +	
BL10	Cocci/ diplocoque	Gram +	
BL2	Cocci. diplocoque	Gram +	
BL5	Cocci. diplocoque	Gram +	
BL4	Cocci/ diplocoque	Gram +	

Résultats et discussion

BL7	Cocci/ diplocoque	Gram +	
BL11	Cocci	Gram +	
BL12	Cocci	Gram +	
BL18	Cocci/ diplocoque	Gram +	
BL17	Cocci/ diplocoque	Gram +	

Résultats et discussion

Les résultats microscopiques confirment que les isolats observés sont des **bactéries lactiques (BL)**, caractérisées par leur coloration **Gram positive** (violette) et leurs formes **bacillaires ou coccoïdes**. Ces caractéristiques sont typiques des genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* ou *Leuconostoc* (Broadbent, Tellez, & Drake, 2021).

La diversité morphologique observée (bacilles, cocco-bacilles et cocci) avant purification témoigne d'un enrichissement non sélectif possible dans le bouillon liquide ou d'un mélange de souches. Après repiquage, la morphologie homogène observée en seconde coloration confirme la pureté des isolats et la fiabilité de la méthode de purification (Winkelströter et al., 2022).

Lactobacillus produisent des bacilles ou cocco-bacilles (devrions vérifier selon les espèces) (Zhao et al., 2023).

Lactococcus et *Pediococcus* sont souvent cocci ou cocco-bacilles en chaînes ou en grappes (Martinez, Hwang, & Jung, 2024).

La coloration de Gram reste un outil rapide et efficace pour vérifier l'homogénéité et la nature des isolats avant toute identification avancée (comme MALDI-TOF). Cependant, elle présente des limites : certaines morphologies peuvent varier avec l'âge de la culture, le milieu ou la souche. De plus, des erreurs de classification morphologique peuvent survenir entre cocco-bacilles et cocci selon l'angle d'observation (Simões, Costa, & Silva, 2021).

À l'issue du processus de purification, un total de **19 souches de bactéries lactiques** pures a été conservé. **BL1 ,BL2 ,BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, BL8, BL9, BL10, BL11, BL12, BL13, BL14 ,BL15 ,BL16 ,BL17, BL18 , BL19**

2. Identification des souches d'altérations

2.1 Identification des souches d'altérations de camembert

Dans le cadre de cette étude, les micro-organismes d'altération présents dans le fromage à pâte molle (type Camembert) ont été isolés afin d'évaluer leur comportement avant et après application des systèmes de bioconservation.

Résultats et discussion

Après la réactivation et la purification des souches, des observations microbiologiques ont été réalisées au jour 0 puis au jour 15 de stockage, permettant de suivre l'évolution de la flore d'altération et de sélectionner les souches les plus représentatives pour les tests d'inhibition. Le **tableau 5** présente les observations obtenues lors de l'isolement des souches d'altération aux deux temps d'analyse.

L'analyse microbiologique du fromage à pâte molle (type Camembert) a révélé une évolution notable de la flore d'altération entre le jour 0 et le jour 15. Au jour 0, les ensemencements sur VRBL n'ont montré aucune croissance à 24 h, mais des colonies roses sont apparues après 48 h aux dilutions 10^{-4} et 10^{-5} , confirmant la présence de coliformes totaux, tandis qu'aucune croissance de coliformes fécaux n'a été détectée. Sur Baird-Parker, une seule petite colonie a été observée à 24 h et des colonies grises après 48 h, indiquant une contamination *staphylococcique* faible. Le milieu GN a montré une croissance aux dilutions 10^{-4} et 10^{-5} , tandis que le milieu VF est resté totalement négatif, excluant la présence de *Clostridium* spp. Les milieux SS et Hektoen ont présenté un virage de couleur avec des colonies jaunes, roses ou noires, suggérant la présence d'entérobactéries fermentant les sucres et de bactéries potentiellement productrices de H_2S , telles que *Salmonella*. Au jour 15, les résultats ont confirmé la présence persistante de coliformes totaux sur VRBL, toujours en absence de coliformes fécaux. De nouvelles colonies grises sont apparues sur Baird-Parker, traduisant la présence de *staphylocoques*. Sur GN, des colonies blanches ont été observées, tandis que Hektoen a montré des colonies orangées/jaunes caractéristiques de bactéries fermentant les sucres. Le milieu VF est resté négatif, confirmant l'absence de *Clostridium* spp. Globalement, la flore altérante du Camembert est dominée par les coliformes totaux et les entérobactéries fermentatrices, alors que les *staphylocoques* demeurent présents mais en faible proportion, et aucun *Clostridium* n'a été détecté.

Résultats et discussion

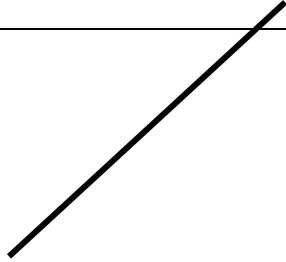
Tableau 5 : observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de camembert

Aliment	Fromage à pâte molle	
Milieu de culture	VRBL	
Période d'incubation	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
	48h à 37°C	48h à 44°C
Observation 24h	aucune colonie visible	aucune colonie visible
		
Observation 48h	Colonies rose 10^{-4} , 10^{-5}	aucune colonie visible
		
Milieu de culture	Baird-Parker	
Période d'incubation	37°C pendant 24 à 48 heures	
Observation 24h	Une seule colonie	
	Colonies gris	
Milieu de culture	GN	

Résultats et discussion

Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 24h	Colonies 10^{-4} . 10^{-5}	
		
Milieu de culture	ss	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	
Observation 24h	virage de couleur du milieu SS du rouge au rose, associé à l'apparition de zones jaunes et de colonies roses	
Milieu de culture	Hektoen	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures	
Observation 24h	Le changement de couleur du milieu Hektoen du vert à l'orange, accompagné de colonies transparentes, de colonies noires entourées d'un halo ainsi que de colonies orangées ou jaunes	
Aliment	Fromage à pâte molle observation au jour 15	
Milieu de culture	VRBL	
Période	Coliformes totaux	Coliformes fécaux

Résultats et discussion

d'incubation	48h à 37°C	48h à 44°C
Observation 24h	colonie roses 10 ⁻⁴ .	aucune colonie visible
		
Milieu de culture	Baird-Parker	
Période d'incubation	37°C pendant 24 à 48 heures	
Observation 24h	Un seul colonie 10 ⁻⁵	
		Colonies gris
Milieu de culture	GN	
Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 24h	Colonies blanches	
		
Milieu de culture	Hektoen	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures	

Résultats et discussion

Observation 24h	Le changement de couleur du milieu Hektoen du vert à l'orange, accompagné colonies orangées ou jaunes	
------------------------	---	---

2.2. Identification des souches d'altérations de Sardine

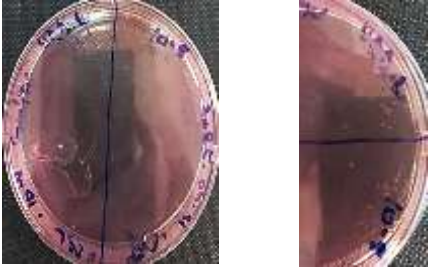
L'isolement des souches d'altération contenues dans les sardines fraîches a été effectué au jour 0 et après 15 jours afin d'évaluer la progression microbienne au cours du stockage. Cette analyse a permis de mettre en évidence les micro-organismes impliqués dans la détérioration du poisson et d'observer leurs variations qualitatives et quantitatives dans le temps. **Le tableau 6** ci-après présente les résultats de ces observations.

L'analyse microbiologique des sardines a permis de mettre en évidence une flore d'altération variée dont la composition évolue au cours du stockage. Au jour 0, le milieu VRBL a montré la présence de colonies roses isolées, traduisant la présence de coliformes totaux, tandis qu'aucune croissance n'a été détectée pour les coliformes fécaux. Sur Baird-Parker, deux colonies blanches ont été observées, suggérant une contamination possible par des *staphylocoques*. Le milieu GN a révélé des colonies transparentes ou blanches caractéristiques d'une flore aérobie mésophile ordinaire. Les milieux SS et Hektoen ont présenté un virage de couleur avec des colonies roses ou orangées, indiquant la présence probable d'entérobactéries fermentant les sucres telles qu'*E. coli* ou *Enterobacter*. Le milieu VF est demeuré négatif, excluant la présence de *Clostridium* spp. Au jour 15, les ensemencements sur VRBL ont montré un virage brun atypique, suggérant la présence d'entérobactéries non classiques ou d'une flore coliforme altérée. Sur GN, des colonies blanches ont été observées au niveau de la dilution 10^{-4} , correspondant à des bactéries Gram négatives. Sur Hektoen, le virage du vert vers le jaune/orange et l'apparition de colonies jaunes indiquent la dominance d'une flore entérique lactose-positive, principalement de type *E. coli* ou *Enterobacter*. Le milieu VF est resté négatif, confirmant l'absence de *Clostridium* spp. De manière globale, la sardine présente une contamination dominée

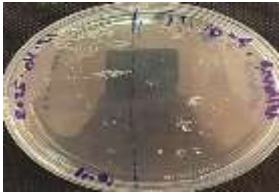
Résultats et discussion

par les coliformes et les entérobactéries fermentatrices, accompagnée de quelques staphylocoques, sans détection de *Clostridium*.

Tableau 6 : observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de Sardine

Aliment	Sardine	
Milieu de culture	VRBL	
Période d'incubation	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
	48h à 37°C	48h à 44°C
Observation 24h	Des colonies 10^{-4} . 10^{-5} + 1 colonie rose	Aucune culture
		
Observation 48h		Aucune culture
Milieu de culture	Baird-parker	
Période d'incubation	37°C pendant 24 à 48 heures	
Observation 48h	 juste 2 colonies.	

Résultats et discussion

Milieu de culture	GN	
Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 24h	 des colonies transparentes ou blanches	
Milieu de culture	SS	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	
Observation 24h	 virage de couleur du milieu SS du rouge à l'orange, accompagné de colonies rose clair	
Milieu de culture	HEKTOEN	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	
Observation 24h	 Le virage de couleur du milieu Hektoen du vert à l'orange, associé à l'apparition de zones jaunes et de colonies orangées	
Aliment	Sardine observation au jour 15	
Milieu de culture	VRBL	
Période	Coliformes totaux	Coliformes fécaux

Résultats et discussion

d'incubation	48h à 37°C	48h à 44°C
Observation 24h	Colonie 10-4. virage de couleur au marron 	Aucune colonie 
Milieu de culture	GN	
Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 48h	 Colonie 10-4 blanche	
Milieu de culture	HEKTOEN	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	
Observation 24h	 Virage de couleur vert au jaune. colonies jaunes	

2.3. Identification des souches d'altérations de laitue

Afin d'étudier la flore d'altération naturellement présente sur la salade, un isolement des micro-organismes a été réalisé à deux temps : au jour 0 et après 15 jours de stockage. Cette étape a permis de suivre l'évolution microbienne et d'identifier les

Résultats et discussion

souches responsables de la détérioration du produit frais. Les observations correspondantes sont présentées dans le **tableau 7**

L'analyse microbiologique de la salade a révélé une évolution notable de la flore d'altération au cours du stockage. Au jour 0, aucune croissance de coliformes n'a été observée sur VRBL, tandis que les milieux Baird-Parker et GN ont montré une contamination polymorphe traduisant la présence d'une flore hétérogène d'origine environnementale. Le milieu VF a présenté un trouble accompagné de points noirs suggérant une possible croissance anaérobie, compatible avec la présence de *Clostridium* spp. De plus, le milieu Hektoen a montré un virage du vert vers le jaune avec apparition de colonies jaunes et vertes, indiquant une flore mixte composée de bactéries fermentant ou non les sucres. Au jour 15, les ensemencements sur VRBL ont révélé des colonies roses, confirmant la présence de coliformes totaux et fécaux.

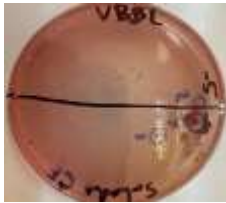
Le milieu GN a présenté des colonies blanches, caractéristiques de bactéries Gram négatives. Sur Hektoen, l'apparition de colonies orangées et vertes traduit la présence d'entérobactéries telles qu'*E. coli*, *Enterobacter* ou encore *Salmonella* non productrices de H₂S. Le milieu VF, quant à lui, est resté négatif à ce stade, excluant finalement la présence de *Clostridium* spp. L'ensemble des résultats montre une contamination faible initialement, suivie d'une installation progressive d'une flore coliforme et entérique dominante après 15 jours de stockage, témoignant d'un début d'altération du produit.

Tableau 7: observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de laitue

Aliment	laitue		
Milieu de culture	HEKTOEN		
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.		
Observation 24h			

Résultats et discussion

	virage de couleur du milieu Hektoen du vert au jaune, avec des colonies jaunes et vertes
--	--

Aliment	Laitue 15 jour	
Milieu de culture	VRBL	
Période d'incubation	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
	48h à 37°C	48h à 44°C
Observation 24h	Colonie rose	Colonie rose
		
Milieu de culture	GN	
Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 24h	colonies blanches	
Observation 48h		Colonies blanches

Résultats et discussion

Milieu de culture	HEKTOEN	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	
Observation 24h		Virage de couleur vert à l'orange. colonies vert et oranges

2.4. Identification des souches d'altérations de viande

Dans le but de caractériser la flore d'altération présente dans la viande hachée, un isolement des micro-organismes a été réalisé au jour 0 puis après 15 jours de stockage. Cette approche a permis de suivre l'évolution des populations microbiennes responsables de la dégradation du produit et d'identifier les espèces dominantes au fil du temps. **Le tableau 8** suivant résume les observations obtenues lors de ces deux phases d'isolement.

L'analyse microbiologique de la viande a mis en évidence une flore d'altération dense et diversifiée dès le début du stockage, avec une évolution notable au fil du temps. Au jour 0, les ensemencements sur VRBL n'ont révélé aucun coliforme total, mais une colonie rose isolée a confirmé la présence de coliformes fécaux. Le milieu Baird-Parker est resté négatif, indiquant l'absence de *Staphylococcus aureus*, tandis que le milieu GN a montré une contamination importante traduisant une flore hétérogène d'origine mésophile. Le milieu VF a présenté un trouble suggérant la présence potentielle de *Clostridium* spp. Les milieux sélectifs SS et Hektoen ont montré un virage de couleur accompagné de colonies roses, orangées, jaunes et noires, indiquant la présence d'une flore entérique mixte incluant notamment *E. coli*, *Enterobacter*, *Salmonella* et *Proteus*. Au jour 15, les cultures sur VRBL ont montré de nombreuses colonies roses confirmant la persistance des coliformes totaux et fécaux. Le milieu Baird-Parker a présenté des colonies blanches polymorphes, mais sans morphotypes caractéristiques de *S. aureus*. Sur GN, la présence de colonies blanches diverses a été observée, tandis que le milieu VF est devenu négatif, infirmant la présence de *Clostridium* spp. Enfin, le milieu Hektoen a révélé une flore entérique complexe et persistante, dominée par des bactéries telles que *E. coli*, *Enterobacter*, *Salmonella* et

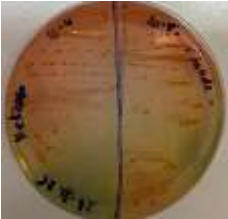
Résultats et discussion

Proteus. Globalement, la viande se caractérise par une contamination riche et variée, dominée par une flore entérique et des coliformes fécaux persistants, avec une absence de *S. aureus* et une suspicion de Clostridium non confirmée.

Tableau 8: observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de laitue

Aliment	viande	
Milieu de culture	VRBL	
Période d'incubation	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
	48h à 37°C	48h à 44°C
Observation 48h	absence de culture	présence d'une seule colonie rose
		
Milieu de culture	ss	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	
Observation 24h	  virage de couleur du milieu SS du rouge au rose, accompagné de colonies roses et blanches entourées d'un halo clair	
Milieu de culture	HEKTOEN	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	

Résultats et discussion

Observation 24h	 virage de couleur du milieu Hektoen du vert au orange et jaune, avec des colonies orangées	
Aliment	Viande au jour 15	
Milieu de culture	VRBL	
Période d'incubation	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
	48h à 37°C	48h à 44°C
Observation 24h		
Milieu de culture	Beard-parker	
Période d'incubation	37°C pendant 24 à 48 heures	
Observation 72h		
Milieu de culture	GN	
Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 24h	 colonies blanches	
Observation 72h	absence de culture	

Résultats et discussion

Milieu de culture	HEKTOEN
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.
Observation 24h	 Virage de couleur vert au rose. orange. Jaune. colonies avec centre noire. colonies roses et orange

2.5. Identification des souches d'altérations de Fraise

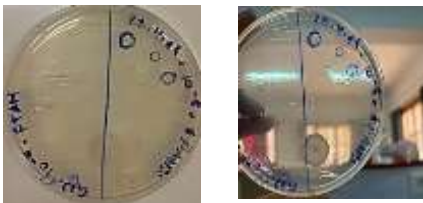
L'analyse microbiologique des fraises a consisté en l'isolement des souches d'altération au jour 0 puis au jour 15, dans le but de suivre l'évolution de la flore responsable du ramollissement et des moisissures caractéristiques de ce fruit très périssable. Le **tableau 9** ci-dessous présente les résultats obtenus et les espèces microbiennes identifiées à chaque étape d'isolement.

L'analyse microbiologique des fraises a mis en évidence une contamination initiale faible, suivie d'une évolution notable de la flore d'altération au cours du stockage. Au jour 0, les milieux VRBL n'ont révélé aucune croissance, indiquant l'absence de coliformes totaux et fécaux. Le milieu Baird-Parker a montré quelques petites colonies, sans morphologie typique de *Staphylococcus aureus*. Sur GN, la présence de quelques colonies témoigne d'une flore aérobie mésophile totale (FTAM) modérée. Le milieu VF a présenté un léger trouble suggérant la possibilité d'une flore anaérobie, tandis que le milieu Hektoen a révélé des colonies vertes caractéristiques de bactéries non fermentantes telles que *Salmonella* ou *Shigella*. Au jour 15, les milieux VRBL et Baird-Parker sont demeurés négatifs, confirmant l'absence de coliformes et de staphylocoques pathogènes. En revanche, le milieu GN a montré une croissance envahissante non spécifique, souvent associée à des espèces du genre *Bacillus* ou à une flore environnementale opportuniste. Le milieu VF n'a montré aucune croissance, excluant la présence d'une flore anaérobie stricte à ce stade. En parallèle, le milieu Hektoen a révélé des colonies orangées et noires indiquant l'installation d'une flore entérique mixte comprenant notamment *E. coli*,

Résultats et discussion

Enterobacter, *Salmonella* ou *Proteus*. Globalement, les résultats montrent que les fraises présentent une contamination initiale limitée, mais développent au cours du stockage une flore entérique plus complexe, probablement favorisée par les conditions environnementales et la forte sensibilité du fruit à l'altération.

Tableau 9: observation au jour 0 et jour 15 de l'isolement des souches d'altérations de Fraise

Aliment	Fraise au jour 15	
Milieu de culture	Baird-Parker	
Période d'incubation	37°C pendant 24 à 48 heures	
Observation 24h		Des petites colonies
Milieu de culture	GN	
Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 48h		quelque colonies plus contamination
Observation 24h		présence de colonies vertes sur le milieu Hektoen
Aliment	fraise	
Milieu de culture	GN	

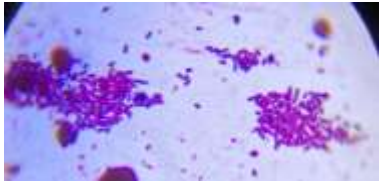
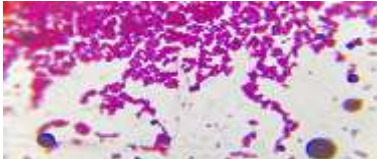
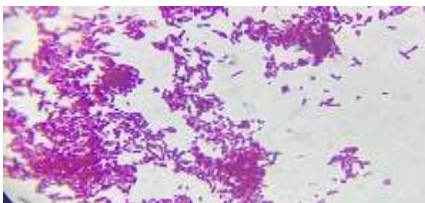
Résultats et discussion

Période d'incubation	30°C. 24 à 48 heures	
Observation 48h		Culture generale . capable bacillus
Milieu de culture	Hektoen	
Période d'incubation	à 37°C pendant 24 à 48 heures.	
Observation 24h		Virage de couleur de vertt au jaune et orange . colonies oranges et colonies avec centre noires

Dans le cadre de l'identification préliminaire des micro-organismes responsables de l'altération des différentes matrices alimentaires, un examen microscopique des colonies isolées a été réalisé après purification. Cette étape a permis d'observer la morphologie cellulaire, la forme, la disposition, ainsi que certaines caractéristiques distinctives utiles pour l'orientation de l'identification. Le **tableau 10** suivant présente les principaux résultats et observations issus de l'isolement microscopique des bactéries d'altération.

Résultats et discussion

Tableau 10 : les principaux résultats et observations microscopique de l'isolement des bactéries d'altération

La souche	La forme	Gram	Photos de microscope
P5	Bacilles/ coccobacille	Gram _	
P6	Bacilles/ coccobacille	Gram _	
P7	Bacilles/ coccobacille	Gram _	
P9	Bacilles/ coccobacille	Gram _	
P10	Cocci	Gram +	
P12	Cocci	Gram +	
P14	Bacilles/ coccobacille	Gram _	

Résultats et discussion

L'ensemble des résultats révèle une **diversité microbienne significative selon la nature des aliments** :

- Les **fromages et viandes** présentent une flore entérique riche incluant coliformes, entérobactéries fermentant les sucres, et quelques staphylocoques.
- Les **sardines et salades** montrent une contamination progressive, principalement par des coliformes et entérobactéries.
- Les **fraises** sont initialement peu contaminées mais développent une flore entérique mixte au cours du stockage.
- Les ***Clostridium spp.*** n'ont pas été détectés dans la majorité des échantillons, sauf quelques suspicions ponctuelles (salade et viande au jour 0).

Ces observations confirment que la **conservation et la nature de l'aliment influencent fortement le profil microbien**, et que les altérations sont dominées par les bactéries entériques, notamment ***E. coli*, *Enterobacter* et *Salmonella***

L'analyse des résultats obtenus met en évidence une contamination microbienne variable selon la nature de l'aliment et la durée de conservation. Les aliments étudiés (fromage, sardine, salade, viande et fraise) présentent une flore microbienne dominée par les **coliformes totaux**, les **entérobactéries fermentant les sucres** et, dans certains cas, par des **staphylocoques**. Ces bactéries sont reconnues comme des indicateurs de la qualité hygiénique et de l'altération alimentaire (**Bonilauri et al., 2019**).

Les fromages à pâte molle, tels que le camembert, sont apparus comme particulièrement sensibles à la contamination par les coliformes totaux et les entérobactéries, ce qui confirme leur rôle de vecteurs de flore d'altération en raison de leur forte teneur en eau et de leur pH favorable à la croissance bactérienne (**Giannuzzi et al., 2020**). La présence ponctuelle de colonies suspectes de ***Staphylococcus aureus*** reste préoccupante, bien que leur nombre ait été limité, car ce pathogène constitue un risque de toxi-infection alimentaire (**Argudín et al., 2019**).

Les résultats relatifs à la sardine révèlent une flore entérique diversifiée dès le jour 0, avec une augmentation notable au jour 15. Les produits de la mer sont connus pour être rapidement périssables et favorables au développement de bactéries Gram

Résultats et discussion

négatives, notamment les *Enterobacteriaceae* et les *Vibrionaceae* (Campos et al., 2022). L'absence de *Clostridium* dans les échantillons est cohérente avec les conditions aérobies de conservation, peu favorables à ce type de bactéries strictement anaérobies.

La salade a montré une contamination modérée au jour 0, mais l'augmentation des coliformes et des entérobactéries après 15 jours confirme que les légumes frais sont des matrices hautement sensibles à l'altération bactérienne, surtout lorsqu'ils ne sont pas soumis à une chaîne de froid stricte. Les études récentes soulignent que les légumes frais constituent des vecteurs importants d'*Escherichia coli*, de *Salmonella* et d'autres entérobactéries opportunistes (Alegbeleye et al., 2018).

La viande hachée s'est révélée être l'aliment le plus contaminé, avec une flore entérique variée et persistante, incluant coliformes fécaux et bactéries fermentant les sucres. Ces observations corroborent les données de la littérature, selon lesquelles la viande est une matrice hautement périssable, offrant des conditions optimales pour la prolifération microbienne, en particulier pour les pathogènes d'origine fécale (Zhu et al., 2022).

Les fraises ont montré une faible contamination initiale, mais l'émergence d'une flore entérique complexe après 15 jours confirme que les fruits sont particulièrement vulnérables aux contaminations croisées lors du stockage. Ces résultats rejoignent les travaux récents qui indiquent que les fruits rouges constituent un environnement favorable pour *E. coli* et *Salmonella* en raison de leur surface riche en nutriments et de leur forte activité hydrique (Callejón et al., 2015).

De manière générale, les résultats soulignent que la contamination microbienne est influencée par la **nature intrinsèque de l'aliment**, sa **teneur en eau**, son **pH**, ainsi que par les **conditions de conservation**. Les bactéries identifiées, principalement les entérobactéries et les coliformes, sont en accord avec les profils de flore d'altération décrits dans des travaux récents sur les produits alimentaires périssables (Hernández-Cortez et al., 2022). L'absence de *Clostridium* dans la majorité des échantillons suggère que les conditions expérimentales (milieu aérobie, température de conservation) ne favorisent pas leur développement.

Résultats et discussion

Ces observations confirment la nécessité d'intégrer des stratégies de bioconservation dans les aliments à forte valeur nutritive et sensible à l'altération, afin de limiter la croissance microbienne et d'améliorer la sécurité alimentaire.

Salade	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
Vande	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1
Aliments Sardine	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1
Fromage	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
Fraise	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
	Coliformes_J0 -	Coliformes_J14	Staphylococcus_J0 -	Staphylococcus_J14 -	Salmonella_J0 -	Salmonella_J14 -	Clostridium_J0 -	Clostridium_J14 -	FloreTotale_J0 -	FloreTotale_J14 -
Bactéries et temps										

Figure 1 : représente présence (1) / absence (0) des bactéries d'altération jour 0 vs jour 15

Le tableau suivant présente la liste des micro-organismes suspects isolés au cours de l'étude, accompagnés de leurs codes, de leur description morphologique ainsi que de l'origine des souches.

Tableau 11: les micro-organismes suspects isolés et description morphologique et l'origine des souches.

Microorganismes suspects*	Nombre des souches isolées	Code des souches	Description morphologique	L'origine de souche
---------------------------	----------------------------	------------------	---------------------------	---------------------

Résultats et discussion

<i>Salmonella</i> spp. (Ryan & Ray, 2004)	5	P1, P3, P4, P8, P15	Colonies orange, vertes, roses ou jaunes sur Hektoen; aspect lisse et bombé	Viande (hektoen) Sardine (hektoen) Salade (hektoen) Fraise (hektoen)
<i>Enterobacteriaceae</i> (coliformes) (Downes&Ito, 2001)	4	P5 P6 P9 P14	Colonies roses sur VRBL; lisses, bombées, à bords réguliers	Viande (VRBL) Sardine (VRBL)
<i>Enterococcus</i>spp. (Facklam& Collins, 1989)	1	P7	Colonies blanches/transluci des sur GN; petites, rondes, convexes	Camembert (GN)
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> (Baird- Parker, 1962)	4	P10 P11 P12 P13	Colonies gris clair à blanches sur Baird-Parker; lisses, brillantes, parfois entourées d'un halo clair	Camembert (BP)

La **figure 2** illustre la répartition en pourcentage des souches isolées selon leur groupe microbien, permettant de visualiser la dominance relative de chaque catégorie de micro-organismes dans les échantillons analysés.

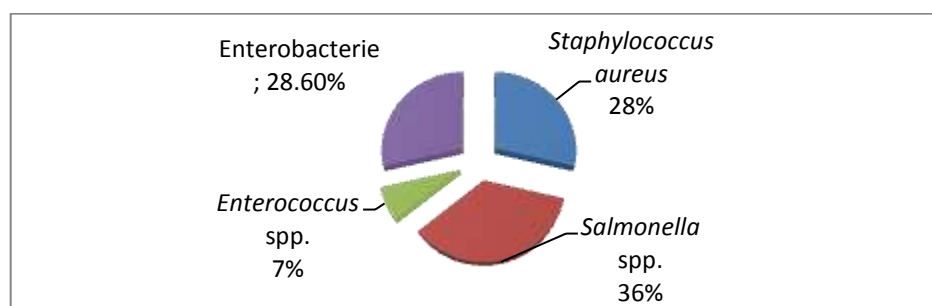


Figure 2 : la proportion en pourcentage des souches isolées selon leur groupe microbien

Résultats et discussion

3. Activité antimicrobienne

3.1 Activité par culture vivante

Le tableau ci-dessous présente les résultats de l'activité antibactérienne des différentes souches de bactéries lactiques testées sur les bactéries indicatrices, exprimés par la présence et l'intensité des zones d'inhibition.

Tableau 12 : résultat de l'activité antibactérienne

BACTRIE lactique	Bactéries indicatrices + zone d'inhibition					
BL3	P10 : +++	P11 : +++	-	-	-	-
BL4	P10 : +++	P11 : +++	-	-	-	-
BL7	P2 : +	P3 : +	P6 : +	P11 : +	P14 : +	P16 : +
BL9	P1 : +	P3 : +	P6 : +	P9 : +	-	-
BL10	P1 : +	-	-	-	-	-
BL12	P1 : +	P3 : +	P6 : +	P9 : +	P14 : +	P15 : +
BL13	P3 : +	-	-	-	-	-
BL14	P3 : +	-	-	-	-	-
BL15	P11 : +	-	-	-	-	-
BL17	P3 : +	P6 : ++	-	-	-	-
BL18	P3 : +	P6 : ++	-	-	-	-
BL19	P16 : +	-	-	-	-	-

Voici quelques images illustrant les résultats de l'activité antibactérienne:



Figure 3 : Zones d'inhibition illustrant l'activité

Résultats et discussion

L'activité antibactérienne *in vitro* des souches de bactéries lactiques isolées a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar. Cette technique permet de mettre en évidence l'effet inhibiteur d'une souche productrice sur une bactérie indicatrice en observant, après incubation, la formation d'une zone translucide dépourvue de croissance microbienne autour du cylindre.

Le milieu de culture **Muller-Hinton** a été choisi en raison de sa richesse nutritive et de sa limpidité, favorisant une croissance optimale des bactéries indicatrices et permettant une lecture aisée des zones d'inhibition

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des cylindres d'agar a montré que, sur les 19 souches de bactéries lactiques testées, 12 isolats ont présenté un effet inhibiteur contre au moins une souche indicatrice, tandis que les 7 autres n'ont montré aucune activité détectable. Les souches BL3 et BL4 ont généré de larges zones d'inhibition qualitatives contre P10 et P11 (Camembert), traduisant une forte activité antimicrobienne non quantifiée. La souche BL7 a inhibé plusieurs indicatrices (P2 et P3 : sardine, P6 : viande, P11 : Camembert, P14 : sardine, P16 : *Staphylococcus* spp.), avec des diamètres de 6 à 12 mm, indiquant un spectre relativement large. Les souches BL9, BL10 et BL12 ont montré des inhibitions nettes contre les souches de viande (P1, P6, P9) et de sardine (P3, P14), avec des zones de 9 à 13 mm ; BL12 se distingue par son activité sur plusieurs indicatrices (P1, P3, P6, P9, P14 et P15), confirmant son spectre large. Les souches BL13, BL14 et BL15 ont présenté une inhibition limitée (5 à 7 mm), traduisant une activité faible et probablement spécifique. Les souches BL17 et BL18 ont montré une forte inhibition contre les bactéries de viande (P3 et P6), avec des zones allant jusqu'à 17 mm pour BL17, représentant la plus grande activité mesurée. Enfin, BL19 a légèrement inhibé P16 (*Staphylococcus*) avec un diamètre de 9 mm.

L'apparition de zones d'inhibition par 63 % des isolats indique une capacité notable des bactéries lactiques à produire des métabolites antimicrobiens tels que les acides organiques (lactique, acétique), le peroxyde d'hydrogène et/ou des bactériocines (nisine, pédiocine, plantaricine) qui agissent par acidification du milieu, oxydation ou perturbation des membranes cellulaires des germes cibles (**Piras et al., 2025; Putri et al., 2024; Evangelista et al., 2021**). L'absence d'activité chez certaines souches peut s'expliquer par la résistance naturelle des bactéries indicatrices, notamment les Gram

Résultats et discussion

négatifs, ou par une production insuffisante de métabolites antimicrobiens dépendant des conditions expérimentales telles que le milieu, le pH ou la phase de croissance (Kho et al., 2024; Sanam et al., 2022).

Plusieurs aspects ressortent de ces résultats. Les souches BL17 et BL18 se distinguent par leur activité élevée contre les bactéries de viande, cohérente avec des études montrant que certaines souches de *Lactobacillus* et *Enterococcus* produisent des bactériocines ou des acides organiques capables d'inhiber efficacement les entérobactéries et les *Staphylococcus* spp. (Zhang et al., 2022; Yang et al., 2023). La souche BL12 présente un spectre large, avec inhibition sur viandes, sardines, salade et Camembert, ce qui en fait un candidat polyvalent pour la bioconservation (Ben Braïek & Smaoui, 2019). À l'inverse, BL13, BL14 et BL15 présentent une activité limitée, probablement liée à une faible production de métabolites antimicrobiens ou à une action spécifique dépendant de la souche cible (Dobson et al., 2012). Enfin, BL3 et BL4 montrent un fort pouvoir inhibiteur sur Camembert, soulignant l'importance de mesurer quantitativement ces effets pour confirmer leur potentiel antimicrobien diffusible (Li et al., 2021).

Dans l'ensemble, ces résultats confirment que plusieurs souches lactiques possèdent un fort potentiel inhibiteur vis-à-vis des germes d'altération et pathogènes alimentaires issus de matrices diverses (viande, poisson, fromage, salade), tandis que d'autres présentent un spectre plus limité. L'activité observée peut être attribuée aux métabolites antimicrobiens produits : acides organiques abaissant le pH et inhibant les bactéries sensibles (Zhao et al., 2023), peroxyde d'hydrogène limitant la croissance des Gram positifs et Gram négatifs (Kho et al., 2024), et bactériocines actives surtout contre les Gram positifs tels que *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* (Piras et al., 2025; Putri et al., 2024).

La figure présente l'activité antibactérienne moyenne des différentes souches de bactéries lactiques contre les souches indicatrices, exprimée en diamètre de zone d'inhibition $\pm$ écart-type (ET), permettant de visualiser l'intensité et la variabilité de l'effet inhibiteur.

Résultats et discussion

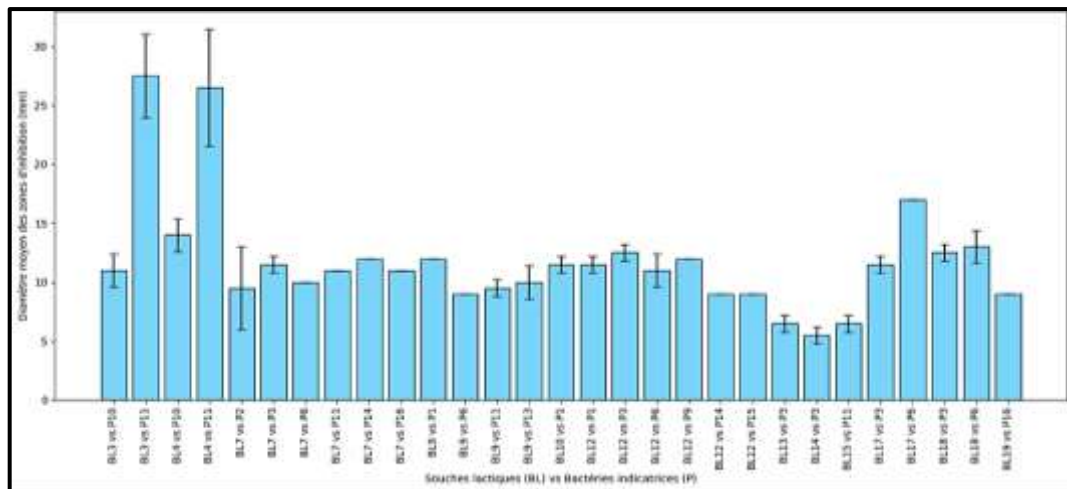


Figure 4 : Activité antibactériennes des souches lactique (moyenne +/- ET)

La figure 4 permet de visualiser l'effet antibactérien spécifique de chaque souche lactique (BL) sur les différentes souches **indicatrices** (P). L'intérêt de cette représentation est de mettre en évidence la variabilité d'activité selon la combinaison souche productrice/souche cible, ce qui reflète la spécificité des métabolites antimicrobiens produits (bactériocines, acides organiques, etc).

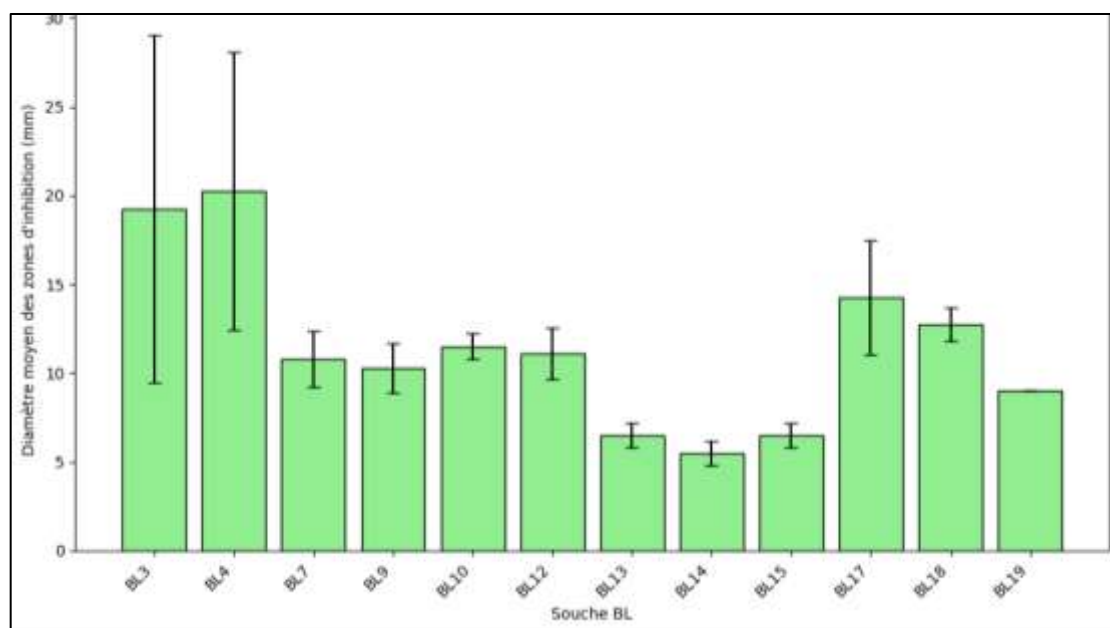


Figure 5 : Les résultats de l'Activité antibactériennes des souches lactique (moyenne +/- ET)

La figure 5 présente une synthèse de l'activité antibactérienne globale de chaque souche lactique, toutes bactéries indicatrices confondues. Cette représentation permet une comparaison directe entre les souches BL et facilite l'identification des isolats les

Résultats et discussion

plus prometteurs en tant que candidats potentiels pour la formulation de bioconservateurs.

Ainsi, l'utilisation conjointe de ces deux approches (spécifique et globale) fournit une vision à la fois **détaillée** (interactions ciblées) et **synthétique** (potentiel global) de l'activité antimicrobienne des souches lactiques testées.

La figure 6 : décrit la variabilité intra-souche lactique en regroupant les diamètres des zones d'inhibition obtenus contre différentes souches indicatrices. Il met en évidence la dispersion des résultats, permettant de comparer la stabilité et la régularité de l'effet antimicrobien entre les différentes souches lactiques.

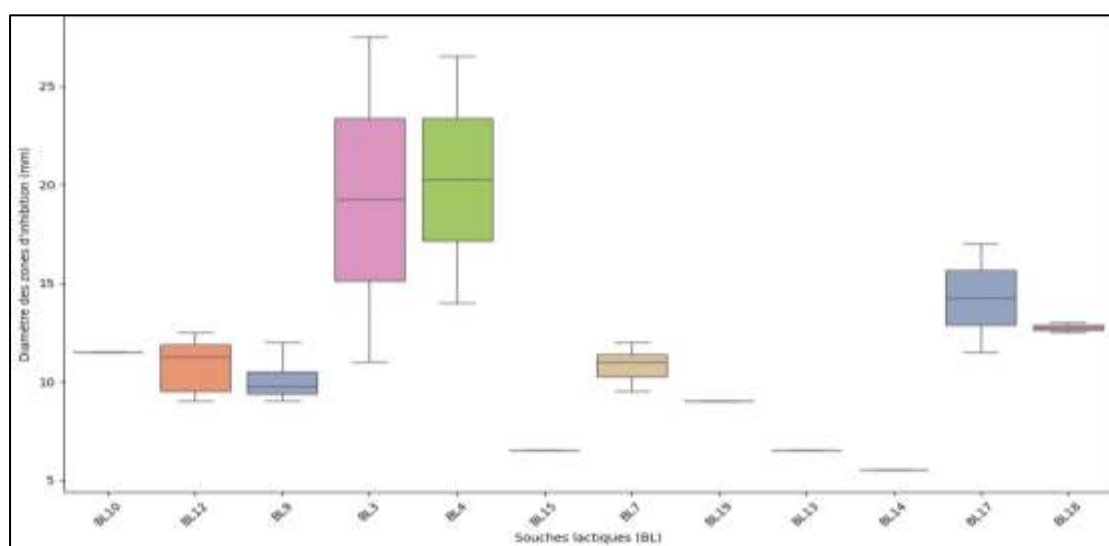


Figure 6 : Variabilité de l'Activité antibactériennes des souches lactique

4. Résultats des prototypes sur les aliments.

Une enquête de perception a été conduite afin d'évaluer l'accueil des consommateurs et professionnels vis-à-vis de prototypes de bioconservateurs naturels (film, gel, boîte). Sur un total de 72 répondants pour la question principale, 51,4 % (n = 37) se sont déclarés « très prêts » à essayer ces produits et 38,9 % (n = 28) « prêts » (total favorable = 90,3 %). Seuls 1,4 % (n = 1) se sont déclarés « non prêts » et 8,3 % (n = 6) étaient indécis. Concernant l'exigence de naturalité, sur 71 réponses, 77,5 % (n =

Résultats et discussion

55) ont jugé l'argument « 100 % naturel et comestible » « très important » et 22,5 % (n = 16) l'ont jugé « important ». Enfin, dans un sous-groupe de 22 répondants évaluant la forme produit préférée, 45,5 % (n = 10) ont préféré un film appliqué directement/emballage, 27,3 % (n = 6) un revêtement interne/plaquette, 13,6 % (n = 3) une forme pulvérisée (spray), 9,1 % (n = 2) une poudre et 4,5 % (n = 1) un gel. Les tableaux et diagrammes correspondants sont présentés en annexe (Annexe X) ; le questionnaire original est accessible via le lien QR code inséré en annexe.

Les résultats de l'enquête montrent une forte acceptation potentielle des prototypes de conservation naturels testés. Le fait que 90,3 % des répondants se déclarent prêts à essayer le produit indique une opportunité de marché importante pour Fermaprotect, en particulier si l'argument de naturalité est mis en avant : 77,5 % des répondants considèrent en effet que la naturalité/comestibilité est « très importante ». Ces données soutiennent l'orientation stratégique vers des produits destinés aux consommateurs soucieux de la santé et de la naturalité des additifs.

La préférence marquée pour la forme « film » (45,5 %) et pour les revêtements internes (27,3 %) oriente le développement technologique : prioriser la mise au point du film biodégradable et envisager un second produit « coating » pour la conservation en boîte. Les formes gel et poudre restent des options secondaires selon cet échantillon.

Les prototypes de bioconservation développés dans cette étude — gel, film biodégradable, poudre et emballage à revêtement actif, tous enrichis en bactéries lactiques — ont été appliqués sur différentes matrices alimentaires (viande, sardines, fromage à pâte molle, salade et raisin) afin d'évaluer leur efficacité après 15 jours de stockage. Les résultats montrent une réduction notable de la flore microbienne d'altération et une meilleure préservation des paramètres de qualité dans les échantillons traités, en particulier ceux protégés par le film et le gel. Les observations visuelles et les changements de qualité des aliments testés sont documentés par des photographies présentées dans le tableau en annexe, permettant d'illustrer l'effet protecteur des prototypes et leur impact sur l'intégrité des produits alimentaires.

Résultats et discussion

4.1.Évaluation de l'efficacité des prototypes de bioconservation

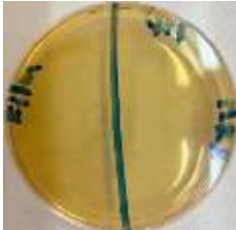
L'efficacité des quatre prototypes de bioconservateurs (gel, film, poudre, boîte à revêtement actif) a été testée sur les matrices alimentaires contaminées. Le contrôle microbiologique a été effectué après 15 jours de conservation, et les résultats sont comparés aux échantillons témoins non traités.

4.1.1. contrôle microbiologique des prototypes (gel/film)

Le tableau 13 présente les résultats du contrôle microbiologique des prototypes de bioconservation eux-mêmes (gel et film biodégradable), permettant d'évaluer leur stabilité microbiologique et l'absence de contamination indésirable avant application sur les aliments.

Résultats et discussion

Tableau 13: resultats de contrôle microbiologique des prototypes (gel/film)

Milieu	Gel / Film	Milieu	Gel / Film
GN		SABOURAUD	
VRBL		BP	
VF		Chapman	
MRS			

L'absence de croissance sur le milieu **Baird-Parker** traduit une **absence de contamination par *Staphylococcus aureus*** ou d'autres staphylocoques coagulase-positifs dans les échantillons testés. Ce résultat indique une bonne hygiène de

Résultats et discussion

fabrication et une maîtrise du processus, car ce milieu est hautement sélectif pour la détection de *S. aureus* (Thermo Fisher Scientific, 2023).

De même, l'absence de croissance sur le milieu Chapman (MSA) suggère que les staphylocoques halotolérants sont absents ou présents à un niveau indétectable. Ce milieu, riche en NaCl et mannitol, permet habituellement d'identifier les staphylocoques capables de tolérer des concentrations salines élevées (Thermo Fisher Scientific, 2023).

L'absence de colonies sur le milieu VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar) confirme également l'absence d'Enterobacteriaceae et de coliformes, ce qui traduit une bonne qualité microbiologique et une absence de contamination fécale ou environnementale (ISO 4832:2006; Thermo Fisher Scientific, 2023).

De plus, l'absence de croissance sur le milieu Sabouraud indique l'absence de levures et de moisissures viables, confirmant que les prototypes ne présentent pas de contamination fongique (ISO 21527-1:2008; Thermo Fisher Scientific, 2023). L'absence de croissance sur le milieu VF (Viande Foie) montre qu'aucun *Clostridium* ni autre groupe anaérobie strict n'a été détecté (AFNOR NF V08-061, 2009).

En revanche, la présence de petites colonies blanches à bords réguliers sur le milieu GN et la morphologie Gram positive cocco-bacillaire observée au microscope sont compatibles avec la présence de bactéries lactiques (LAB), bien que non spécifiques à ce stade (Axelsson, 2004).

Enfin, la croissance abondante observée sur le milieu MRS (De Man, Rogosa & Sharpe), caractérisée par des colonies blanches, régulières et brillantes, confirme la présence de bactéries lactiques viables. (De Man, Rogosa & Sharpe, 1960; Holzapfel & Wood, 2014).

Les résultats obtenus démontrent que les prototypes (gel et film) sont microbiologiquement sûrs, ne contenant aucune contamination pathogène détectable, tout en conservant des bactéries lactiques viables. Cette observation

Résultats et discussion

renforce la validité du procédé de formulation et confirme le potentiel bioprotecteur des produits développés

Le tableau 13 présente les résultats du contrôle microbiologique des prototypes de bioconservation eux-mêmes (gel et film biodégradable), permettant d'évaluer leur stabilité microbiologique et l'absence de contamination indésirable avant application sur les aliments.

4.1.2. Contrôle physicochimiques des prototypes (Film – Gel – Poudre)

Les analyses physicochimiques ont été menées sur les trois prototypes afin de caractériser leurs propriétés structurelles et fonctionnelles, lesquelles conditionnent leur mécanisme de libération des agents actifs, leur stabilité et leur potentiel d'application. Les résultats sont présentés dans ce tableau. Les résultats sont présentés dans ce **tableau.14**

Tableau 14 : résultats Contrôle physicochimiques des prototypes (Film – Gel – Poudre)

	Film	Gel	Poudre
pH	6 ,28	5,59	6,06
Humidité	9,06%	94,02%	2,07%
M minérale	99 ,70%	1,57%	6,75%
M organique	0,30%	98 ,43%	93,25%
Pr	0g	2,90g	15,20g
Lipides	0g	5,70g	17 ,07g

1. Potentiel Hydrogène (pH)

Les valeurs de pH mesurées pour les prototypes se situent dans une gamme légèrement acide, variant de 5,59 (Gel) à 6,28 (Film), avec une valeur intermédiaire de 6,06 (Poudre). Cette acidité est un indicateur direct de la présence de métabolites secondaires issus de la fermentation des bactéries lactiques, principalement l'acide lactique. Le pH significativement plus faible du Gel (5,59) suggère une concentration ou une rétention supérieure des acides organiques au sein de sa matrice hydratée.

Résultats et discussion

Cette caractéristique est cruciale, car l'acide lactique est un agent antimicrobien reconnu, dont l'efficacité est souvent corrélée à un pH bas, favorisant l'inhibition de la croissance microbienne.

2. Teneur en humidité

Les prototypes présentent des profils hydriques très contrastés :

- **Gel : 94,02 %** → Matrice fortement hydratée, favorisant une libération des composés antimicrobiens.
- **Film : 9,06 %** → Faible teneur en eau, conférant une structure dense et une stabilité accrue, propice à une libération lente et prolongée.
- **Poudre : 2,07 %** → Teneur minimale, garantissant une stabilité optimale à l'entreposage et une concentration maximale des biomolécules actives.

La faible teneur en eau du Film et de la Poudre est un facteur de stabilité essentiel, limitant les réactions d'altération enzymatique et microbienne, tandis que la haute hydratation du Gel permet une action immédiate lors de l'application. (**Fellows, 2017**)

3. Matières minérales et organiques

Les résultats montrent une nette opposition entre les matrices :

- **Film : 99,70 % de matières minérales**, ce qui suggère une structure fortement enrichie en composés inorganiques (polymères, additifs stabilisateurs).
- **Gel : 98,43 % de matières organiques**, cohérent avec la prédominance de polysaccharides, protéines et métabolites lactiques.
- **Poudre : 93,25 % de matière organique**, indiquant une composition concentrée en biomolécules actives.

Cette richesse en matière organique pour le gel et la poudre favorise la présence de métabolites antimicrobiens et de biomolécules fonctionnelles (**García-Cayuela et al., 2019**).

4. Protéines

Résultats et discussion

Aucune protéine n'a été détectée dans le film, probablement en raison de sa nature essentiellement polysaccharidique ou minérale. En revanche, le gel (**2,90 g**) et surtout la poudre (**15,20 g**) sont significativement riches en protéines, ce qui indique une concentration élevée des composés extracellulaires produits par les bactéries lactiques, y compris des peptides antimicrobiens (bactériocines) (**Castellano et al., 2017**).

5. Lipides

L'absence totale de lipides dans le film confirme son caractère essentiellement hydrophile.

Le gel (**5,70 g**) et la poudre (**17,07 g**) montrent des teneurs plus importantes, probablement liées à la présence de composants lipidiques résiduels issus des milieux de culture ou des membranes cellulaires des bactéries lactiques. Ces lipides peuvent également jouer un rôle dans l'amélioration de l'adhésion des formulations aux surfaces alimentaires. (**Han, 2014**).

Les résultats démontrent que chaque prototype possède **des caractéristiques physicochimiques distinctes** qui influencent son comportement technologique :

• Le film

Structure sèche, très minérale et stable, adaptée à une libération lente des composés antimicrobiens et à une application directe en tant qu'emballage actif. Sa faible humidité limite les réactions enzymatiques et microbiennes.

• Le gel

Formulation très hydratée, riche en matière organique et modérément acide, ce qui favorise une **libération rapide** des métabolites antimicrobiens. Il constitue un bon candidat pour le traitement de surfaces sensibles et irrégulières.

• La poudre

Produit sec, concentré en protéines et lipides, assurant une **haute densité de biomolécules actives** et une excellente stabilité au stockage. Son profil suggère un

Résultats et discussion

potentiel intéressant pour des applications d'enrobage ou d'incorporation directe dans les aliments.

Ainsi, la complémentarité des trois prototypes souligne la polyvalence de la stratégie bioconservatrice développée : chaque forme offre des avantages spécifiques en fonction de la nature de l'aliment et des besoins de conservation.

4.1.3. Caractéristiques organoleptiques des prototypes

L'évaluation sensorielle, menée sur un panel de participants, a permis de quantifier les perceptions organoleptiques des trois prototypes (Film, Gel, Poudre) selon quatre critères clés : l'Aspect Visuel, l'Odeur, la Texture et l'Acceptabilité Globale. L'échelle de notation utilisée allait de 1 (insatisfaisant) à 5 (excellent) pour les critères descriptifs et de 1 (inacceptable) à 5 (très acceptable) pour l'acceptabilité globale, avec un niveau de 4 et 5 correspondant à une perception positive et à une acceptabilité satisfaisante.

1. Prototype Film

Le prototype Film a démontré une performance sensorielle élevée, particulièrement sur les critères visuels. L'**Aspect Visuel** (transparence, uniformité) a été jugé majoritairement très satisfaisant, avec 50 % des panélistes attribuant la note maximale (5) et 41,7 % la note de 4. Concernant l'**Odeur**, 41,7 % ont attribué la note 4, bien que 33,3 % l'aient classée à un niveau intermédiaire (3). La **Texture** a également été un point fort, 50 % des participants ayant noté 4 et 41,7 % la note 5. En conséquence, l'**Acceptabilité Globale** du Film est la plus élevée des trois formes, 58,3 % des panélistes l'ayant jugé très acceptable (4), avec un total de 91,6 % de notes positives (4 et 5).

2. Prototype Gel

Le Gel s'est distingué par sa **Texture**, qui a reçu le niveau d'appréciation le plus élevé parmi tous les prototypes, avec 58,3 % des notes maximales (5), démontrant une excellente consistance perçue. L'**Aspect Visuel** du Gel a également été bien perçu (50 % de notes 4 et 33,3 % de notes 5). Cependant, l'évaluation de l'**Odeur** a révélé une plus grande dispersion des avis, 50 % des notes étant concentrées sur le niveau 3

Résultats et discussion

(intermédiaire), suggérant une perception olfactive neutre ou moins caractéristique. L'**Acceptabilité Globale** du Gel est restée majoritairement positive, avec 50 % de notes 4 et 33,3 % de notes 5.

3. Prototype Poudre

Le prototype Poudre a enregistré des scores positifs mais avec une plus grande variabilité. L'**Aspect Visuel** a reçu des évaluations similaires au Film, avec 50 % de notes 5 et 33,3 % de notes 4, indiquant une bonne homogénéité. En revanche, l'**Odeur** présente une forte concentration sur le niveau 4 (58,3 %), ce qui en fait le critère olfactif le mieux noté. Le critère le plus hétérogène est la **Texture**, qui, bien qu'ayant 58,3 % de notes 4, a également reçu des notations plus basses (8,3 % à 1 et 16,7 % à 2), indiquant des non-conformités ou des difficultés d'appréciation pour une minorité de panélistes. L'**Acceptabilité Globale** de la Poudre suit cette tendance positive (50 % à 4 et 33,3 % à 5), mais elle est légèrement inférieure à celle du Film.

La phase d'évaluation sensorielle était cruciale pour valider l'adéquation organoleptique des prototypes avant de procéder aux essais d'application. Les résultats démontrent globalement une acceptabilité satisfaisante des trois formes développées, confirmant leur potentiel d'utilisation.

Le **Prototype Film** apparaît comme le plus performant en termes d'Acceptabilité Globale, ce qui est directement corrélé à l'excellence des scores pour l'Aspect Visuel et la Texture. La forte cohérence et la transparence du Film contribuent positivement à l'acceptation par le consommateur, car l'aspect est le premier critère de jugement. Le Film, de par sa nature physique, semble minimiser les perceptions indésirables, ce qui le positionne idéalement pour une incorporation discrète dans des matrices alimentaires.

Le **Prototype Gel**, bien qu'ayant une Acceptabilité Globale satisfaisante, présente un défi au niveau de l'Odeur, notée majoritairement comme neutre ou ambiguë (note 3). En formulation, une odeur neutre peut être avantageuse, mais sa position médiane pourrait signaler une légère note indésirable que l'application alimentaire devra masquer. Son point fort réside incontestablement dans sa **Texture** (58,3 % de notes

Résultats et discussion

5), indiquant une fluidité ou une onctuosité jugée très agréable, ce qui est un atout majeur pour les applications nécessitant un enrobage ou une dispersion.

Le **Prototype Poudre** se distingue par une excellente appréciation de l'Odeur. Cependant, sa performance hédonique est freinée par la **Texture**, où les notes faibles (1 et 2) suggèrent des problèmes de perception liés à la granularité ou à l'homogénéité du produit. Cette variabilité est prévisible pour une poudre, où la perception en bouche (si c'était un test gustatif) ou la manipulation peut être affectée par des particules de tailles inégales ou un caractère pulvérulent trop prononcé. Ces non-conformités minoritaires exigent un contrôle accru de la granulométrie pour assurer une dissolution ou une incorporation plus uniforme dans les futurs essais.

Tous les prototypes atteignent le seuil d'acceptabilité requis. Le Film et le Gel sont les plus prometteurs pour un transfert réussi en application alimentaire, tandis que la Poudre nécessitera une optimisation ciblée de sa texture pour garantir la pleine satisfaction de tous les utilisateurs. Ces résultats confirment la pertinence des trois prototypes pour la prochaine phase d'évaluation.

4.2. Évaluation sensorielle des aliments traités par les prototypes Fermaprotect

La très bonne acceptabilité sensorielle observée sur l'ensemble des aliments traités suggère que Fermaprotect a efficacement préservé leurs qualités organoleptiques après une semaine de réfrigération. En effet, l'odeur, le goût (le cas échéant), la couleur et l'absence de signes visibles d'altération ont été jugés satisfaisants dans tous les cas. Ces résultats sont cohérents avec la littérature sur les effets préservateurs des métabolites de bactéries lactiques. Par exemple, Arain et al. (2025) rapportent que la combinaison de probiotiques et de leurs peptides antimicrobiens prolonge la durée de vie des produits (viandes, produits laitiers, légumes) en contrôlant efficacement la charge microbienne et en retardant la détérioration de même, Sivamaruthi et al. (2025) soulignent que les bactéries lactiques produisent divers composés bioactifs (acides organiques, bactériocines, exopolysaccharides...) qui améliorent la sécurité alimentaire et la qualité sensorielle en inhibant les micro-organismes altérants.

Par conséquent, nos observations (couleur vive, odeur non altérée, goût conservé) montrent que Fermaprotect a permis de maintenir la fraîcheur perçue de ces aliments

Résultats et discussion

sensibles, ce qui concorde avec l'effet attendu d'une réduction de l'activité microbienne et de l'oxydation.

Cette efficacité s'explique par les mécanismes d'action des métabolites de bactéries lactiques. D'une part, ces métabolites exercent des activités antimicrobiennes bien documentées (via la production d'acides organiques, de bactériocines ou de peroxyde d'hydrogène) qui ciblent spécifiquement les bactéries responsables du pourrissement.

D'autre part, certains peptides ou composés phénoliques associés aux fermentations lactiques possèdent des effets antioxydants, retardant l'oxydation lipidique et la dégradation des pigments (responsables d'odeurs rances et de changements de couleur)

Cette double action antimicrobienne et antioxydante explique que les aliments traités conservent leur couleur normale et n'ont pas développé d'odeur désagréable, tout en gardant un goût agréable. Ainsi, selon Sharma et al. (2022), l'application de métabolites de bactéries lactiques permet d'inhiber l'oxydation lipidique et la croissance microbienne (grâce à leur richesse en composés phénoliques et acides organiques), prolongeant ainsi naturellement la durée de conservation sans altérer les propriétés organoleptiques

Nos résultats confirment donc que les prototypes Fermaprotect combinent des effets antimicrobiens et antioxydants reconnus pour préserver la qualité sensorielle des aliments périssables.

5. Résultats de contrôle qualité des aliments testent par les prototypes

L'efficacité des quatre prototypes de bioconservateurs (gel, film, poudre, boîte à revêtement actif) a été testée sur les matrices alimentaires contaminées. Le contrôle microbiologique a été effectué après 15 jours de conservation, et les résultats sont comparés aux échantillons témoins non traités

5.1. contrôle microbiologique

Les résultats du contrôle microbiologique des aliments testés après 15 jours de stockage avec les différents prototypes (gel, film biodégradable, poudre, boîte à revêtement actif) ainsi que le témoin sont présentés dans les tableaux figurant en

Résultats et discussion

annexe, classés selon chaque type d'aliment. Il est notable que le film biodégradable et le gel ont systématiquement démontré une efficacité supérieure, se traduisant par une réduction microbienne plus importante que la poudre et la boîte à revêtement actif. Cette différence peut être attribuée à la cinétique de libération et à la surface de contact : les formes gel et film permettent un contact direct et prolongé entre les bactéries lactiques (ou leurs métabolites) et la surface de l'aliment, assurant une libération continue et localisée des agents antimicrobiens. Le film, en particulier, agit comme une barrière physique et chimique, optimisant l'effet bioprotecteur. En revanche, la poudre nécessite souvent une humidité spécifique pour activer les bactéries lactiques, et la boîte à revêtement actif peut présenter une diffusion limitée des composés volatils ou un contact insuffisant avec l'aliment.

Les résultats présentés dans le **tableau 15** ci-dessous illustrent l'impact des formulations prototypes (boîte, gel et film biodégradable) sur la qualité microbiologique de différentes matrices alimentaires (viande, camembert, raisin, fraise, salade et poisson) après 15 jours de conservation. Les valeurs exprimées en log UFC/g permettent de comparer la charge microbienne entre les échantillons témoins et les produits traités. Conformément aux critères microbiologiques définis par le Journal Officiel de la République Algérienne (Arrêté et Annexe I, 2017), les échantillons témoins présentent majoritairement des charges supérieures aux limites réglementaires et sont donc considérés comme **non conformes** ou de qualité **insatisfaisante**, tandis que les aliments traités par les prototypes affichent des réductions significatives de la flore microbienne, conduisant à des statuts **satisfaisants** ou **acceptables**, selon le type de micro-organisme et la matrice alimentaire. Ces résultats confirment l'efficacité des prototypes, en particulier le gel et le film, dans la maîtrise de la prolifération microbienne et l'amélioration de la sécurité alimentaire.

Tableau 15 : Évaluation microbiologique des aliments testés avec prototypes bioconservateurs et témoins après 15 jour

Matrice alimentaire	Groupe microbien	Témoin (log UFC/g)	Boîte (log UFC/g)	Gel (log UFC/g)	Film (log UFC/g)	Qualité selon normes
Viande de bœuf	Coliformes totaux (VRBG)	>7,52	5,04	5,94	5,94	Témoin : Non conforme ;

Résultats et discussion

	CT)					Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Viande de bœuf	Coliformes fécaux (VRBG CF)	6,76	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Viande de bœuf	Flore mésophile (GN)	6,74	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Viande de bœuf	Salmonella (SS)	>7,52	6,66	6,52	6,52	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Acceptable
Camembert	Coliformes totaux (VRBG CT)	>7,52	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Camembert	Coliformes fécaux (VRBG CF)	>7,52	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Camembert	Staphylococcus aureus (Baird-Parker)	5,74	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Camembert	Flore mésophile (GN)	6,74	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Camembert	Salmonella (SS)	7,04–7,52	6,42	6,30	6,30	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film

Résultats et discussion

						: Acceptable
Raisin	Coliformes totaux (VRBG CT)	>7,52	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Raisin	Coliformes fécaux (VRBG CF)	6,30	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Raisin	Flore mésophile (GN)	>7,52	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Fraise	Salmonella (SS)	6,12–7,52	5,04	5,04	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Salade	Coliformes totaux (VRBG CT)	6,34	5,04	5,03	5,04	Témoin : Non conforme ; Boîte/Gel/Film : Satisfaisante
Salade	Flore mésophile (GN)	6,62	6,04	5,89	6,04	Témoin : Non conforme ; Boîte : Acceptable ; Gel/Film : Satisfaisante
Salade	Levures & moisissures (Sabouraud)	>7,52	6,92	6,36	6,62	Témoin : Non conforme ; Boîte : Acceptable ; Gel/Film : Satisfaisante

Résultats et discussion

Salade	Salmonella (SS)	>7,52	6,42	6,34	5,52	Témoin : Non conforme ; Boîte : Acceptable ; Gel/Film : Satisfaisante
Poisson (sardine)	Coliformes totaux (VRBG CT)	7,22	5,04	6,04	6,04	Témoin : Non conforme ; Boîte : Satisfaisante ; Gel/Film : Satisfaisante
Poisson (sardine)	Coliformes fécaux (VRBG CF)	6,34	5,04	5,64	5,64	Témoin : Non conforme ; Boîte : Satisfaisante ; Gel/Film : Satisfaisante
Poisson (sardine)	Flore mésophile (GN)	6,63	5,04	6,04	6,04	Témoin : Non conforme ; Boîte : Satisfaisante ; Gel/Film : Satisfaisante
Poisson (sardine)	Salmonella (SS)	7,33–7,52	6,66	7,34	5,52	Témoin : Non conforme ; Boîte : Acceptable ; Gel : Acceptable ; Film : Satisfaisante

Résultats et discussion

Les analyses réalisées à J15 sur les cinq matrices alimentaires (viande de bœuf, poisson — sardine, camembert, salade, fraise/raisin) et sur les quatre traitements (témoin, boîte à revêtement actif, gel, film biodégradable) montrent une tendance nette : **les prototypes contenant des bactéries lactiques (gel et film)** réduisent significativement les charges microbiennes par rapport aux témoins non traités, tandis que la **boîte** présente une efficacité intermédiaire. Les témoins affichent fréquemment des comptages TNTC (>300 colonie/boîte ; approximativement $\geq 3,3 \times 10^7$ UFC/g) ou des valeurs élevées (10^6 – 10^8 UFC/g) sur des milieux indicateurs (VRBG, GN, Sabouraud, SS), indiquant une altération prononcée. En revanche, la plupart des échantillons traités par gel et film présentent des charges réduites, souvent en dessous des seuils réglementaires usuels (valeurs $\approx 10^4$ – 10^5 UFC/g ou nulles selon le germe et la matrice). Ces effets sont reproductibles sur les matrices testées et illustrent l'intérêt du concept Fermaprotect pour la bioconservation naturelle.

- **viande de bœuf**

Les témoins présentent des charges très élevées (coliformes totaux TNTC ; flore mésophile $\approx 5,5 \times 10^6$ UFC/g ; Salmonella suspectée) indiquant altération et risque sanitaire. Les échantillons traités par **gel et film** affichent des charges fortement décroître ($\approx 10^5$ – 10^6 UFC/g ou valeurs proches de 10^5), souvent classées **satisfaisantes** selon les repères utilisés ici. L'absence (ou quasi-absence) de croissance dans les traitements montre que les prototypes contrôlent efficacement la prolifération, probablement grâce à un contact direct et une libération locale des métabolites antimicrobiens (acides organiques, bactériocines) (**Putri et al., 2024; Marcelli, 2024**).

- **Poisson**

Le témoin montre une flore élevée (VRBG $1,5 \times 10^7$ UFC/g ; Sabouraud et SS >300). Les prototypes — en particulier **film et gel** — réduisent notablement la charge microbienne (valeurs souvent $<10^6$ UFC/g ou non détectables pour coliformes fécaux), ce qui atteste d'un fort effet inhibiteur applicable aux produits marins. Cela concorde avec la littérature qui signale l'efficacité des LAB et de leurs métabolites contre la flore d'altération marine (**Silva et al., 2023; Putri et al., 2024**).

Résultats et discussion

- **Camembert (fromage à pâte molle)**

Le témoin initial présentait une flore élevée et des colonies suspectes sur milieux sélectifs (VRBG, Sabouraud, SS). Après traitement, **film et gel** ont maintenu des charges basses (souvent $\leq 10^5$ UFC/g), tandis que la boîte réduit mais de façon moins marquée. Les fromages sont sensibles aux moisissures et entérobactéries ; l'activité antifongique et antibactérienne des LAB dans matrices laitières est bien décrite (Sharma, 2022; Pujato, 2024) et explique la performance observée.

- **Salade (laitue)**

Témoin : forte présence de levures/moisissures (>300 UFC) et flore mésophile modérée–élevée. Prototypes : **gel** réduit fortement levures et flore totale (ex. Sabouraud 21 UFC pour gel vs >300 témoin), **film** comparable, **boîte** moins efficace mais amélioration tout de même. Les matrices végétales bénéficient d'un contact prolongé et d'une libération continue des composés antimicrobiens pour limiter les contaminations aéroportées et de surface (Marcelli, 2024; Silva et al., 2023).

Raisin (fruits)

Les témoins présentent des charges totales très élevées et présence suspecte de Salmonella sur certains échantillons. **Film et gel** limitent fortement la prolifération des levures et moisissures, prolongeant visiblement la stabilité organoleptique et microbiologique. Les fruits, du fait de leur sensibilité, tirent particulièrement bénéfice des films actifs qui fournissent barrière physique et action antimicrobienne locale (Figueroa et al., 2024).

Comparaison entre prototypes (gel vs film vs boîte)

1. **Film $\geq$ Gel $>$ Boîte** : le film biodégradable et le gel montrent les meilleures réductions de charges microbiennes et la plus grande uniformité d'action.
2. **Explication technologique** : film et gel assurent un contact direct et prolongé entre la population de BL (ou leurs métabolites) et la surface alimentaire — favorisant une libération continue et localisée des composés antimicrobiens (acides organiques, H_2O_2 , bactériocines) et une barrière physique contre la contamination aéroportée (Putri et al., 2024; Silva et al., 2023).

Résultats et discussion

3. **Boîte** : efficacité médiée due à une diffusion spatiale et à une cinétique de libération parfois limitée ; l'effet dépend fortement de l'humidité, de la surface d'échange et du volume d'air confiné.

Les résultats observés sont cohérents avec les mécanismes documentés des LAB : (i) **acidification locale** (production d'acides lactique et acétique) diminuant la viabilité des espèces sensibles ; (ii) **production de bactériocines** (peptides antimicrobiens diffusibles) particulièrement actifs sur Gram-positifs ; (iii) **peroxyde d'hydrogène** et autres métabolites oxydants ; (iv) **compétition nutritive et exclusion** (y compris mécanismes de déplétion en oligo-éléments) (Putri et al., 2024; Pujato, 2024; Sharma, 2022). Ces mécanismes agissent de façon combinée et expliquent la réduction multi-paramètres (coliformes, flore mésophile, levures/moisissures, staphylocoques).

5.2. Contrôle physicochimiques

Les essais de conservation ont été menés sur une période de **dix jours**, durée choisie en raison de sa représentativité pour l'évaluation de la stabilité des aliments périssables conservés à température réfrigérée (4 ± 1 °C), conformément aux recommandations de la **FAO (2020)** et de l'**ISO 6887-1 (2017)**. Cette période permet de distinguer les altérations précoces d'origine microbienne et enzymatique des effets protecteurs potentiels induits par les prototypes bioconservateurs.

Cinq matrices alimentaires ont été sélectionnées pour leur **diversité biochimique** et leur **sensibilité différentielle à l'altération** :

- La **viande de bœuf hachée**, riche en **protéines (environ 35–40 g/100 g)** et en lipides, représente un substrat nutritif favorable au développement des bactéries mésophiles et des entérobactéries, ce qui en fait un modèle idéal pour tester l'effet antimicrobien des bioconservateurs (Doulgeraki et al., 2012).
- Le **poisson frais (sardine)**, caractérisé par une teneur élevée en **acides gras polyinsaturés** et une activité enzymatique post-mortem importante, est particulièrement vulnérable à l'oxydation lipidique et à la dégradation protéique (Gram & Huss, 1996).
- Le **camembert** constitue une matrice lactée fermentée où la flore microbienne naturelle influence fortement le pH et la texture ; il sert ici à évaluer la

Résultats et discussion

compatibilité des prototypes avec des aliments riches en matières grasses et en eau (Fox et al., 2017).

- La **laitue** représente un aliment végétal à forte activité hydrique ($a_w > 0,98$) et à structure fragile, souvent exposé aux contaminations superficielles, ce qui en fait un bon indicateur de la stabilité microbiologique des films comestibles (Zhao et al., 2019).
- Enfin, le **raisin** est choisi pour sa richesse en **sucres fermentescibles** et en composés phénoliques, pouvant influencer à la fois la croissance microbienne et l'activité antioxydante des souches lactiques (Nikoloudaki et al., 2021).

L'ensemble de ces aliments a été analysé selon deux conditions expérimentales :

1. **Témoins non traités**, conservés pendant 10 jours, servant de référence pour observer les altérations naturelles ;
2. **Aliments traités** avec les quatre **prototypes bioconservateurs** (gel, film biodégradable, poudre et boîte à revêtement), chacun contenant des bactéries lactiques viables à activité antimicrobienne reconnue.

Cette approche comparative permet d'évaluer non seulement la **stabilité physicochimique** (pH, humidité, protéines, lipides, matières minérales et organiques), mais aussi la **durabilité de la qualité globale** au cours de la période de conservation, en lien avec l'efficacité des formulations naturelles testées

Après dix jours de conservation, les variations observées au niveau des paramètres physicochimiques tels que le **pH**, l'**humidité**, les **matières minérales**, les **matières organiques**, ainsi que les **teneurs en protéines et lipides**, constituent des indicateurs essentiels de la stabilité et de la qualité des aliments. Ces paramètres traduisent à la fois l'**activité métabolique résiduelle** des micro-organismes présents et les **réactions biochimiques** (oxydation, hydrolyse, fermentation) intervenant au cours du stockage (Al-Juhaimi & Özcan, 2017).

L'étude comparative entre les **échantillons témoins** et ceux **traités par les prototypes à base de bactéries lactiques** (gel, film, poudre et boîte à revêtement) permet ainsi d'évaluer l'efficacité bioconservatrice de chaque formulation. En effet, la présence de bactéries lactiques viables dans ces matrices est susceptible de **réguler le**

Résultats et discussion

pH, de ralentir la dégradation protéique et lipidique, et de limiter la perte d'humidité grâce à la production d'acide lactique et de métabolites antimicrobiens (García-Cayuela et *al.*, 2019).

Les résultats qui suivent illustrent ces effets protecteurs à travers une série de graphiques comparatifs mettant en évidence les différences entre les **aliments témoins (jour 0 et jour 15)** et les **aliments traités par les prototypes**. Ces observations permettront de déterminer si les bioconservateurs testés offrent une **protection significative contre l'altération** et contribuent au **maintien des qualités nutritionnelles et sensorielles** au cours du stockage.

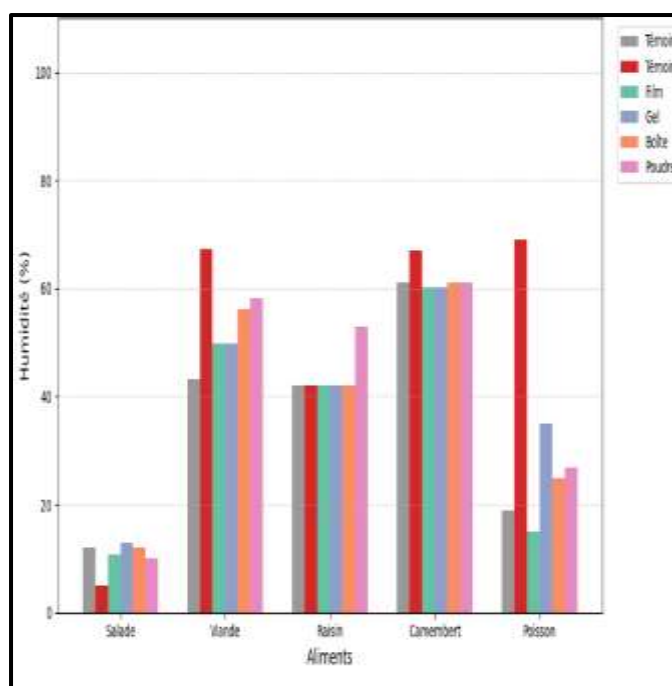


Figure 6: Comparaison de la matière organique __ témoin j0 vs j15 et prototypes

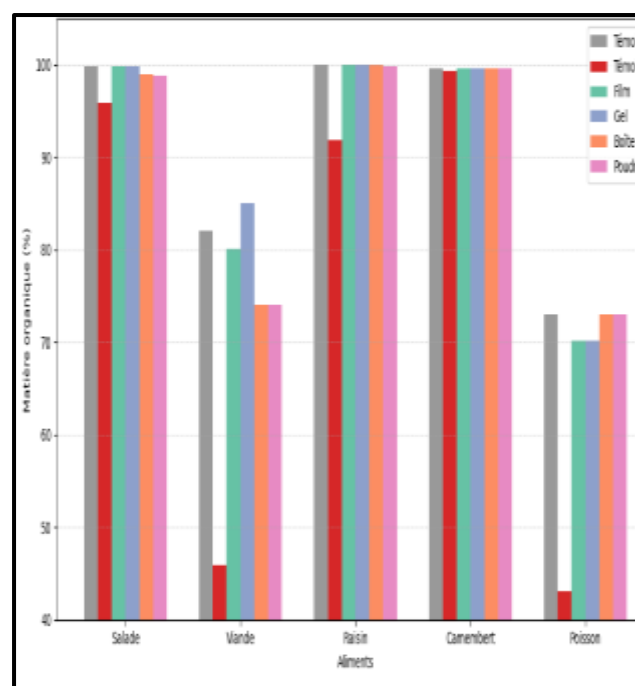


Figure 7 : Comparaison de l'humidité
Témoin j0 vs j15 et prototypes

Résultats et discussion

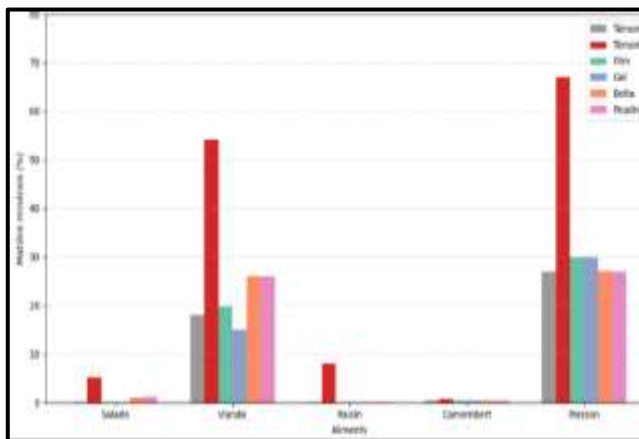


Figure 8: Comparaison de la matière minérale __ témoin j0 vs j15 et prototypes

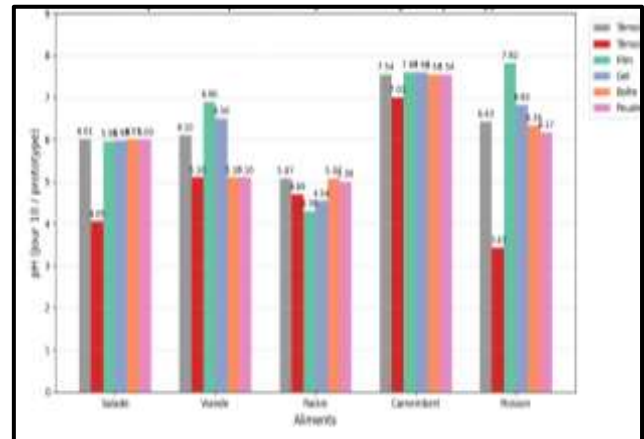


Figure 9 : Comparaison du pH témoin j0 vs j15 et prototypes

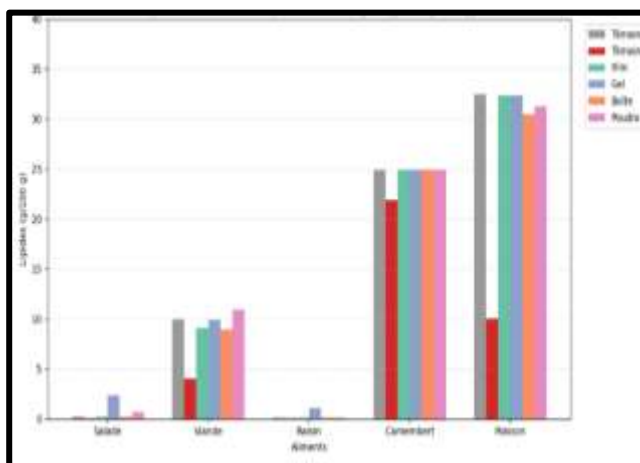


Figure 10 : Comparaison du taux de protéines témoin j0 vs j15 et prototypes

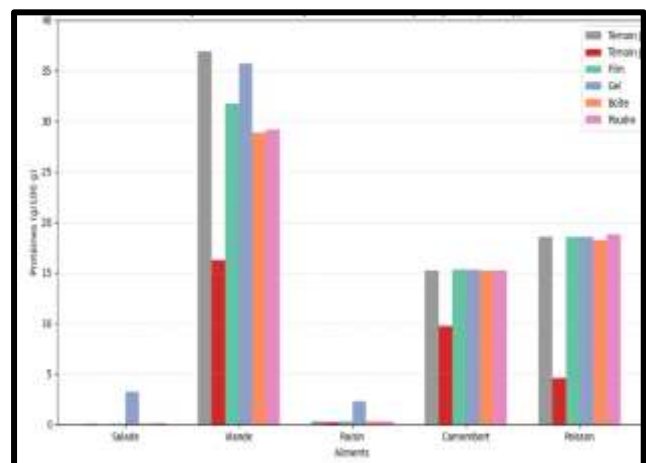


Figure 11: Comparaison du taux de lipides __ témoin j0 vs j15 et prototypes

Résultats et discussion

La surveillance des paramètres physicochimiques au cours de la période de conservation de dix jours a permis d'évaluer l'effet des différents prototypes de bioconservateurs (film, gel, boîte et poudre) sur la stabilité de divers aliments périssables, à savoir la salade, la viande rouge, le raisin, le camembert et le poisson. Les mesures effectuées ont porté sur le pH, l'humidité, la teneur en matières minérales et organiques, ainsi que sur les concentrations en protéines et lipides. Ces paramètres sont des indicateurs essentiels de la qualité, de la fraîcheur et de la stabilité des produits alimentaires au cours du stockage (Fellows, 2017).

1. Variation du pH

Le pH est un paramètre déterminant pour la stabilité microbiologique et chimique des aliments. Dans les échantillons témoins, une diminution significative du pH a été observée après 10 jours, notamment pour la salade (de 6,01 à 4,05) et le poisson (de 6,43 à 3,43). Cette acidification traduit une activité microbienne intense conduisant à la production d'acides organiques par fermentation spontanée ou altération (Jay, Loessner & Golden, 2005). En revanche, les échantillons traités avec les prototypes, notamment le **film** et le **gel à base de bactéries lactiques**, ont maintenu des valeurs de pH proches des valeurs initiales, voire légèrement plus élevées. Cela suggère un effet stabilisant attribuable à l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques, capables d'inhiber les flores d'altération et de limiter la fermentation indésirable (De Vuyst & Leroy, 2020). Ces résultats confirment que les prototypes agissent comme régulateurs de la flore microbienne, maintenant un pH favorable à la conservation tout en évitant les dérives acides typiques des produits témoins.

2. Évolution de l'humidité

L'humidité constitue un indicateur critique de la détérioration alimentaire. Après dix jours, les témoins ont montré une augmentation importante de la teneur en eau, notamment dans la viande (de 43,17 % à 67,17 %) et le poisson (de 18,97 % à 68,97 %), traduisant une dégradation de la structure cellulaire et une prolifération microbienne (FAO, 2019).

À l'inverse, les échantillons traités avec les prototypes ont présenté une stabilité hydrique supérieure : le **film** et le **gel** ont limité les pertes d'eau dans les matrices végétales (salade, raisin) et les gains d'humidité dans les matrices animales (viande, poisson, camembert). Cette stabilité est due à l'effet barrière des polymères naturels

Résultats et discussion

formant les bioconservateurs, qui réduisent les échanges gazeux et hydriques (**Han, 2014**).

3. Matières minérales et organiques

Les matières minérales (résidus après incinération) reflètent la stabilité des composants inorganiques tandis que la matière organique représente la part combustible (protéines, lipides, glucides). Les témoins ont montré une forte augmentation des minéraux après 10 jours (jusqu'à +50 % pour la viande), indiquant une perte de matière organique par oxydation et dégradation microbienne. Les prototypes, surtout la **poudre** et la **boîte à revêtement**, ont mieux préservé les équilibres minéraux et organiques, ce qui témoigne d'une moindre dégradation chimique des aliments (**Rahman, 2007**).

4. Protéines et lipides

Les pertes en protéines et lipides observées dans les témoins après 10 jours traduisent une dégradation enzymatique et microbienne rapide. Par exemple, les protéines de la viande sont passées de 36,87 g à 16,27 g, et les lipides de 10 g à 4 g, illustrant une altération importante. En revanche, les prototypes ont permis de maintenir des teneurs proches des valeurs initiales, voire légèrement améliorées dans le cas du **gel**, probablement grâce à une meilleure protection des macromolécules par les métabolites des bactéries lactiques, notamment les bactériocines et les acides organiques faibles (**Castellano et al., 2017**).

Ces observations suggèrent que les films et gels à base de bactéries lactiques exercent un effet de conservation à la fois **antimicrobien** et **antioxydant**, limitant la dégradation des protéines et des lipides tout en stabilisant les paramètres globaux de composition.

L'analyse comparée montre clairement que les aliments témoins ont subi d'importantes altérations après dix jours, tandis que les aliments protégés par les prototypes, notamment le **film** et le **gel**, ont conservé leurs caractéristiques physicochimiques initiales. Le **film alimentaire** s'est distingué par sa capacité à stabiliser le pH et à réduire la perte d'humidité, alors que le **gel** a montré un effet protecteur sur les protéines et lipides. Ces résultats démontrent la performance technologique des prototypes à base de bactéries lactiques dans la prolongation de la

Résultats et discussion

durée de conservation des aliments frais, tout en maintenant leur qualité nutritionnelle et organoleptique.

Ces constats rejoignent les travaux de **Coma (2008)** et **Ojagh et al. (2010)**, qui ont rapporté l'efficacité des films biodégradables enrichis en cultures lactiques dans la préservation de la viande et du poisson par inhibition des flores d'altération et réduction de l'oxydation lipidique.

Ainsi, après dix jours de conservation, les résultats physicochimiques confirment l'efficacité des prototypes, en particulier du **film** et du **gel**, dans le maintien de la stabilité des produits. Leur utilisation comme bioconservateurs naturels représente une alternative prometteuse aux additifs chimiques pour la conservation des denrées périssables.

Conclusion

Conclusion

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation biotechnologique des bactéries lactiques autochtones isolées à partir de légumes fermentés artisanaux, en vue de leur application dans la bioconservation des aliments périssables. Ces micro-organismes, connus pour leurs propriétés probiotiques et antimicrobiennes, représentent une alternative prometteuse aux additifs chimiques de synthèse, souvent critiqués pour leurs effets néfastes sur la santé et l'environnement.

Ces dernières avaient préalablement démontré leur potentiel probiotique à travers leur résistance à l'acidité gastrique, aux sels biliaires, leur aptitude d'adhésion aux cellules épithéliales, ainsi que leurs activités enzymatiques (acidifiante, protéolytique, lipolytique, aromatisante) et antimicrobiennes. Elles ont été repiquées, purifiées et réactivées pour assurer leur viabilité avant leur incorporation dans différentes formulations de bioconservateurs.

La première étape du travail a consisté à **réactiver et purifier les souches de bactéries lactiques** sélectionnées, suivie d'une **évaluation in vitro de leur activité antimicrobienne** par plusieurs méthodes (diffusion sur gélose par cylindre, disques et puits).

Les résultats ont confirmé une **inhibition nette** de diverses souches pathogènes et d'altération (notamment *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, levures et moisissures), confirmant la production de métabolites antimicrobiens actifs tels que les acides organiques, les peroxydes et les bactériocines.

Sur la base de ces résultats, plusieurs **prototypes de bioconservateurs naturels** ont été conçus :

- un **gel bioprotecteur**,
- un **film biodégradable comestible**,
- une **poudre stabilisée**,
- et une **boîte à revêtement antimicrobien**.

Ces formulations, regroupées sous la marque *Fermaprotect*, ont été appliquées à cinq matrices alimentaires représentatives : viande hachée, poisson, salade, camembert et raisin.

Conclusion

Un **contrôle de qualité physicochimique et microbiologique** a ensuite été réalisé après dix jours de conservation à température réfrigérée.

Les **résultats microbiologiques** ont mis en évidence une réduction très significative des charges en germes indicateurs (coliformes totaux et fécaux, flore mésophile totale, levures et moisissures), et l'absence quasi totale de pathogènes confirmés (*Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*) dans les échantillons traités. À l'inverse, les témoins non traités ont présenté des valeurs dépassant les seuils réglementaires fixés par le Journal Officiel de la République Algérienne (JORA, 2017).

Les prototypes à base de gel et de film ont montré les **meilleures performances antimicrobiennes**, suivis de la boîte à revêtement, confirmant l'efficacité de ces formes dans la maîtrise des flores d'altération.

Parallèlement, les **analyses physicochimiques** (pH, humidité, matières minérales et organiques, protéines et lipides) ont révélé que les prototypes ont contribué à **stabiliser la composition des aliments** pendant la période de conservation. Le film et le gel ont permis de maintenir un pH plus stable, de limiter les variations d'humidité et de réduire la dégradation des protéines et des lipides. Ces effets traduisent à la fois une **action antimicrobienne et antioxydante**, liée à l'activité métabolique des bactéries lactiques et à la barrière physique formée par les polymères naturels des films et gels.

D'un point de vue global, les résultats obtenus démontrent que les prototypes développés à base de bactéries lactiques locales possèdent un **fort potentiel bioconservateur**. Ils permettent de prolonger la durée de conservation des aliments, de préserver leur qualité nutritionnelle et microbiologique, et de réduire la dépendance aux conservateurs chimiques. Ces bioconservateurs répondent ainsi aux exigences de **sécurité alimentaire**, de **durabilité environnementale** et de **valorisation des ressources locales**, contribuant à la promotion d'une **bio-innovation algérienne** fondée sur les fermentations traditionnelles.

Conclusion

En conclusion, ce travail ouvre des perspectives prometteuses pour le développement industriel de bioconservateurs naturels à base de bactéries lactiques. Des études complémentaires sont cependant nécessaires, notamment :

- la standardisation des procédés de formulation et de séchage,
- l'évaluation sensorielle et technologique des produits finis,
- et la validation à plus grande échelle des performances antimicrobiennes.

Ainsi, le projet *Fermaprotect* s'inscrit pleinement dans une démarche de **sécurité alimentaire durable**, conciliant **innovation scientifique**, **valorisation des savoir-faire traditionnels** et **préservation de la santé publique**.

Références

Bibliographiques

Liste de Références

- 1) AFNOR. (2009). NF V08-061: Microbiologie des aliments — Dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*. Association Française de Normalisation.
- 2) Alegbeleye, O. O., Singleton, I., & Sant'Ana, A. S. (2018). Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: A review. *Food Microbiology*, 73, 177–208. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.003>
- 3) Al-Juhaimi, F., & Özcan, M. M. (2017). Effect of storage and processing on food quality parameters: A review. *Food Reviews International*, 33(3), 276–293.
- 4) Allouche, F., Roussel, C., & Tormo, H. (2023). Protective cultures of lactic acid bacteria for food preservation: Current applications and future challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(4), 3451–3476. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13142>
- 5) Ao, X. (2019). Isolation and identification of spoilage microorganisms from homemade Paocai in Sichuan. *International Journal of Food Microbiology*. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6766596/>
- 6) Arain, M. A., Ahmad, N., Ahmed, S., & Khan, M. U. (2025). Application of probiotic-derived antimicrobial peptides for improving food safety and shelf life: A review. *Food Control*, 155, 110056.
- 7) Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2019). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751–1773. <https://doi.org/10.3390/toxins2071751>
- 8) Avnı Kırmacı, H. (2016). All isolates were tested for Gram stain, morphology and catalase production. *Journal of Applied Microbiology*, xx(x), xx–xx. Wiley Online Library
- 9) Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In S. Salminen, A. von Wright, & A. Ouwehand (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (3rd ed., pp. 1–66). Marcel Dekker.
- 10) Baird-Parker, A. C. (1962). An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. *Journal of Applied Bacteriology*, 25(1), 12–19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1962.tb00109.x>
- 11) Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in

- vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.**
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- 12) Batdorj, B., et al. (2006). Isolation and purification of lactic acid bacteria from dairy products and characterization.
 - 13) Baust, J. M., & Baust, J. G. (2021). *Advances in biopreservation*. CRC Press.
 - 14) Ben Braïek, O., & Smaoui, S. (2019). *Enterococci: Between emerging pathogens and potential probiotics. BioMed Research International*, 2019, 5938210.
<https://doi.org/10.1155/2019/5938210>
 - 15) Beveridge, T. J. (2001). Use of the Gram stain in microbiology. *Biotechnic & Histochemistry*, 76(3), 111–118.
<https://doi.org/10.3109/10520290109042204>
 - 16) Blodgett, R. (2010). Most Probable Number (MPN) from Serial Dilutions. *FDA Bacteriological Analytical Manual Appendix 2*.
<https://www.fda.gov/media/83798/download>
 - 17) Bonilauri, P., Bacci, C., Daminelli, P., Grassi, M. A., & Amatiste, S. (2019). Occurrence of coliforms and pathogens in dairy products and their public health significance. *Italian Journal of Food Safety*, 8(1), 23–31. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2019.7698>
 - 18) Broadbent, S. D., Tellez, A. M., & Drake, M. A. (2021). Morphological diversity among lactic acid bacteria and implications for the dairy industry. *Journal of Dairy Research*, 88(3), 256–265.
 - 19) Brunet, T., N'Guessan, K., & Khélifa, H. (2018). *Microbiologie alimentaire – méthodes d'analyses et interprétation*. Éditions Tec & Doc.
 - 20) Busta, F. F., Suslow, T. V., Parish, M. E., Beuchat, L. R., Farber, J. N., Garrett, E. H., & Harris, L. J. (2003). The use of microbiological end product testing: Principle and practice in food safety management. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(s1), 1–24.
<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00011.x>
 - 21) Callejón, R. M., Rodríguez-Naranjo, M. I., Ubeda, C., Hornedo-Ortega, R., Garcia-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2015). Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: Trends and causes. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(1), 32–38.
<https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1821>
 - 22) Callewaert, L., De Vuyst, L., & Lebeer, S. (2021). Metabolite

- production by lactic acid bacteria: Beyond lactic acid. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01598-2>
- 23) Campos, C. A., Rodríguez, Ó., Calo-Mata, P., Prado, M., & Barros-Velázquez, J. (2022). Microbiological safety and quality of seafood. *Current Opinion in Food Science*, 47, 100879. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100879>
 - 24) Caroch, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 94, 12–24.
 - 25) Castellano, P., Pérez Ibarreche, M., Blanco Massani, M., Fontana, C., & Vignolo, G. (2017). Strategies for pathogen biocontrol using lactic acid bacteria and their metabolites. *Food Research International*, 103, 109–118.
 - 26) CLSI. (2023). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 33rd ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.
 - 27) Coma, V. (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Science*, 78(1–2), 90–103.
 - 28) Cruz, M., Gomes, M., & Rodrigues, A. (2022). Lactic acid bacteria as natural bio-preservatives in plant-based foods. *Food Control*, 139, 109068. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109068>
 - 29) Daba, H., Pandian, S., Gosselin, J. F., Simard, R. E., Huang, J., & Lacroix, C. (2008). Detection and activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from Quebec dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 84(5), 972–981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1998.00420.x>
 - 30) da Silva, S. N., Ferreira, C. L., & dos Santos, L. M. R. (2021). Biopreservation: An eco-friendly approach to food safety and shelf-life extension. *Food Research International*, 143, 110259. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110259>
 - 31) De Man, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23(1), 130–135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>
 - 32) De Oliveira, F. R., De Sá, F. V. S., Camilloto, G. P., & de Souza, P. R. (2022). Development of active edible films based on biopolymers and antimicrobial agents for food packaging. *Journal of Food Science and Technology*, 59(2), 435–448.

- <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05027-1>
- 33) Dierksen, K., & Hoffmann, D. (2025). Gram staining variability in lactic acid bacteria under different culture conditions. *Journal of Microbiological Methods*, 189, 106351.
 - 34) De Vuyst, L., & Leroy, F. (2020). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 46–61.
 - 35) Dobson, A., Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2012). Bacteriocin production: a probiotic trait? *Applied and Environmental Microbiology*, 78(1), 1–6.
<https://doi.org/10.1128/AEM.05576-11>
 - 36) Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G.-J. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of fresh meat in different conditions. *Food Microbiology*, 32(2), 313–321.
 - 37) Downes, F. P., & Ito, K. (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (4th ed.). American Public Health Association.
 - 38) EFSA. (2022). Scientific opinion on the update of the list of bacteriocins used as food preservatives. *European Food Safety Authority Journal*, 20(4), e07254.
 - 39) El Ahmadi, K., et al. (2025). Isolation and preliminary screening of lactic acid bacteria from raw milk in Morocco. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1565016>
 - 40) Evangelista, A. G., Corrêa, J. A. F., Dos Santos, J. V. G., Matté, E. H. C., Milek, M. M., Biauki, G. C., Costa, L. B., & Luciano, F. B. (2021). Cell-free supernatants produced by lactic acid bacteria reduce *Salmonella* population in vitro. *Microbiology (Reading, England)*, 167(11), 10.1099/mic.0.001102.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.001102>
 - 41) Evangelista, A. G., et al. (2021). Cell-free supernatants from lactic acid bacteria to control *Salmonella*: A review. *Frontiers in Microbiology*, 12, 760.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.699217>
 - 42) Facklam, R. R., & Collins, M. D. (1989). Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(4), 731–734. <https://doi.org/10.1128/jcm.27.4.731-734.1989>
 - 43) Fadlaoui, S., Benabbou, A., & Rachiq, S. (2023). Development of antimicrobial biopolymer films based on lactic acid bacteria extracts for food preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 239, 124415.

- <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124415>
- 44) FAO. (2019). *Food quality and safety systems: A training manual on food hygiene and safety*. Rome.
 - 45) FAO. (2020). *Food storage and preservation standards for perishable products*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 - 46) FAO. (2023). *Sustainable Food Preservation and Reduction of Postharvest Losses*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 - 47) FAO. (2023). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2023*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 - 48) Fellows, P. (2017). *Food Processing Technology: Principles and Practice*. Woodhead Publishing.
 - 49) Figueroa, R. H. H., López-Malo, A., & Mani-López, E. (2024). Antimicrobial activity and applications of fermentates from lactic acid bacteria – a review. *Sustainable Food Technology*, 2, 292–306. <https://doi.org/10.1039/D3FB00241A>
 - 50) Food and Drug Administration (FDA). (2022). **Generally Recognized As Safe (GRAS) – Database**.
 - 51) Fouad, H., Elbadawy, M., & Sabry, S. (2021). Antimicrobial edible films and coatings for food packaging: A review. *Food Research International*, 148, 110672. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110672>
 - 52) Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed.). Springer.
 - 53) Galvez, A., Abriouel, H., Benomar, N., & Lucas, R. (2023). Bacteriocins and biopreservation in food industry: A review of recent developments. *Food Microbiology*, 110, 104127. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104127>
 - 54) García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., & Jiménez-Flores, R. (2020). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antimicrobial proteins. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11300–11313.
 - 55) García-Cayuela, T., Korany, A. M., Bustos, I., Requena, T., & Peláez, C. (2019). Protective role of lactic acid bacteria and their metabolites in food preservation. *Food Microbiology*, 83, 1–10.
 - 56) Garcia, M. J., Argyri, A. A., & Papadopoulou, O. (2023). Diversity and functionality of lactic acid bacteria: From traditional

- fermentation to food biotechnology. *Microorganisms*, 11(1), 45.
- 57) Giannuzzi, L., Sesma, F., & Zalazar, C. (2020). Microbial spoilage of soft cheeses and biopreservation alternatives. *Frontiers in Microbiology*, 11, 573439. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.573439>
 - 58) Gram, L., & Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33(1), 121–137.
 - 59) Guiraud, J.-P. (2003). *Microbiologie alimentaire*. Dunod, Paris.
 - 60) Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412–429.
 - 61) Han, J. H. (2014). *Innovations in Food Packaging* (2nd ed.). Academic Press.
 - 62) Harrigan, W. F., & McCance, M. E. (2014). *Laboratory Methods in Microbiology* (purification techniques et incubation à 30 °C)
 - 63) Harrigan, W. F., et al. (1998). Méthodes classiques pour identification et purification des isolats (référéncant les méthodes de culture et repiquage).
 - 64) Hernández-Cortez, C., Palma-Martínez, I., González-Avila, L. U., Guerrero-Mandujano, A., Solís, R. C., & Castro-Escarpulli, G. (2022). Foodborne pathogens: Survival and adaptation in the food environment. *Frontiers in Microbiology*, 13, 940. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.909840>
 - 65) Holzapfel, W. H., & Wood, B. J. B. (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. Wiley-Blackwell.
 - 66) ISO. (2006). ISO 4832:2006 – Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — Colony-count technique.
 - 67) ISO. (2008). ISO 21527-1:2008 – Microbiology of food and animal feeding stuffs — Enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95.
 - 68) ISO 4833-1:2013. Microbiology of the food chain — horizontal method for enumeration of microorganisms. ISO.
 - 69) ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain — detection of *Salmonella* spp. ISO.
 - 70) ISO 6887-1. (2017). Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. International Organization for Standardization.
 - 71) ISO 6888-1:1999. Enumeration of coagulase-positive

- staphylococci. ISO.
- 72) Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern Food Microbiology* (7th ed.). Springer.
 - 73) Journal Officiel de la République Algérienne (JORA), **textes réglementaires microbiologie alimentaire** (n°39/2017 ; n°42/2005 ; n°70/2004, etc.).
 - 74) Kang, H. J., Park, S. Y., & Kim, S. H. (2020). Development of antimicrobial gel-based coatings using lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*, 131, 109710. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109710>
 - 75) Kavoosi, G., Dadfar, S. M., & Ardestani, S. K. (2022). Antibacterial edible films and coatings containing natural bioactives: Quality control and mechanisms. *Food Hydrocolloids*, 132, 107899. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107899>
 - 76) Kho, K., Lee, S. H., & Lee, W. J. (2024). The potential of *Pediococcus acidilactici* cell-free supernatants as antimicrobial agents. *Foods*, 13(3), 456. <https://doi.org/10.3390/foods13030456>
 - 77) Kociubinski, G., & Wiese, B. (1996). Antagonistic effects of lactic acid bacteria isolated from meat on *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 13(2), 161–167. <https://doi.org/10.1006/fmic.1996.0017>
 - 78) Kociubinski, G., Peirú, S., & Mallo, G. (1996). Antibacterial activity of lactic acid bacteria: Application of agar cylinder and well diffusion methods. *Acta Biotechnologica*, 16(4), 329-334.
 - 79) Lagier, J.-C., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., & Drancourt, M. (2015). Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(1), 208–236.
 - 80) Leroy, F., & De Vuyst, L. (2020). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 94–105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.015>
 - 81) Li, H., Wang, H., Yu, C., & Zhao, X. (2021). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and their metabolites on spoilage microorganisms of food. *Journal of Food Protection*, 84(7), 1170–1178. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-430>
 - 82) Link et al. (2023). Linking microbial contamination to food spoilage and food waste. *Science of the Total Environment*, 909, 167110. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167110>
 - 83) Liste de références (تم حذفها لأنها عنوان القائمة فقط).

- 84) Liu, W., Zhang, S., Li, X., & Zhao, Y. (2023). **Protective cultures and their antimicrobial action in food systems.** *Frontiers in Microbiology*, 14, 1123457.
- 85) Liu, Y., Zhang, H., & Chen, W. (2023). **Screening of lactic acid bacteria with antimicrobial potential from traditional fermented foods.** *Food Microbiology*, 109, 104–118.
- 86) Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- 87) Mafe, A. N., Makia, R. S., Ogunyemi, A., & Akpogheli, P. (2024). **A review on food spoilage mechanisms, food borne diseases and commercial aspects of food preservation and processing.** *Food Chemistry Advances*, 5(2024) 100852. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100852>
- 88) Martin, N. H., Rolighed, M., Buehler, A., Knøchel, S., Wiedmann, M., & Marvig, C. (2021). **Invited review: Controlling dairy product spoilage to reduce food loss and waste.** *Journal of Dairy Science*, 104(3), 1251-1261. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19130>
- 89) Martinez, R., Hwang, J., & Jung, J. (2024). **Cocci and coccobacilli: classification and identification in probiotic lactic acid bacteria.** *International Journal of Microbiology*, 15(2), 98–110. <https://doi.org/10.1155/2024/5609821>
- 90) Muthuvelu, K. S., Ethiraj, B., Pramnisk, S., Raj, N. K., Venkataraman, S., Rajendran, D. S., Bharathi, P., Palanisamy, E., Narayanan, A. S., & Vaidyanathan, V. K. (2023). **Biopreservative technologies of food: An alternative to chemical preservation and recent developments.** *Food Research International*, 164, Article 113649. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01336-8>
- 91) Nikoloudaki, O., Kandylis, P., & Kourkoutas, Y. (2021). **Potential use of lactic acid bacteria in fruit-based products: Fermentation and biopreservation aspects.** *Food Research International*, 144, 110346.
- 92) Obioha, P. I., & al. (2021). **Identification and characterisation of the lactic acid bacteria: colony morphology and microscopy.** *International Journal of Food Microbiology*, 2021.
- 93) Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. (2010). **Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout.** *Food Chemistry*, 120(1), 193–198.
- 94) O'Shea, E. F., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2012).

- Strategies to improve the bacteriocin protection of foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.10.003>
- 95) Otoni, C. G., Júnior, A. V., Espitia, P. J. P., & Azeredo, H. M. C. (2021). Food packaging based on biodegradable biopolymers reinforced with natural antimicrobials: A review. *Food Research International*, 140, 109981. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109981>
 - 96) Paleckis, J., Šipailienė, A., & Lastauskienė, E. (2021). Growth dynamics and lactic acid production of *Lactobacillus* spp. under different carbohydrate sources. *Microorganisms*, 9(3), 578.
 - 97) Piras, C., et al. (2025). Lactic acid bacteria and their bacteriocins for applications in food safety against *Listeria monocytogenes*. *Antibiotics*, 14(6), 572. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14060572>
 - 98) Pisoschi, A. M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuș, V., Olah, N. K., & Mathe, E. (2018). An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 922–935.
 - 99) Ponce, C. A., Muñoz, M., & Pérez, C. (2022). Antimicrobial activity of films incorporating lactic acid bacteria metabolites: Potential applications in active food packaging. *LWT – Food Science and Technology*, 161, 113345. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113345>
 - 100) Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2002). *Microbiology* (5th ed.). McGraw-Hill.
 - 101) Pujato, S. A., Mercanti, D. J., Briggiler Marcó, M., Capra, M. L., Quiberoni, A., & Guglielmotti, D. M. (2024). Bacteriocins from lactic acid bacteria: Strategies for the bioprotection of dairy foods. *Frontiers in Food Science and Technology*, 4, Article 1439891. <https://doi.org/10.3389/frfst.2024.1439891>
 - 102) Putri, D. A., et al. (2024). Biopreservation of food using bacteriocins from lactic acid bacteria: Current advances and perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1392012.
 - 103) Putri, D. A., Lei, J., Rossiana, N., & Syaputri, Y. (2024). Biopreservation of food using bacteriocins from lactic acid bacteria: Classification, mechanisms, and commercial applications. *International Journal of Microbiology*, 2024, Article 8723968. <https://doi.org/10.1155/ijm/8723968>
 - 104) Rahman, M. S. (2007). *Handbook of Food Preservation*. CRC Press.

- 105) Ryan, K. J., & Ray, C. G. (2004). *Sherrie's medical microbiology* (4th ed.). McGraw-Hill.
- 106) Sanam, M. U. E., Detha, A. I. R., & Rohi, N. K. (2022). Detection of antibacterial activity of lactic acid bacteria, isolated from Sumba mare's milk, against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Journal of advanced veterinary and animal research*, 9(1), 53–58. <https://doi.org/10.5455/javar.2022.i568>
- 107) Sanam, M. U. E., et al. (2022). Detection of antibacterial activity of lactic acid bacteria by agar well and disk diffusion methods. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 16(3), 512–517.
- 108) Santos, R., Silva, M., & Lima, M. (2023). Lactic acid bacteria as natural biopreservatives: Challenges and applications in modern food systems. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7, 1128473. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1128473>
- 109) Settanni, L., & Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 123–138. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.001>
- 110) Settanni, L., & Corsetti, A. (2022). Application of lactic acid bacteria in biopreservation of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 165–179. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.010>
- 111) Sharma, H., & Fidan, H. (2022). Recent development in the preservation effect of lactic acid bacteria and essential oils on chicken and seafood products. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 1092248. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1092248>
- 112) Silva, C. C. G., Silva, S. P. M., & Ribeiro, S. C. (2018). Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 594.
- 113) Silva, R., Costa, E., & Teixeira, P. (2023). Bacteriocins of lactic acid bacteria: Recent advances in application as natural preservatives. *Food Bioscience*, 55, 102951. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102951>
- 114) Silva, S. P. M., Teixeira, J. A., & Silva, C. C. G. (2023). Recent advances in the use of edible films and coatings with probiotic and bacteriocin-producing lactic acid bacteria. *Food Bioscience*, 49, Article 103196. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103196>
- 115) Simões, J., Costa, M., & Silva, T. (2021). Limitations of Gram staining in lactic acid bacteria identification: morphological

- variability and misclassification risks. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(18), 6865–6873. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11440-9>
- 116) Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Chaiyasut, C., & Bharathi, M. (2025). Lactic acid bacteria as biopreservatives: Mechanisms and applications in food systems. *Foods*, 14(3), 412
 - 117) Soomro, A. H., Masud, T., & Anwaar, K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health—a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1), 20–24. <https://doi.org/10.3923/pjn.2002.20.24>
 - 118) Stone, H., & Sidel, J. L. (2018). *Sensory Evaluation Practices* (5th ed.). Academic Press
 - 119) Teneva-Angelova, T., & Danova, S. (2022). Valorization of indigenous lactic acid bacteria for sustainable food bioprotection. *Microorganisms*, 10(12), 2457.
 - 120) Thermo Fisher Scientific. (2023). *Culture Media Manual*. Thermo Fisher Scientific.
 - 121) Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225–241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>
 - 122) Urshev, Z., Doynova, D., Prasev, I., Denkova-Kostova, R., Koleva, A., Denkova, Z., Goranov, B., & Kostov, G. (2024). Identification of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Sourdoughs Prepared with Different Flour Types. *Applied Sciences*, 14(5), 2093.
 - 123) Uysal, İ., & Sevindik, M. (2021). Foodborne pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease*.
 - 124) Valdés, A., Burgos, N., Jiménez, A., & Garrigós, M. C. (2017). Natural additives and bioactive compounds in biopolymer-based food packaging materials. *Frontiers in Chemistry*, 5, 45. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00045>
 - 125) Wang, H., Xu, L., Zhang, Z., & Sun, X. (2023). Natural antimicrobials derived from lactic acid bacteria and their application in food preservation. *Food Bioscience*, 51, 102318. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102318>
 - 126) Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
 - 127) Winkelströter, L. K., et al. (2022). Assessment of morphological

- purity and microscopic characteristics of lactic acid bacteria using Gram staining. *Journal of Microbiological Methods*, 196, 106–114.
- 128) Yang, E., Fan, L., Yan, J., & Yu, C. (2012). Antimicrobial activity and safety evaluation of *Enterococci* with probiotic potential. *BMC Microbiology*, 12, 156. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-156>
 - 129) Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., & Fillmore, S. (2012). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express*, 2, 48. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-48>
 - 130) Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C., & Fillmore, S. (2023). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against foodborne pathogens and spoilage organisms: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(6), 937–950. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1828810>
 - 131) Zacharof, M. P., & Lovitt, R. W. (2012). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria: A review article. *APCBEE Procedia*, 2, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.010>
 - 132) Zhang, J., Zhao, X., Liu, G., & Ma, C. (2020). Cryopreservation of lactic acid bacteria: A review. *Journal of Microbiological Methods*, 173, 105901. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105901>
 - 133) Zhao, H., Li, Y., & Chen, X. (2023). Antimicrobial properties of lactic acid bacteria and their metabolites in food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 387, 110–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110120>
 - 134) Zhao, H., Li, Y., & Chen, X. (2023). Bacillary forms of *Lactobacillus*: morphological adaptations in fermentation. *Food Microbiology*, 105, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104112>
 - 135) Zhao, Y., Teixeira, J. S., & Lacroix, C. (2019). Application of bioprotective cultures in fresh-cut vegetables and fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 84, 1–11
 - 136) Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

- 137) Zhou, H., Chen, Y., & Zhao, Y. (2021). Stabilization and application of dried antimicrobial peptides and metabolites from lactic acid bacteria. *Biotechnology Reports*, 31, e00656. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00656>
- 138) Zhu, Y., Wang, H., Xu, L., Zhou, G., & Li, C. (2022). Microbiological contamination of raw meat: Current status and future prospects for safety control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 1883–1908. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12891>
- 139) Zhu, Y., Wang, X., Li, M., Zhang, Y., Ji, Y., Zhao, Z., Zhang, J., & Cai, L. (2022). Microbial diversity of meat products under spoilage and its control. *Frontiers in Nutrition*, 9, 774542. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.774542>
- 140) Zommiti, M., Cambrone, M., Maillot, O., Barreau, M., Sebei, K., Feuilloley, M. G. J., & Connil, N. (2018). Evaluation of probiotic properties and safety of *Enterococcus faecium* strains isolated from artisanal Tunisian meat “Dried Ossban”. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1685. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01685>

Annexe

Annexe 1 : resultats de contrôle microbiologique

Tableau : resultats de contrôle microbiologique (10 jours) de viande teste par les prototypes (gel/film/ boite) et temoin

Aliment Milieu	Viande		
	Gel	Film	Temoin
Vrbl Ct			
Vrbl Cf			
Bp			
Sabouraud			
Vf			

Gn		
Ss		

Tableau : resultats de contrôle microbiologique (10 jours) de Poisson teste par

Aliment	Poisson			
Milieu	Gel	Film	Boite	Temoin

les prototypes (gel/film/ boite) et temoin

Vrbl Ct		
Vrbl Cf		
Bp		
Sabouraud		

Vf				
Gn				
Ss				

Tableau : resultats de contrôle microbiologique (10 jours) de Raisin teste par

Aliment	Raisin			
Milieu	Gel	Film	Boite	Temoin

les prototypes (gel/film/ boite) et temoin

Vrbl Ct		
Vrbl Cf		
Bp		
Sabouraud		

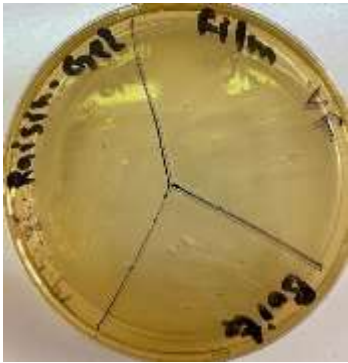
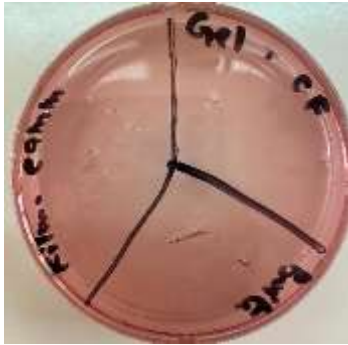
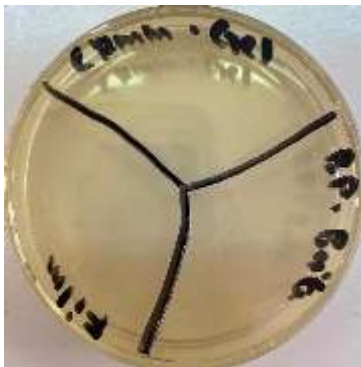
Vf		
Gn		
Ss		

Tableau : resultats de contrôle microbiologique (10 jours) de Camembert teste par les prototypes (gel/film/ boite) et temoin

Aliment	Camembert			
Milieu	Gel	Film	Boite	Temoin
Vrbl Ct				
Vrbl Cf				
Bp				

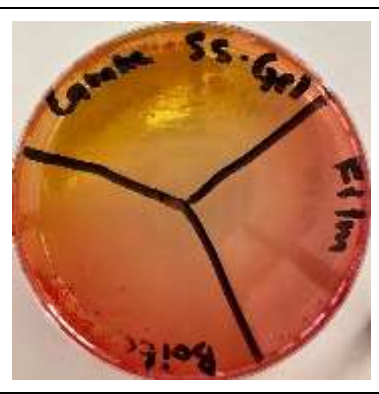
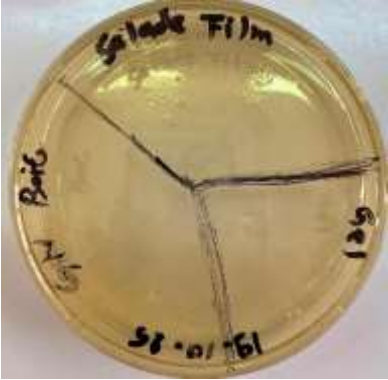
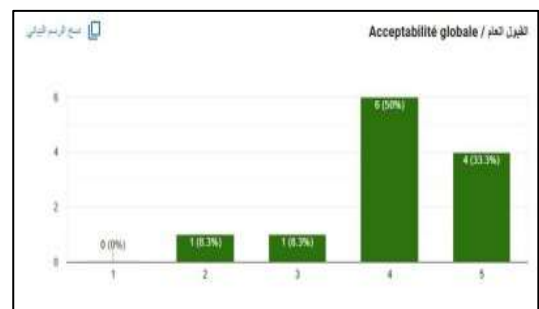
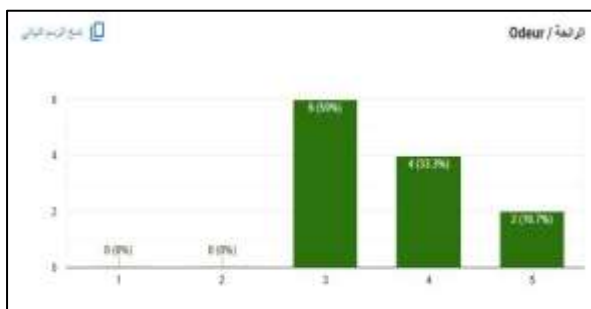
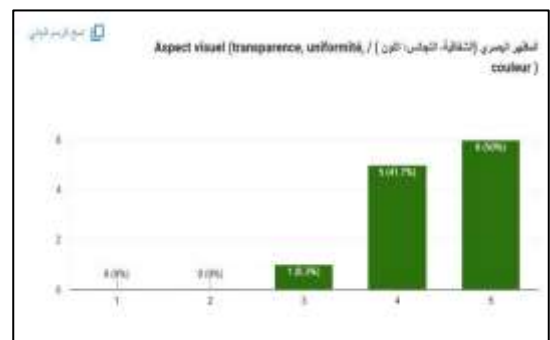
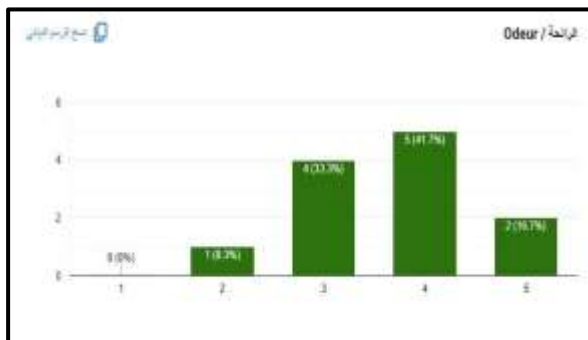
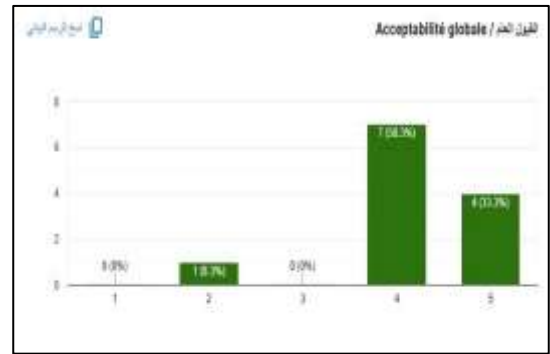
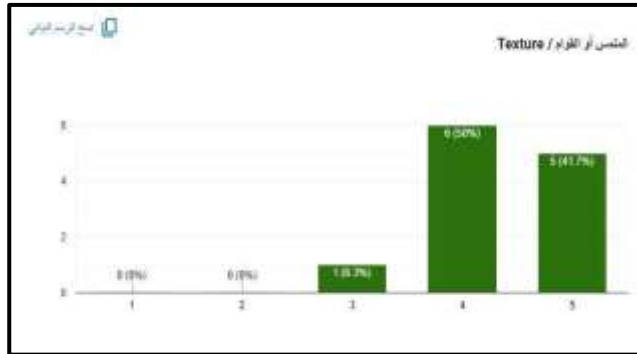
Sabouraud				
Vf				
Gn				
Ss				

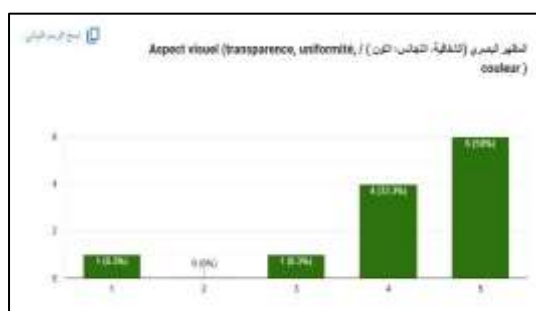
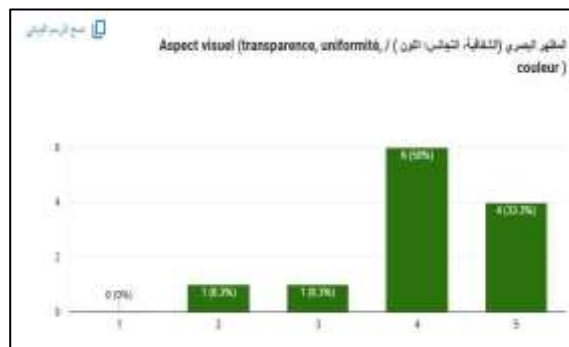
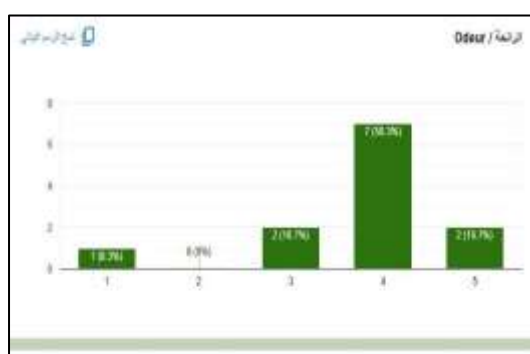
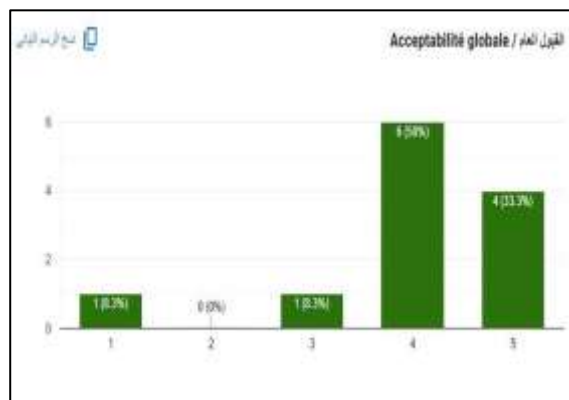
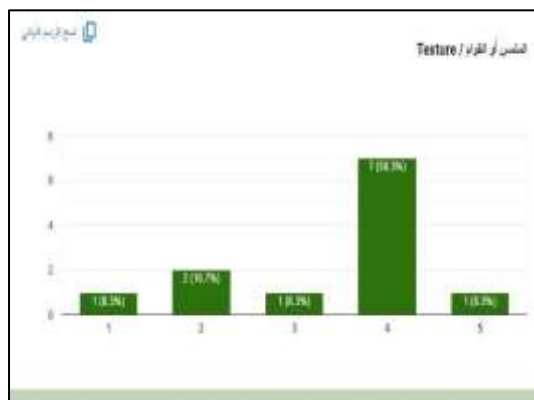
Tableau : resultats de contrôle microbiologique (10 jours) de Laitue teste par les prototypes (gel/film/ boite) et temoin

Aliment	Laitue			
Milieu	Gel	Film	Boite	Temoin
Vrbl Ct				
Vrbl Cf				
Bp				

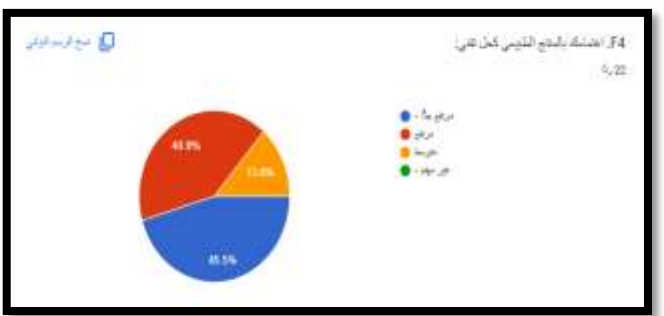
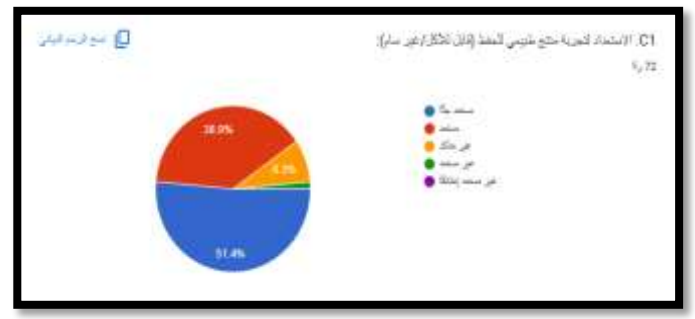
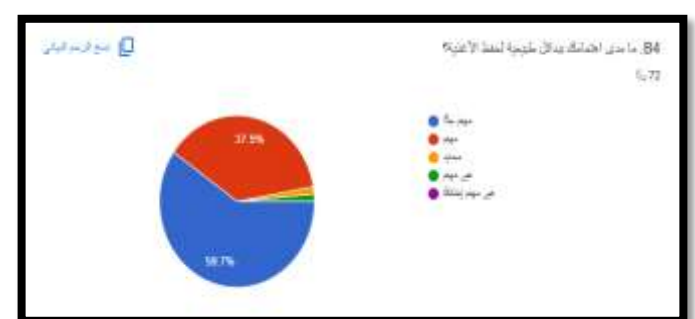
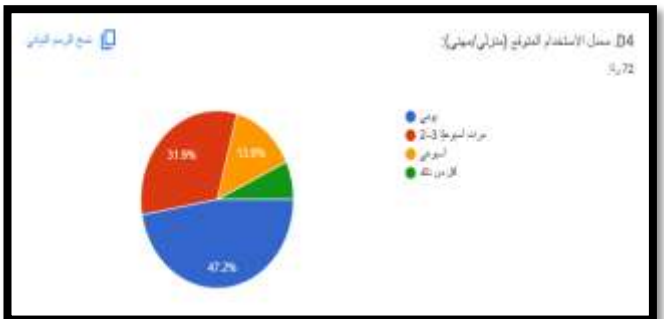
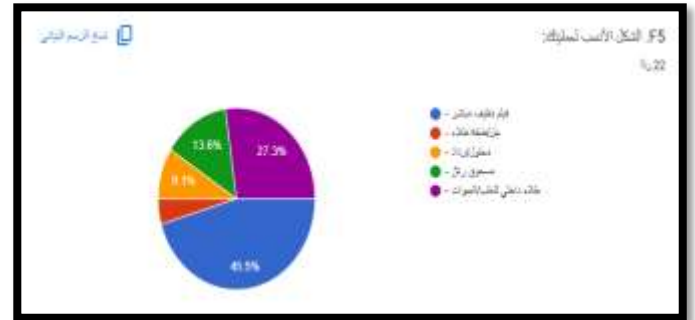
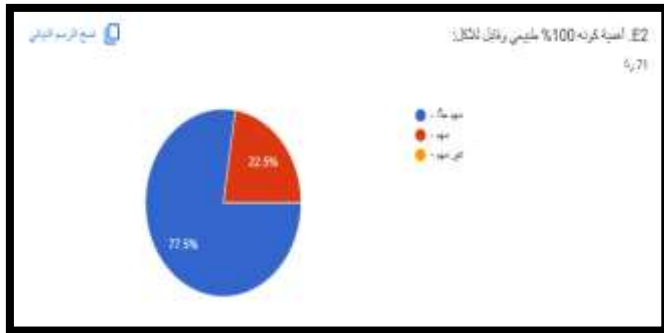
Sabouraud		
Vf		
Gn		
Ss		

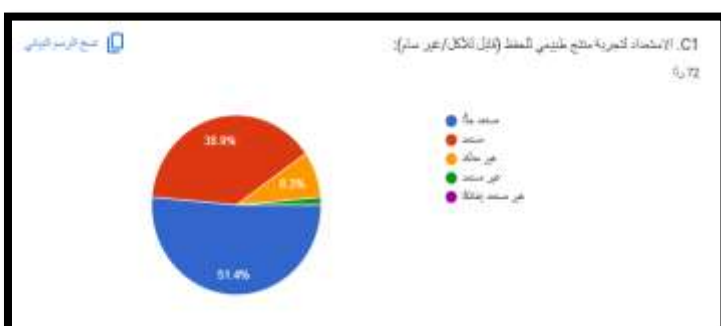
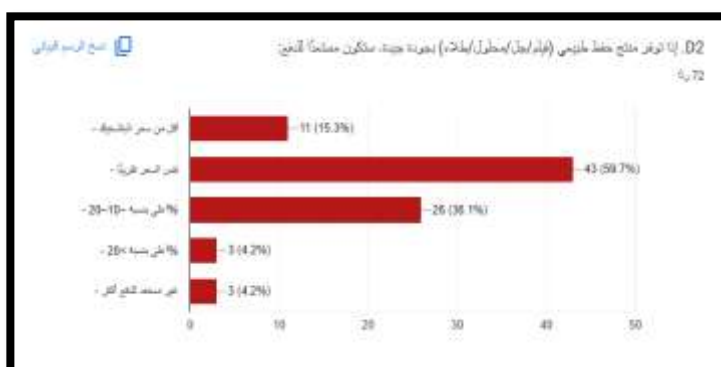
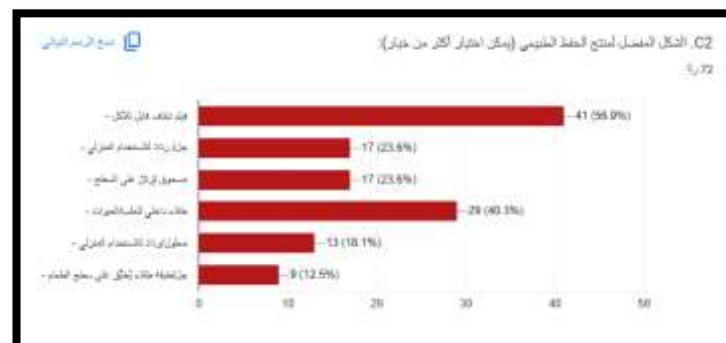
Annexe 2 : Caractéristiques organoleptiques des prototypes





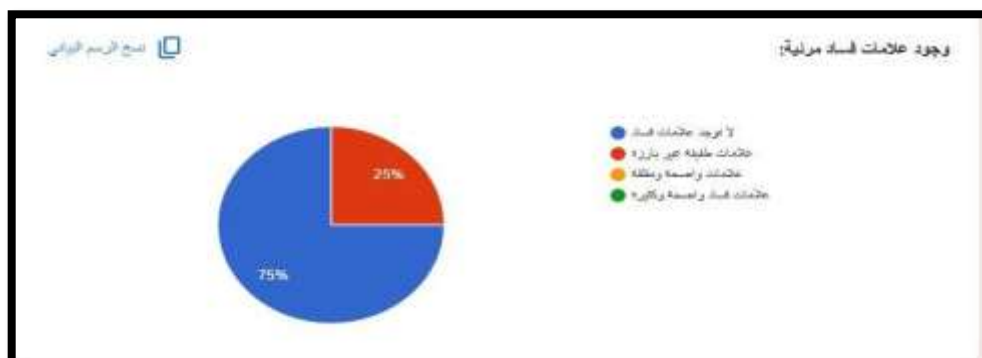
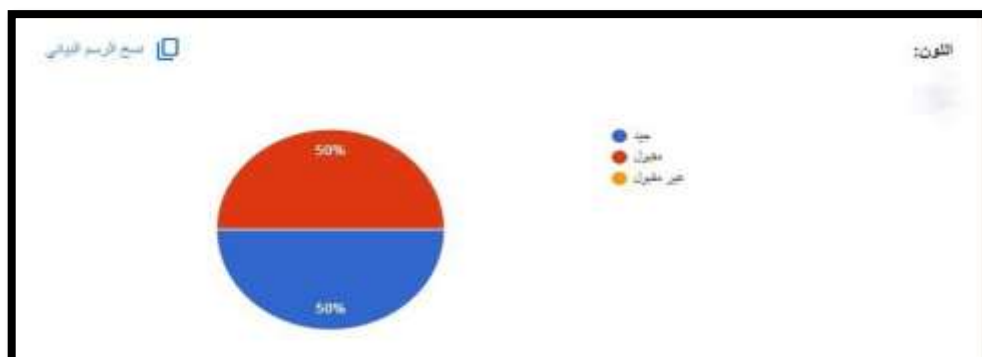
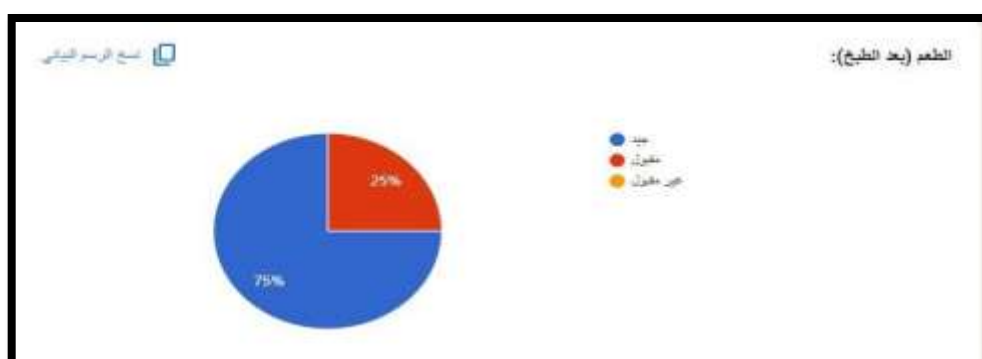
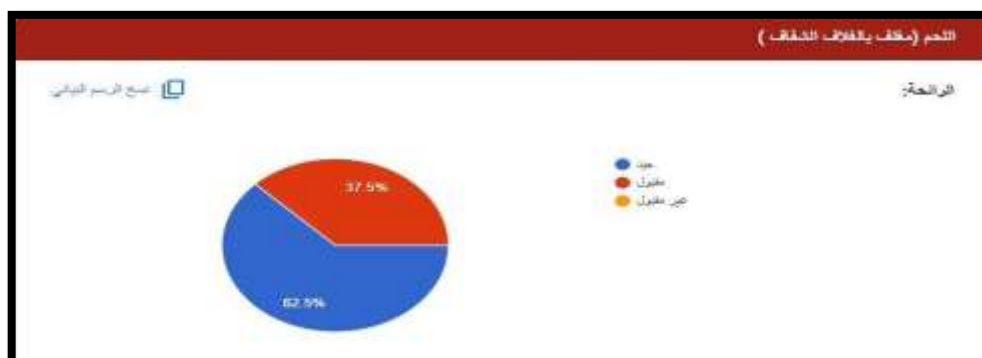
: questionnaire de collecte des donnees





Annexe 3

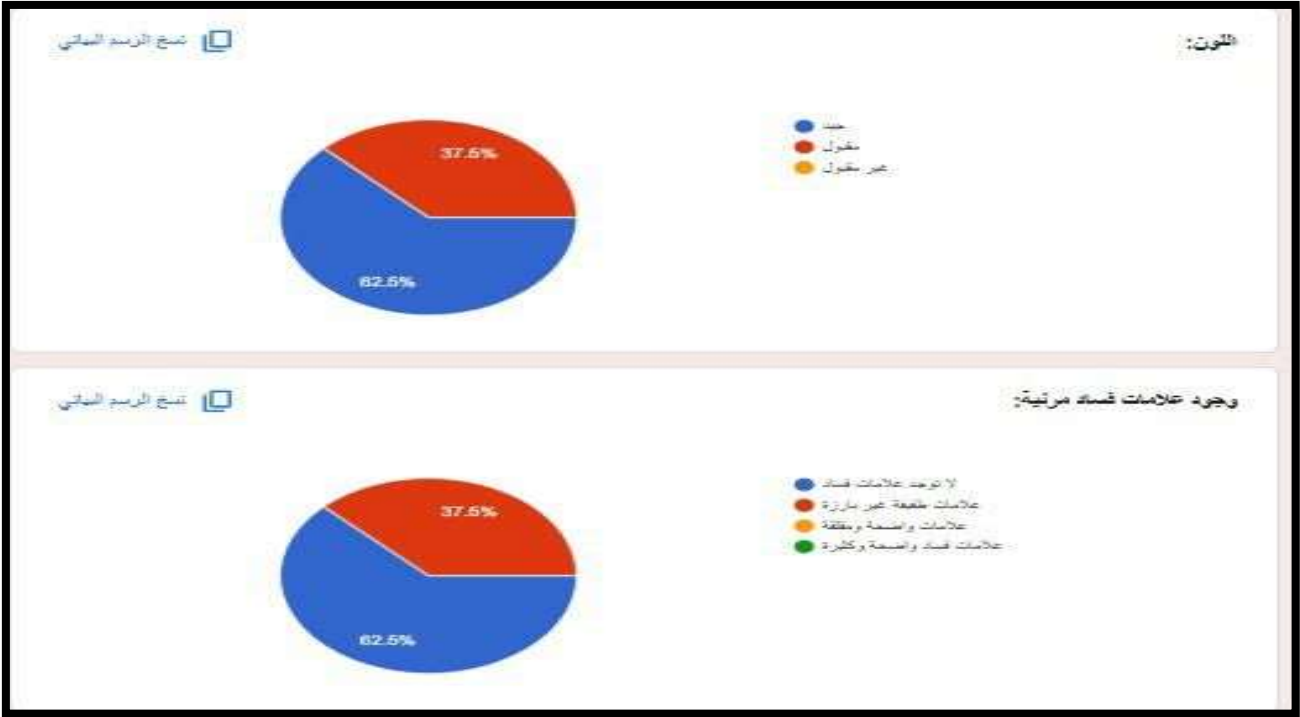
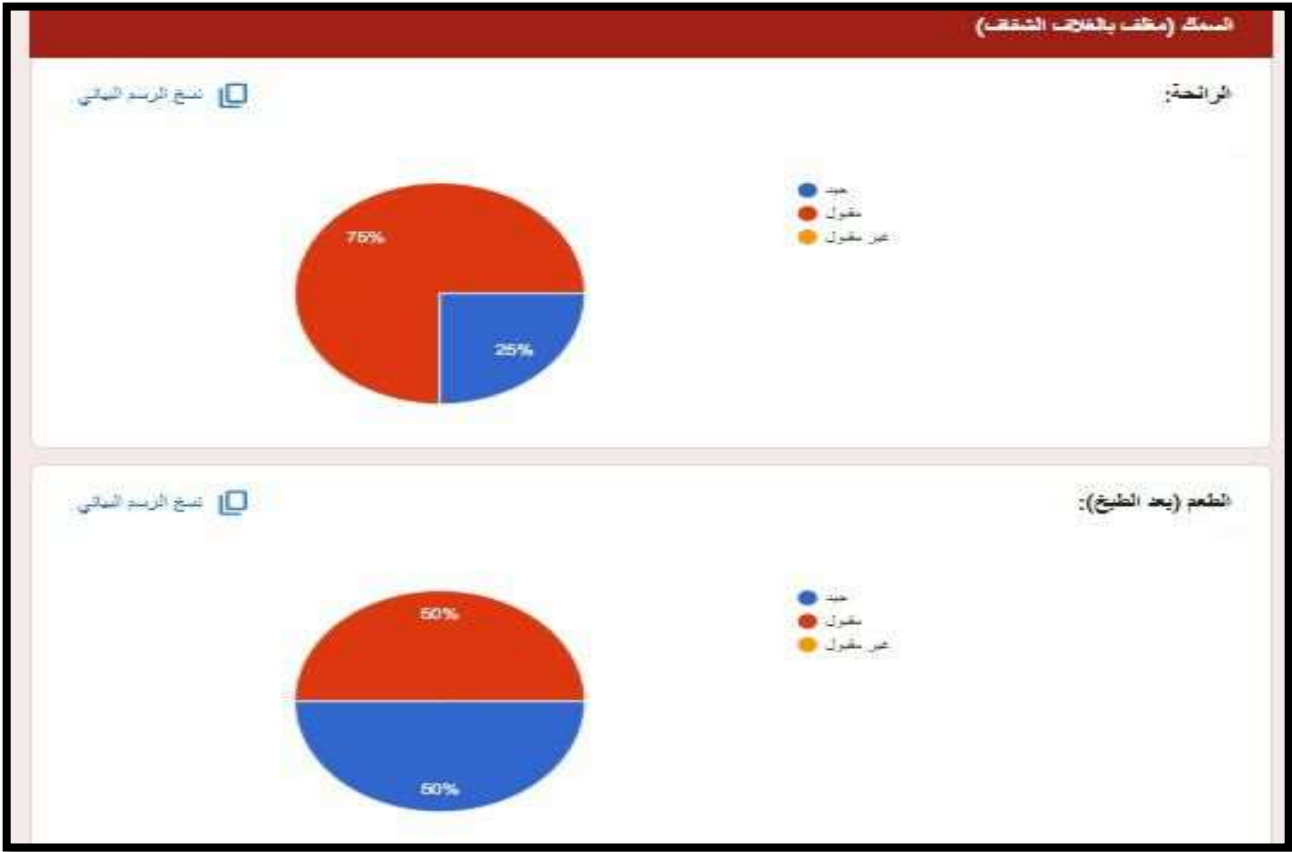
Viande:



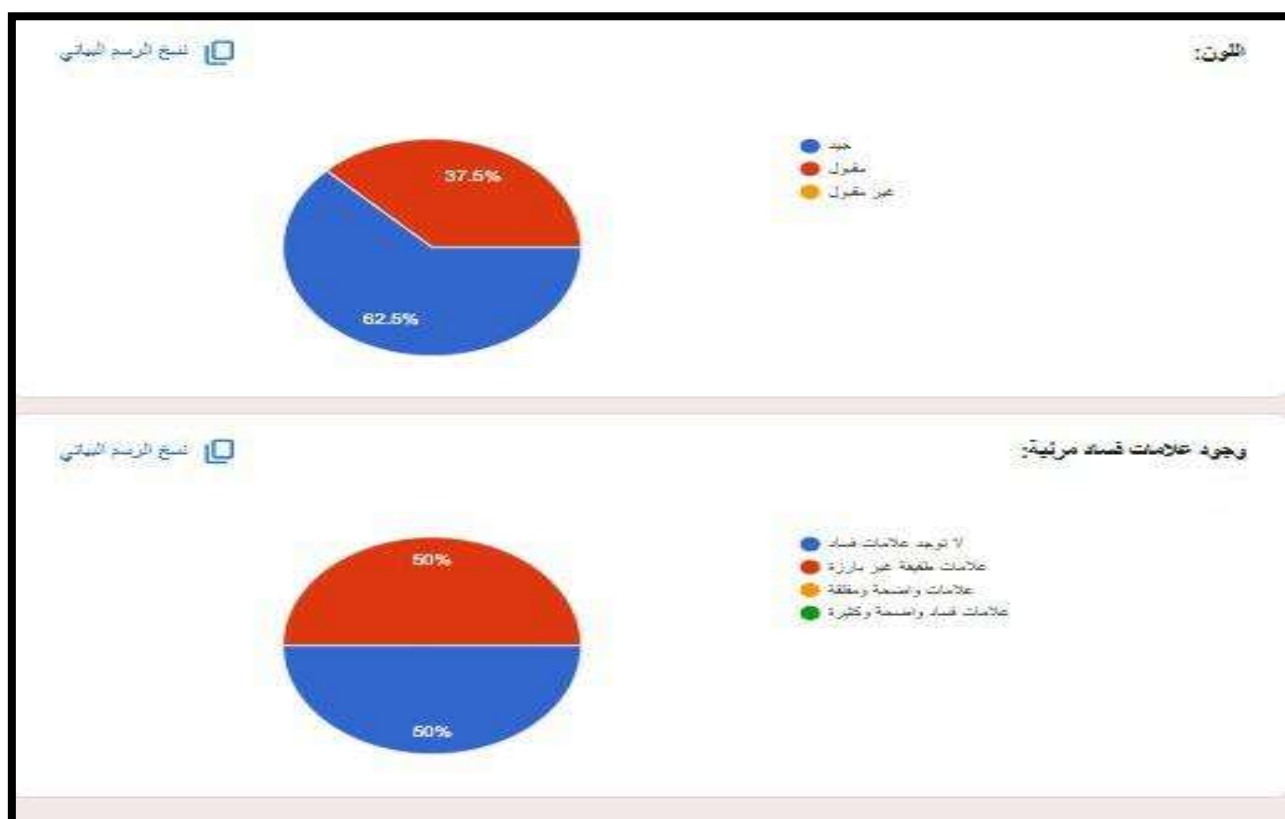
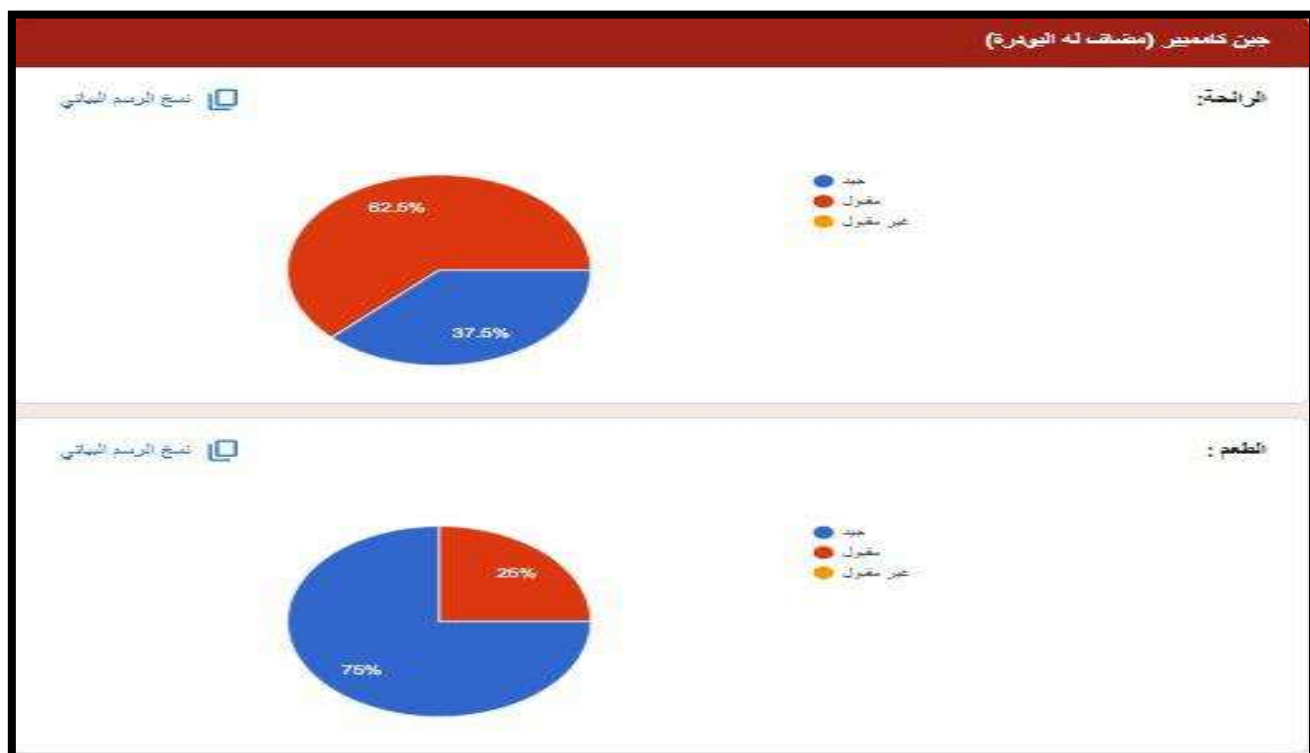
Raisins:



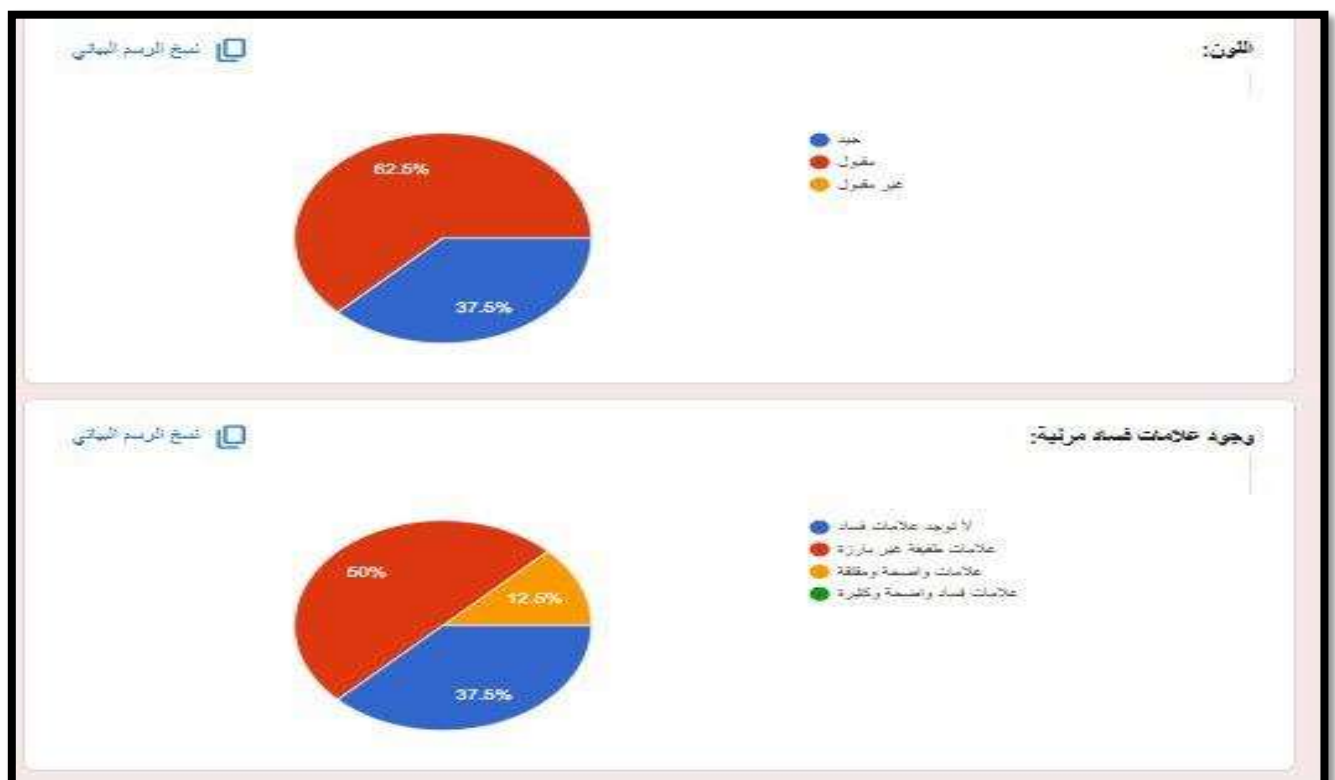
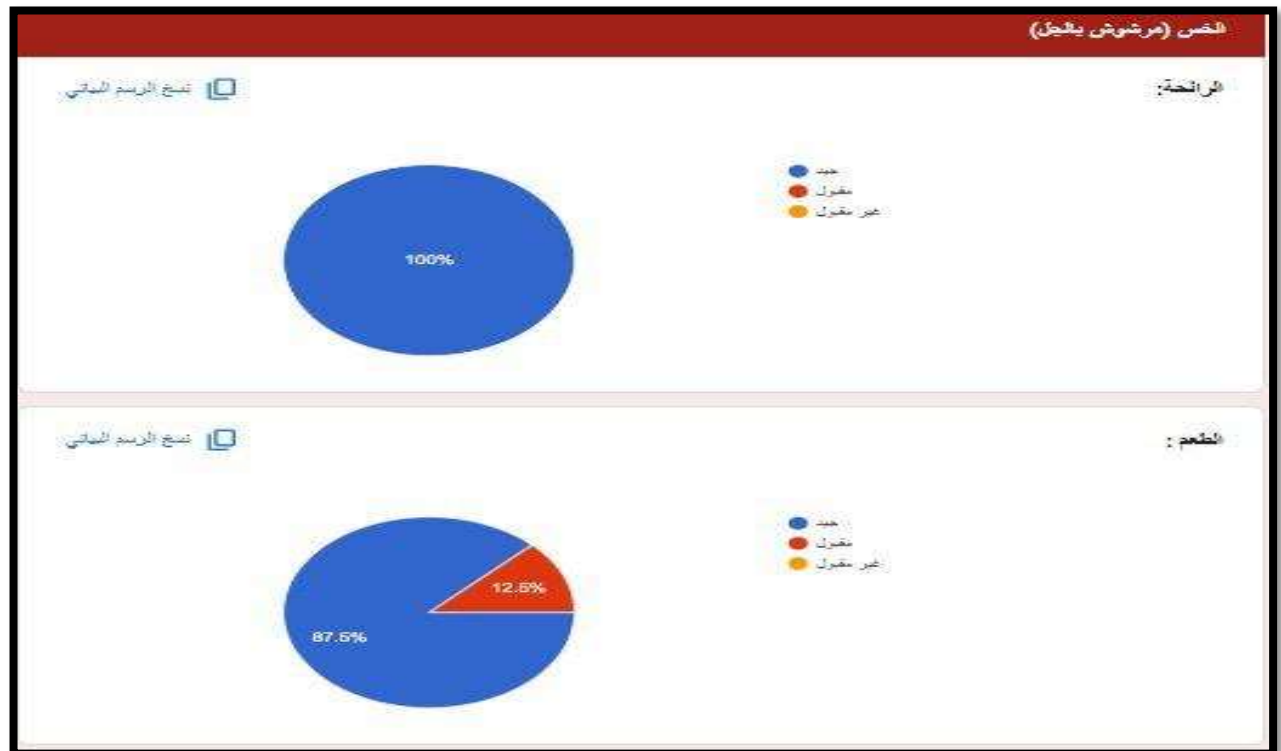
Poisson:



Camembert:



Laitue:



Z

Annexe 4

Aliment	Viande			
Produit	Gel	Film	Boite	Temoin
Jour 01				
Jour 02				
Jour 03				
Jour 04				
Jour 05				
Jour 06				

Jour 07				
Jour 08				
Jour 09				
Jour 10				
Jour 11				
Jour 12				
Jour 13				

Jour 14				
Jour 15				

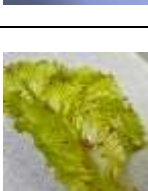
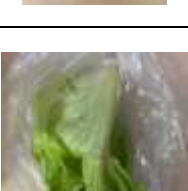
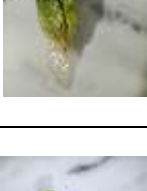
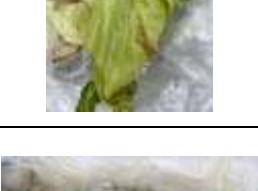
Aliment	Poisson			
Produit	Gel	Film	Boite	Temoin
Jour 01			 1	
Jour 02				
Jour 03				
Jour 04				
Jour 05				

Jour 06				
Jour 07				
Jour 08				
Jour 09				
Jour 10				
Jour 11				
Jour 12				

Jour 13				
Jour 14				
Jour 15				
Aliment	Raisins			
Produit	Gel	Film	Boite	Temoin
Jour 01				
Jour 02				
Jour 03				
Jour 04				

Jour 05				
Jour 06				
Jour 07				
Jour 08				
Jour 09				
Jour 10				
Jour 11				
Jour 12				

Jour 13				
Jour 14				
Jour 15				
Aliment	Laitue			
Produit	Gel	Film	Boite	Temoin
Jour 01				
Jour 02				
Jour 03				
Jour 04				

Jour 05				
Jour 06				
Jour 07				
Jour 08				
Jour 09				
Jour 10				
Jour 11				
Jour 12				

Jour 13				
Jour 14				
Jour 15				

Aliment	Camembert									
Produit	Gel		Film		Boite		Temoin			
Jour 01										
Jour 02										
Jour 03										
Jour 04										
Jour 05										
Jour 06										
Jour 07										
Jour 08										

Jour 09				
Jour 10				
Jour 11				
Jour 12				
Jour 13				
Jour 14				
Jour 15				

Annexe 5

1. Milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) — liquide et solide

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	10.0
Extrait de viande	8.0
Extrait de levure	4.0
Glucose	20.0
Acétate de sodium	5.0
Citrate d'ammonium	2.0
K_2HPO_4	2.0
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.05
Agar (si solide)	12.0

2. Mueller–Hinton (MH)

Composants	Quantité (g/L)
Infusion de bœuf	300 mL équiv.
Caséine hydrolysée	17.5
Amidon	1.5
Agar (si solide)	17.0

3. Baird–Parker Agar

Composants	Quantité (g/L)
Tryptone	10.0
Extrait de viande	5.0
Extrait de levure	1.0
Glycine	12.0
Pyruvate de sodium	10.0
Chlorure de lithium	5.0
Agar	20.0

4. Hektoen Enteric Agar

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	12.0
Extrait de levure	3.0

NaCl	5.0
Sels biliaires n°3	9.0
Thiosulfate de sodium	5.0
Lactose	12.0
Saccharose	12.0
Salicine	2.0
Citrate ferrique ammoniacal	1.5
Bleu de bromothymol	0.06
Fuchsine acide	0.1
Agar	14.0

5. SS Agar (Salmonella–Shigella)

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	10.0
Lactose	10.0
Sels biliaires	8.5
Thiosulfate de sodium	8.5
Citrate de sodium	10.0
Rouge neutre	0.025
Vert brillant	0.003
Agar	13.5

6. VRBL (Violet Red Bile Lactose)

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	17.0
Lactose	10.0
Sels biliaires	10.0
Cristal violet	0.0025
Agar	15.0

7. GN Broth (Hajna)

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	5,0
Extrait de viande	3,0
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0
Agar	15,0
Eau distillée	1 L
Peptone	5,0

8. Chapman (Mannitol Salt Agar)

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	10.0
NaCl	75.0
Mannitol	10.0
Rouge de phénol	0.025
Agar	15.0

9. BN (Bouillon Cœur-Cerveille / Brain Heart Infusion – BHI)

Composants	Quantité (g/L)
Cerveau de bœuf, infusion	200 g
Cœur de bœuf, infusion	250 g
Peptone	10,0 g
Glucose	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	2,5 g
Agar (facultatif pour le milieu solide)	15,0 g
Eau distillée	1 L

10. VF (hypothèse : MR-VP ou Voges-Proskauer broth)

Composants	Quantité (g/L)
Glucose	5.0
Peptone	7.0
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	5.0

11. MacConkey Agar — solide

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	17.0
Lactose	10.0
Sels biliaires	1.5–8.5
NaCl	5.0
Rouge neutre	0.03
Violet de cristal	0.001

Réactifs chimiques et colorants :

Bouillon Glucose (Dextrose Broth) — liquide

Composants	Quantité (g/L)
Peptone	10.0
Dextrose (glucose)	5.0
NaCl	5.0

Tryptone / Tryptic Soy Broth (TSB)

Composants	Quantité (g/L)
Peptone de caséine	17.0
Peptone de soja	3.0
NaCl	5.0
K ₂ HPO ₄	2.5
Glucose (facultatif)	2.5

Violet de gentiane : colorant basique pour coloration bactérienne (Gram +).

Rose de Fuschine : colorant secondaire pour coloration microscopique.

Lugol : solution d'iode et iodure de potassium, fixateur pour coloration Gram.

Alun de fer (FeSO₄ ou KAl(SO₄)₂) : indicateur chimique ou précipitant dans certains milieux.

Éthanol / Alcool 70 % : désinfection des surfaces et matériels, antiseptique.

Annexe 06

Questionnaire



قسم 1 من 8

استبيان وعي وسلوك المستهلكين والمهنيين حول المواد الحافظة الطبيعية ومنتجات الحفظ الطبيعية

المرحب من الاستبيان: جميع بيانات مباداة الخدمة مشروع مشترك ومبتكرة الملتزم حول بدائل طبيعية لحفظ الأغذية (فيلم/جل/بريد/أكمام/للطبخ). جميع الأسئلة مغلقة تستخدم البيانات بشكل متبع ونون أي معلومات تعريفية شخصية. مساهمة قيمة ومساعدة في تطوير منتجات أكثر لودا وصحة للمستهلك. الرجاء الإجابة بصدق. جميع المعلومات سرية وتستخدم لأغراض أكاديمية فقط شكرا مقدما على وقتك ولعمرك.



Questionnaire de controle organoleptique:



قسم 1 من 5

"Fermprotect" Contrôle organoleptique

تم إعداد هذا الاستبيان بغرض تقييم الخصائص الحسية (contrôle organoleptiques) للمنتجات الحيوية لمشروعنا، والتي تشمل العسل، الجال، والفونزا. يهدف الاستبيان إلى جمع آراء المشاركين حول اللون، الرائحة، الملمس، الغطاء، والفعل العام لكل منتج، وذلك لتقييم جودة المنتجات وتصنيفها بما يتوافق مع تفضيلات المستهلكين.

يرجى تقييم كل عينة بشكل مستقل، دون مقارنة مباشرة بالمنتجات الأخرى من 1 إلى 5 كما يلي:

1 = سيئ جداً | 2 = سيئ | 3 = متوسط | 4 = جيد | 5 = ممتاز



Questionnaire de L evaluation sensorielle des aliments traités par les prototypes Fermaprotect :



Site Web de fermaprotect :



